

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS MANIPULADAS DE  
ANTIHIPERTENSIVOS.  
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS: TITULOMÉTRICA,  
ESPECTROFOTOMÉTRICA E CROMATOGRÁFICA.**

**por**

**Irene Clemes Kulkamp**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Farmácia como  
requisito parcial à obtenção do grau de  
Mestre em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Segatto Silva

Florianópolis

2003

A todos que fizeram parte da minha vida  
por todo o tempo ou mesmo que ainda por um instante...

Aos meus amigos e  
em especial AOS MEUS PAIS.

## **Agradecimentos**

Aos que me ajudaram diretamente bem como àqueles que me motivaram e incentivaram. Aos que me compreenderam os momentos de ausência, e aos que neles me acompanharam.

Muito obrigada a todos, em especial ....

.... A uma pessoa que sempre só me deu incentivos, e nunca me deixou desanimar, o meu orientador professor Dr. Marcos A. Segatto.

... Às minhas colegas e grandes amigas Bianca e Giovanna pelo companheirismo, ajuda e amizade; bem como ao Teófilo pelo mesmo motivo.

... Aos amigos Luis e Maria Cecília por terem acreditado; pelo incentivo, apoio e compreensão.

... Ao programa de pós-graduação em farmácia da UFSC, na figura dos professores Dra. Tânia, Dra. Mareni, Dra. Miriam e Dr. Edson.

... Ao professor Tarcísio por ter ajudado na interpretação dos difratogramas.

... Ao professor Eloir pelas contribuições realizadas.

... À Solange Terezinha pela colaboração com muito boa vontade sempre.

... Ao meu amigo Gustavo pela sua disposição de sempre ajudar.

... Aos meus amigos, em especial Bruna, Evandro, Mirielle e Sheila pela amizade sincera e incentivo.

... Ao carinho, amor, paciência e apoio incomparável de meu irmão Daniel e meus pais Waltamir e Selma.

... E por último como também em primeiro, porque sempre não tem fim nem começo, a Deus, sempre.

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| Lista de tabelas.....   | i    |
| Lista de Figuras.....   | iii  |
| Lista de abreviaturas.....  | vi   |
| Resumo.....   | vii  |
| <i>Abstract</i> .....   | viii |
| <b>1. Introdução</b> .....  | 1    |
| <b>2. Objetivos</b> .....   | 4    |
| <b>2.1 Objetivo Geral</b> .....   | 4    |
| <b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....  | 4    |
| <b>2.3 Impactos esperados</b> .....   | 5    |
| <b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....   | 6    |
| <b>3.1 Revisão Bibliográfica dos fármacos</b> .....   | 6    |
| 3.1.1 Atenolol.....   | 6    |
| 3.1.1.1 Características químicas.....   | 6    |
| 3.1.1.2 Ação.....   | 7    |
| 3.1.1.3 Indicações.....   | 7    |
| 3.1.1.4 Apresentações e Dosagens.....   | 8    |
| 3.1.1.5 Absorção.....   | 8    |
| 3.1.1.6 Distribuição.....   | 9    |
| 3.1.1.7 Eliminação.....   | 9    |
| 3.1.1.8 Efeitos adversos.....   | 10   |
| 3.1.1.9 Doseamento Atenolol.....  | 10   |
| 3.1.2 Enalapril.....  | 14   |
| 3.1.2.1 Características químicas.....   | 14   |
| 3.1.2.2 Ações.....  | 15   |
| 3.1.2.3 Indicações.....   | 16   |
| 3.1.2.4 Apresentações e Dosagens.....   | 17   |
| 3.1.2.5 Absorção.....   | 17   |
| 3.1.2.6 Distribuição.....   | 18   |
| 3.1.2.7 Eliminação.....   | 18   |
| 3.1.2.8 Efeitos adversos.....   | 19   |
| 3.1.2.9 Doseamento Enalapril.....   | 19   |
| 3.1.3 Propranolol.....  | 23   |
| 3.1.3.1 Características químicas.....   | 23   |
| 3.1.3.2 Ação.....   | 24   |
| 3.1.3.3 Indicações.....   | 25   |
| 3.1.3.4 Apresentações e Dosagens.....   | 25   |
| 3.1.3.5 Absorção.....   | 26   |
| 3.1.3.6 Distribuição.....   | 27   |
| 3.1.3.7 Eliminação.....   | 27   |
| 3.1.3.8 Efeitos adversos.....   | 28   |
| 3.1.3.9 Doseamento Propranolol.....   | 28   |
| <b>3.2 Manipulação de cápsulas e aspectos relacionados ao Controle de qualidade em farmácias de manipulação</b> ..... | 30   |
| 3.2.1 Manipulação de Cápsulas.....  | 31   |
| 3.2.2 Controle de qualidade de cápsulas.....  | 32   |
| 3.2.3 Validação de metodologias.....  | 33   |
| <b>4. Metodologias Gerais</b> .....   | 36   |
| <b>4.1 Análises preliminares de Qualificação de padrão Secundário e Controle de Qualidade da matéria-prima</b> .....  | 36   |
| 4.1.1 Avaliação dos Caracteres Organolépticos.....  | 37   |
| 4.1.2 Análise da Solubilidade.....  | 37   |
| 4.1.3 Determinação de pH.....   | 38   |
| 4.1.4 Determinação da faixa de fusão.....   | 38   |
| 4.1.5 Análise da densidade.....   | 39   |
| 4.1.6 Perda por secagem.....  | 39   |
| 4.1.7 Avaliação do Laudo de análise do fabricante.....  | 40   |
| 4.1.8 Identificação do fármaco por espectrometria no infra-vermelho.....  | 40   |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.1.9 Doseamento do fármaco.....   | 40        |
| <b>4.2 Manipulação das formulações.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>4.3 Avaliação da Qualidade das Cápsulas manipuladas.....</b>  | <b>42</b> |
| 4.3.1 Determinação de peso médio.....  | 43        |
| 4.3.2 Avaliação da uniformidade de doses unitárias: Uniformidade de conteúdo.....                                  | 43        |
| 4.3.3 Determinação do tempo de dissolução.....   | 43        |
| 4.3.4 Análise da interação dos fármacos com excipientes pela técnica de Difração de raios-X.....                   | 43        |
| <b>4.4 Metodologia de Validação das técnicas utilizadas.....</b>   | <b>44</b> |
| 4.4.1 Rota de Validação da metodologia de titulação potenciométrica para doseamento de fármaco e cápsulas.....     | 44        |
| 4.4.2 Rota de Validação de metodologias de espectrofotometria UV e CLAE para doseamento de fármaco e cápsulas..... | 46        |
| <b>5. Parte experimental específica Atenolol: Metodologias específicas, Resultados e discussão.....</b>            | <b>48</b> |
| <b>5.1 Metodologias para o Atenolol.....</b>   | <b>48</b> |
| 5.1.1. Metodologias de controle de qualidade de atenolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário.....    | 48        |
| 5.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de atenolol.....   | 48        |
| 5.1.1.2 Análise da solubilidade de atenolol.....   | 48        |
| 5.1.1.3 Determinação de pH de atenolol.....  | 49        |
| 5.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de atenolol.....  | 49        |
| 5.1.1.5 Análise da densidade de atenolol.....  | 49        |
| 5.1.1.6 Determinação de umidade de atenolol.....   | 49        |
| 5.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de atenolol fornecido pelo fabricante.....                                   | 49        |
| 5.1.1.8 Identificação de atenolol por espectrometria no Infra-vermelho.....  | 50        |
| 5.1.1.9 Doseamento de atenolol matéria-prima e substância química de referência.....                               | 50        |
| 5.1.1.9.1 Doseamento de Atenolol por Titulação Potenciométrica.....  | 50        |
| 5.1.1.9.2 Doseamento de Atenolol por Espectrofotometria-UV.....  | 51        |
| 5.1.1.9.3 Doseamento de Atenolol por Cromatografia Líquida de Alta eficiência.....                                 | 52        |
| 5.1.2 Manipulação de cápsulas de atenolol.....   | 53        |
| 5.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de atenolol.....  | 53        |
| 5.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de atenolol.....  | 53        |
| 5.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de atenolol.....  | 54        |
| 5.1.3.2.1 Doseamento das cápsulas de atenolol por titulação Potenciométrica.....                                   | 54        |
| 5.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de atenolol por Espectrofotometria de absorção no UV.....                       | 54        |
| 5.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de atenolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....            | 55        |
| 5.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de atenolol.....  | 56        |
| 5.1.3.4 Análise da interação de Atenolol com excipientes pela técnica de Difração de raio-X.....                   | 57        |
| <b>5.2 Resultados e discussão atenolol.....</b>  | <b>58</b> |
| 5.2.1 Controle de qualidade de atenolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário.....                     | 58        |
| 5.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de atenolol.....   | 58        |
| 5.2.1.2 Análise da solubilidade de atenolol.....   | 58        |
| 5.2.1.3 Determinação de pH de atenolol.....  | 59        |
| 5.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de atenolol.....  | 59        |
| 5.2.1.5 Análise da densidade de atenolol.....  | 59        |
| 5.2.1.6 Determinação de umidade de atenolol.....   | 60        |
| 5.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de atenolol fornecido pelo fabricante....                                    | 60        |
| 5.2.1.8 Identificação de atenolol por espectrometria no Infra-vermelho.....  | 60        |
| 5.2.1.9 Doseamento de atenolol.....  | 62        |

|  |           |
|--|-----------|
| 5.2.1.9.1 Doseamento de atenolol por Titulação Potenciométrica.....  | 62        |
| 5.2.1.9.2 Doseamento de atenolol por Espectrofotometria Ultra-Violeta  | 64        |
| 5.2.1.9.3 Doseamento de atenolol por Cromatografia Líquida de Alta<br>eficiência.....                              | 67        |
| 5.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de atenolol manipuladas.....  | 70        |
| 5.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de atenolol.....  | 70        |
| 5.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de atenolol.....  | 70        |
| 5.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de atenolol por Titulação<br>Potenciométrica.....                                 | 70        |
| 5.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de atenolol por<br>Espectrofotometria- UV.....                                    | 71        |
| 5.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de atenolol por Cromatografia<br>Líquida de Alta Eficiência.....                  | 74        |
| 5.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de atenolol.....   | 77        |
| 5.2.2.4 Análise da interação de Atenolol com excipientes pela técnica de<br>Difração de raio-X.....                | 79        |
| <b>6. Parte experimental específica Enalapril: Metodologias específicas,<br/>Resultados e discussão.....</b>       | <b>88</b> |
| <b>6.1 Metodologias enalapril.....</b>   | <b>88</b> |
| 6.1.1 Metodologias de controle de qualidade de enalapril matéria-prima e qualificação<br>de padrão Secundário..... | 88        |
| 6.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de enalapril.....  | 88        |
| 6.1.1.2 Análise da solubilidade de enalapril.....  | 88        |
| 6.1.1.3 Determinação de pH de enalapril.....   | 89        |
| 6.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de enalapril.....   | 89        |
| 6.1.1.5 Análise da densidade de enalapril.....   | 89        |
| 6.1.1.6 Determinação de umidade de enalapril.....  | 89        |
| 6.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de enalapril fornecido pelo fabricante...                                    | 89        |
| 6.1.1.8 Identificação de enalapril por espectrometria no Infra-vermelho.....                                       | 90        |
| 6.1.1.9 Doseamento de enalapril matéria-prima e substância química de<br>referência.....                           | 90        |
| 6.1.1.9.1 Doseamento de enalapril por Titulação Potenciométrica.....   | 90        |
| 6.1.1.9.2 Doseamento de enalapril por Espectrofotometria-UV.....   | 91        |
| 6.1.1.9.3 Doseamento de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta<br>eficiência.....                             | 92        |
| 6.1.2 Manipulação de cápsulas de enalapril.....  | 93        |
| 6.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de enalapril.....   | 94        |
| 6.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de enalapril.....   | 94        |
| 6.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de enalapril.....                                       | 94        |
| 6.1.3.2.1 Doseamento das cápsulas de enalapril por titulação<br>Potenciométrica.....                               | 94        |
| 6.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de enalapril por<br>Espectrofotometria de absorção no ultravioleta.....         | 95        |
| 6.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de enalapril por Cromatografia<br>Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....       | 96        |
| 6.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de enalapril.....   | 97        |
| 6.1.3.4 Análise da interação de enalapril com excipientes pela técnica de<br>Difração de raio-X.....               | 98        |
| <b>6.2 Resultados e discussão enalapril.....</b>   | <b>98</b> |
| 6.2.1 Controle de qualidade de enalapril matéria-prima e qualificação de padrão<br>Secundário .....                | 98        |
| 6.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de enalapril.....  | 98        |
| 6.2.1.2 Análise da solubilidade de enalapril.....  | 99        |
| 6.2.1.3 Determinação de pH de enalapril.....   | 99        |
| 6.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de enalapril.....   | 99        |
| 6.2.1.5 Análise da densidade de enalapril.....   | 100       |
| 6.2.1.6 Determinação de umidade de enalapril.....  | 100       |
| 6.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de enalapril fornecido pelo fabricante...                                    | 100       |
| 6.2.1.8 Identificação de enalapril por espectrometria no Infra-vermelho.....                                       | 100       |
| 6.2.1.9 Doseamento de enalapril.....   | 102       |

|   |            |
|---|------------|
| 6.2.1.9.1 Doseamento de enalapril por Titulação Potenciométrica.....  | 102        |
| 6.2.1.9.2 Doseamento de enalapril por Espectrofotometria de absorção no Ultra-Violeta.....                        | 104        |
| 6.2.1.9.3 Doseamento de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta eficiência.....                               | 108        |
| 6.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de enalapril manipuladas.....  | 112        |
| 6.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de enalapril.....  | 112        |
| 6.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de enalapril.....                                      | 112        |
| 6.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de enalapril por Titulação Potenciométrica.....                                  | 112        |
| 6.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de enalapril por Espectrofotometria de absorção no UV.....                       | 115        |
| 6.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....                   | 117        |
| 6.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de enalapril.....   | 120        |
| 6.2.2.4 Análise da interação de enalapril com excipientes pela técnica de Difração de raio-X.....                 | 122        |
| <b>7. Parte experimental específica propranolol: Metodologias específicas, Resultados e discussão</b> .....       | <b>131</b> |
| <b>7.1 Metodologias propranolol</b> .....   | <b>131</b> |
| 7.1.1 Metodologias de controle de qualidade de propranolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário..... | 131        |
| 7.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de propranolol.....   | 131        |
| 7.1.1.2 Análise da solubilidade de propranolol.....   | 131        |
| 7.1.1.3 Determinação de pH de propranolol.....  | 132        |
| 7.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de propranolol.....  | 132        |
| 7.1.1.5 Análise da densidade de propranolol.....  | 132        |
| 7.1.1.6 Determinação de umidade de propranolol.....   | 132        |
| 7.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de propranolol fornecido pelo fabricante.....                               | 132        |
| 7.1.1.8 Identificação de propranolol por espectrometria no Infra-vermelho.....                                    | 133        |
| 7.1.1.9 Doseamento de propranolol matéria-prima e substância química de referência.....                           | 133        |
| 7.1.1.9.1 Doseamento de propranolol por Titulação Potenciométrica....   | 133        |
| 7.1.1.9.2 Doseamento de propranolol por Espectrofotometria de absorção no UV.....                                 | 134        |
| 7.1.1.9.3 Doseamento de propranolol por CLAE.....   | 135        |
| 7.1.2 Manipulação de cápsulas de propranolol.....   | 136        |
| 7.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de propranolol.....  | 137        |
| 7.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol.....  | 137        |
| 7.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de propranolol...                                      | 137        |
| 7.1.3.2.1 Doseamento das cápsulas de propranolol por titulação Potenciométrica.....                               | 137        |
| 7.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de propranolol por Espectrofotometria-UV.....                                  | 138        |
| 7.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....        | 139        |
| 7.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de propranolol.....                                      | 140        |
| 7.1.3.4 Análise da interação de propranolol com excipientes pela técnica de Difração de raio-X.....               | 141        |
| <b>7.2 Resultados e discussão propranolol</b> .....   | <b>141</b> |
| 7.2.1 Controle de qualidade de propranolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário .....                | 141        |
| 7.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de propranolol.....   | 142        |
| 7.2.1.2 Análise da solubilidade de propranolol.....   | 142        |
| 7.2.1.3 Determinação de pH de propranolol.....  | 142        |
| 7.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de propranolol.....  | 142        |
| 7.2.1.5 Análise da densidade de propranolol.....  | 143        |
| 7.2.1.6 Determinação de umidade de propranolol.....   | 143        |
| 7.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de propranolol fornecido pelo   |            |

|   |            |
|---|------------|
| fabricante.....   | 143        |
| 7.2.1.8 Identificação de propranolol por espectrometria no Infra-vermelho.....                      | 144        |
| 7.2.1.9 Doseamento de propranolol.....  | 145        |
| 7.2.1.9.1 Doseamento de propranolol por Titulação Potenciométrica....                               | 145        |
| 7.2.1.9.2 Doseamento de propranolol por Espectrofotometria Ultra-Violeta.....                       | 147        |
| 7.2.1.9.3 Doseamento de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta eficiência.....               | 150        |
| 7.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de propranolol manipuladas.....                            | 154        |
| 7.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol.....                              | 154        |
| 7.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de propranolol...                        | 154        |
| 7.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de propranolol por Titulação Potenciométrica.....                  | 154        |
| 7.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de propranolol por Espectrofotometria de absorção no UV.....       | 155        |
| 7.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....   | 158        |
| 7.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de propranolol.....                         | 162        |
| 7.2.2.4 Análise da interação de propranolol com excipientes pela técnica de Difração de raio-X..... | 163        |
| <b>8. Discussão Geral.....</b>  | <b>170</b> |
| <b>9. Conclusões.....</b>   | <b>178</b> |
| <b>10. Referências Bibliográficas.....</b>  | <b>180</b> |
| <b>10. Anexos.....</b>  | <b>187</b> |
| Anexo A.....  | 187        |
| Anexo B.....  | 188        |



## Lista de tabelas

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1: Partes de solvente por uma parte de soluto equivalentes à solubilidade de fármacos a 25°C.....                               | 38  |
| Tabela 2: Formulação cápsulas de atenolol.....   | 53  |
| Tabela 3: Determinação de teor de Atenolol SQR por titulação.....  | 63  |
| Tabela 4: Determinação de teor de matéria-prima Atenolol por titulação.....  | 63  |
| Tabela 5: Determinação de teor de matéria-prima Atenolol por Espectrofotometria de absorção no UV.....                                 | 65  |
| Tabela 6: Teste de recuperação para atenolol por Espectrofotometria de absorção no UV.....   | 66  |
| Tabela 7: Determinação de teor de matéria-prima Atenolol por CLAE.....   | 68  |
| Tabela 8: Teste de recuperação para atenolol por CLAE.....   | 69  |
| Tabela 9: Variação de peso e peso médio das cápsulas de atenolol.....  | 70  |
| Tabela 10: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por titulação.....   | 71  |
| Tabela 11: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por espectrofotometria de absorção no UV.....              | 73  |
| Tabela 12: Teste de recuperação para cápsulas de atenolol por espectrofotometria de absorção no UV.....                                | 74  |
| Tabela 13: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por CLAE.....  | 76  |
| Tabela 14: Teste de recuperação para cápsulas de atenolol por CLAE.....  | 77  |
| Tabela 15: Absorbâncias medidas em uma solução teste de atenolol .....   | 77  |
| Tabela 16: Porcentagem de dissolução de cápsulas de atenolol.....  | 79  |
| Tabela 17: Formulação cápsulas de enalapril.....   | 93  |
| Tabela 18: Determinação de teor de enalapril – SQR por titulação .....   | 102 |
| Tabela 19: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por titulação.....  | 103 |
| Tabela 20: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por Espectrofotometria de absorção no UV.....                               | 107 |
| Tabela 21: Teste de recuperação para enalapril por espectrofotometria de absorção no UV.....   | 108 |
| Tabela 22: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por CLAE.....   | 110 |
| Tabela 23: Teste de recuperação para enalapril por CLAE.....   | 111 |
| Tabela 24: Variação de peso e peso médio das cápsulas de enalapril.....  | 112 |
| Tabela 25: Determinação de teor de enalapril na presença dos excipientes das cápsulas exceto bicarbonato de sódio.....                 | 113 |
| Tabela 26: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de enalapril (lote sem bicarbonato) por titulação potenciométrica..... | 114 |
| Tabela 27: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de enalapril por espectrofotometria de absorção no UV.....             | 116 |
| Tabela 28: Teste de recuperação para cápsulas de enalapril por espectrofotometria de absorção no UV.....                               | 117 |
| Tabela 29: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de enalapril por CLAE.....   | 119 |
| Tabela 30: Teste de recuperação para cápsulas de enalapril por CLAE.....   | 120 |
| Tabela 31: Absorbâncias medidas em uma solução teste de enalapril.....   | 121 |
| Tabela 32: Porcentagem de dissolução de cápsulas de enalapril.....   | 122 |

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 33: Formulação cápsulas de propranolol.....   | 136 |
| Tabela 34: Determinação de teor de propranolol SQR por titulação.....  | 146 |
| Tabela 35: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por titulação.....  | 146 |
| Tabela 36: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por espectrofotometria de absorção no UV.....                   | 148 |
| Tabela 37: Teste de recuperação para propranolol por espectrofotometria de absorção no UV.....                               | 150 |
| Tabela 38: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por CLAE.....   | 151 |
| Tabela 39: Teste de recuperação para propranolol CLAE.....   | 153 |
| Tabela 40: Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol.....  | 154 |
| Tabela 41: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por titulação.....                            | 155 |
| Tabela 42: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por espectrofotometria de absorção no UV..... | 157 |
| Tabela 43: Teste de recuperação para cápsulas de propranolol por espectrofotometria de absorção no UV.....                   | 158 |
| Tabela 44: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por CLAE.....                                 | 160 |
| Tabela 45: Teste de recuperação para cápsulas de propranolol por CLAE.....   | 161 |
| Tabela 46: Porcentagem de dissolução de cápsulas de propranolol.....   | 162 |

## Lista de figuras

|   |     |
|---|-----|
| Figura 1: Estrutura química do atenolol.....  | 6   |
| Figura 2: Estrutura química do enalapril.....   | 14  |
| Figura 3: Estrutura química do propranolol.....   | 23  |
| Figura 4: Espectro IV obtido na literatura para atenolol (Moffat, 1986).....  | 61  |
| Figura 5: Espectro IV obtido para atenolol – SQR.....   | 61  |
| Figura 6: Espectro IV obtido para atenolol matéria-prima.....   | 62  |
| Figura 7: Curva de Calibração de atenolol SQR por espectrofotometria de absorção no ultravioleta.....   | 64  |
| Figura 8: Comparação das curvas de calibração de atenolol SQR e matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....   | 66  |
| Figura 9: Cromatograma obtido para diluição de atenolol SQR 10 $\mu$ g/mL.....  | 67  |
| Figura 10: Curva de Calibração de atenolol SQR por CLAE.....  | 67  |
| Figura 11: Cromatograma obtido para diluição de atenolol matéria-prima 10 $\mu$ g/mL.....   | 68  |
| Figura 12: Comparação das curvas de calibração de atenolol SQR e matéria-prima por CLAE.....  | 69  |
| Figura 13: Curva de Calibração de atenolol matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....  | 72  |
| Figura 14: Curva de Calibração de atenolol matéria-prima por CLAE.....  | 75  |
| Figura 15: Cromatograma obtido para diluição de cápsula de atenolol analisada.....  | 75  |
| Figura 16: Espectro de absorção na região do UV do atenolol (200 – 400 nm)..  | 78  |
| Figura 17: Curva de calibração por espectrofotometria de absorção no UV de Atenolol no meio de dissolução.....  | 78  |
| Figura 18: Difratoograma obtido para o fármaco Atenolol.....  | 80  |
| Figura 19: Difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol.....   | 80  |
| Figura 20: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de atenolol e fármaco.....   | 81  |
| Figura 21: Difratoograma obtido para o aerossil.....  | 82  |
| Figura 22: Difratoograma obtido para o amido.....   | 83  |
| Figura 23: Difratoograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio.....   | 83  |
| Figura 24: Difratoograma obtido para o Estearato de Magnésio.....   | 84  |
| Figura 25: Difratoograma obtido para o talco.....   | 85  |
| Figura 26: Faixa de 8 a 12 de 2 $\theta$ do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol.....   | 85  |
| Figura 27: Faixa de 20 a 25 de 2 $\theta$ do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol.....  | 86  |
| Figura 28: Faixa de 26 a 32 de 2 $\theta$ do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol.....  | 87  |
| Figura 29: Espectro IV obtido para enalapril– SQR.....  | 101 |
| Figura 30: Espectro IV obtido para enalapril matéria-prima.....   | 102 |
| Figura 31: Espectro de absorção (200 – 300 nm) na região do UV de uma solução teste (em preto) com a respectiva curva derivada de 1 <sup>a</sup> ordem (em vermelho)..... | 105 |
| Figura 32: Curva de Calibração de enalapril SQR por espectrofotometria de absorção no UV.....   |     |

|   |     |
|---|-----|
| Figura 33: Comparação das curvas de calibração de enalapril SQR e matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....                       | 106 |
| Figura 34: Cromatograma obtido para diluição de enalapril SQR a 200µg/mL...   | 107 |
| Figura 35: Curva de Calibração de enalapril SQR por CLAE.....   | 108 |
| Figura 36: Cromatograma obtido para diluição de enalapril matéria-prima a 200µg/mL.....   | 109 |
| Figura 37: Comparação das curvas de calibração de enalapril SQR e matéria-prima por CLAE.....   | 110 |
| Figura 38: Curva de Calibração de enalapril matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....   | 111 |
| Figura 39: Curva de Calibração de enalapril matéria-prima por CLAE.....   | 115 |
| Figura 40: Cromatograma obtido para diluição de cápsula de enalapril analisada.....   | 118 |
| Figura 41: Espectro de absorção (200-400nm) da solução teste de enalapril (em preto) com a respectiva curva derivada de 1ª ordem (em vermelho)..... | 118 |
| Figura 42: Curva de calibração por espectrofotometria de absorção no UV de enalapril no meio de dissolução.....                                     | 120 |
| Figura 43: Difratoograma obtido para o fármaco enalapril.....   | 121 |
| Figura 44: Faixa de 20 a 25 de 2θ do difratograma obtido para o fármaco enalapril.....  | 123 |
| Figura 45: Difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas de enalapril.....  | 123 |
| Figura 46: Faixa de 15 a 30 de 2θ do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de enalapril.....   | 124 |
| Figura 47: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de enalapril e fármaco.....  | 124 |
| Figura 48: Difratoograma obtido para o Bicarbonato de Sódio.....  | 125 |
| Figura 49: Difratoograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio.....   | 126 |
| Figura 50: Difratoograma obtido para o Estearato de Magnésio.....   | 126 |
| Figura 51: Difratoograma obtido para a lactose.....   | 127 |
| Figura 52: Faixa de 15 a 30 de 2θ do difratograma obtido para a lactose.....  | 128 |
| Figura 53: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de enalapril e lactose.....  | 128 |
| Figura 54: Espectro IV obtido na literatura para propranolol (Moffat, 1986).....  | 129 |
| Figura 55: Espectro IV obtido para propranolol – SQR.....   | 144 |
| Figura 56: Espectro IV obtido para propranolol matéria-prima.....   | 145 |
| Figura 57: Curva de Calibração de propranolol SQR por espectrofotometria de absorção no UV.....   | 145 |
| Figura 58: Comparação das curvas de calibração de propranolol SQR e matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....                     | 148 |
| Figura 59: Cromatograma obtido para diluição de propranolol SQR a 10µg/mL.....  | 149 |
| Figura 60: Curva de Calibração de propranolol SQR por CLAE.....   | 150 |
| Figura 61: Comparação das curvas de calibração de propranolol SQR e matéria-prima por CLAE.....   | 151 |
| Figura 62: Cromatograma obtido para diluição de propranolol matéria-prima a 10µg/mL.....  | 152 |
| Figura 63: Curva de Calibração de propranolol matéria-prima por espectrofotometria de absorção no UV.....   | 153 |
| Figura 64: Curva de Calibração de propranolol- matéria-prima por CLAE.....  | 156 |
| Figura 65: Cromatograma obtido para diluição de cápsula de propranolol  |     |

|   |     |
|---|-----|
| analisada.....  | 159 |
| Figura 66: Curva de calibração por espectrofotometria de absorção no UV de propranolol no meio de dissolução..... | 159 |
| Figura 67: Difratoograma obtido para o fármaco Propranolol.....   | 162 |
| Figura 68: Faixa de 10 a 30 de $2\theta$ do difratoograma obtido para o fármaco propranolol.....                  | 163 |
| Figura 69: Difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas de propranolol...                                    | 164 |
| Figura 70: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de propranolol e fármaco.....      | 164 |
| Figura 71: Difratoograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio.....   | 165 |
| Figura 72: Difratoograma obtido para o Estearato de Magnésio.....   | 166 |
| Figura 73: Difratoograma obtido para o talco.....   | 166 |
| Figura 74: Faixa de 9 a 30 de $2\theta$ do difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas.....                 | 167 |
| Figura 75: Faixa de 18 a 24 de $2\theta$ do difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas.....                | 168 |
|   | 168 |

## **Abreviaturas**

BP, 2000 - British Pharmacopoeia, 2000

CLAE – Cromatografia Líquida de alta eficiência

ECA - Enzima conversora de angiotensina

EP, 1997 - European Pharmacopoeia, 1997

EP, 2001- European Pharmacopoeia Supplement, 2001

FB, 1977 - Farmacopéia Brasileira, 1977

FB, 1988 - Farmacopéia Brasileira, 1988

FB, 1996 - Farmacopéia Brasileira, 1996.

ICH - Conferência de Harmonização Internacional

IV – Infravermelho

LC-MS - Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massa

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

SIH/SUS - Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde

SQR- Substância química de referência

SUS - Sistema Único de Saúde

USP, 2000 – The United States Pharmacopoeia USP 24, 2000

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS MANIPULADAS DE  
ANTIHIPERTENSIVOS.  
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS: TITULOMÉTRICA,  
ESPECTROFOTOMÉTRICA E CROMATOGRÁFICA.**

**Resumo**

O presente trabalho apresenta metodologias de avaliação dos parâmetros qualitativos e quantitativos de cápsulas de três fármacos antihipertensivos: atenolol, enalapril e propranolol. Foram feitas análises preliminares de controle de qualidade da matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas, incluindo: avaliação dos caracteres organolépticos, análise da solubilidade, determinação de pH, determinação da faixa de fusão, análise da densidade, determinação de umidade e avaliação do laudo de análise do fabricante. A análise por espectrofotometria no infra-vermelho foi utilizada para atestar a identidade dos fármacos. Foram validadas metodologias de doseamento dos fármacos segundo parâmetros farmacopéicos. O teor dos fármacos foi determinado por titulação potenciométrica, espectrofotometria ultra-violeta e cromatografia líquida de alta eficiência. Foram manipuladas cápsulas pela técnica de preenchimento por nivelamento. A primeira etapa do controle de qualidade das cápsulas manipuladas foi a determinação de variação de peso e peso médio. A avaliação da uniformidade das cápsulas foi feita através da avaliação da uniformidade de conteúdo, pelo doseamento de dez cápsulas individualmente. Foram validadas metodologias de determinação de teor de cápsulas por titulação potenciométrica, espectrofotometria ultra-violeta e cromatografia líquida de alta eficiência. O tempo de dissolução também foi determinado. A interação dos fármacos com excipientes foi analisada pela técnica de difração de raios-X. As metodologias de doseamento bem como as rotas de validação sugeridas podem ser utilizadas por laboratórios de controle de qualidade de farmácias de manipulação.

Palavras chave: atenolol, cápsulas, enalapril , propranolol, qualidade

# QUALITY VALUATION OF ANTIHYPERTENSIVES COMPOUNDED CAPSULES. VALIDATION OF TITRIMETRIC, SPECTROPHOTOMETRIC AND CHROMATOGRAPHIC ANALYTICAL METHODOLOGIES

## Abstract

This work presents quantitative and qualitative valuation approaches for capsules of these three drugs: atenolol, enalapril and propranolol. Has been done preliminary analysis of quality control of raw material used in capsules compounding, including: organoleptical characters evaluation, solubility analysis, pH determination, fusion band determination, density analysis, water determination and evaluation of producer appraisal. Infrared spectrophotometrical analysis was used to certify the drug identity. Drugs assay methodologies were validated according pharmacopeical parameters. The drug percentage was determined by potentiometric titration, ultra violet spectrophotometry and high performance liquid chromatography. Were compounded capsules. The first step of compounded capsules quality control was the mid weight determination and weight variation. The uniformity of capsules evaluation has been done by assay of ten capsules severally. Approaches of capsules assay determination were validated by potentiometric titration, ultra violet spectrophotometry and high performance liquid chromatography. The dissolution time was also determined. The drug interaction with excipient was analysed by X-ray diffraction methodology. The assay methodologies as well the validation route hint may be applied in quality control laboratories of compounding pharmacies.

Key words: atenolol, capsules, enalapril , propranolol, quality



**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS MANIPULADAS DE  
ANTIHIPERTENSIVOS.  
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS: TITULOMÉTRICA,  
ESPECTROFOTOMÉTRICA E CROMATOGRÁFICA.**

## **1. Introdução**

As doenças cardiovasculares ocupam o primeiro lugar como *causa mortis* nos países civilizados (Korolkovas *et al.*, 2000). Dados referentes à morbidade hospitalar no Sistema Único de Saúde (SUS), por grupos de doenças, no ano de 1999, registraram o total de 43.154 internações devido a doenças no aparelho circulatório em Santa Catarina. De acordo com o Ministério da Saúde/SE/ Datasus - Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde - SIH/SUS (1999), registraram-se ainda 1.100.752 casos de internações pelo mesmo motivo no Brasil. A mesma pesquisa revelou também a percentagem de internações por grupos de doenças, enquadrando as do aparelho circulatório como a quarta maior causa de internações no SUS, totalizando 10,61% das internações no ano de 1999, no estado de Santa Catarina, e 9,21% no Brasil.

Os níveis de pressão sanguínea são continuamente relacionados com o risco de distúrbios vasculares. A hipertensão arterial é uma doença cardiovascular definida como a pressão arterial igual ou superior a 140 mm Hg x 90 mm Hg por um extenso período de tempo (McPhee *et al.*, 1997). Na policlínica do SUS do Centro de Saúde II em Florianópolis, são atendidos em média cinco pacientes hipertensos por dia.

A doença pode ser parcialmente controlada por modificação no estilo de vida, adequação do peso corporal, restrição do consumo de sal na dieta, moderação no

consumo de álcool, abstenção do fumo e aumento da atividade física (Korolkovas *et al.*, 2000).

Se a resposta ao tratamento não farmacológico não for suficiente, este deve ser coadjuvado pela terapia com fármacos antihipertensivos. Os fármacos antihipertensivos podem ser divididos em agentes antihipertensivos iniciais e suplementares.

Dentre os iniciais, incluem-se: diuréticos, inibidores adrenérgicos ( $\alpha$  e  $\beta$  bloqueadores), inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), antagonistas do cálcio e antagonistas do receptor da angiotensina II.

Os suplementares são os antagonistas  $\alpha_2$  de ação central, antagonistas adrenérgicos de ação periférica e os vasodilatadores diretos (Korolkovas *et al.*, 2000). Estudos anteriormente publicados conduzem a dados que mostram evidências claras de uma menor incidência dos principais distúrbios cardiovasculares após o tratamento da hipertensão com fármacos antihipertensivos (Chalmers *et al.*, 1999).

Conforme os dados apresentados, a morbidade hospitalar no SUS, referente aos distúrbios cardiovasculares é elevada. A hipertensão é uma doença crônica, e exige tratamento prolongado, adesão e continuidade. No Centro de Saúde II em Florianópolis, os medicamentos que o SUS fornece são: metildopa, hidroclorotiazida e propranolol; entretanto, o tratamento indicado é específico para cada paciente. Podem ser necessários outros medicamentos, ou ainda doses diferentes das apresentações comerciais existentes, especialmente para adequação da dose ideal na regularização da pressão arterial de cada paciente. A farmácia de manipulação é, então, uma alternativa para tratamentos específicos com doses individualizadas, o que resulta num crescente aumento da procura por medicamentos manipulados.

Um outro fator que pode contribuir para uma maior procura pelos medicamentos manipulados, é o fato de os custos destes medicamentos, em geral serem relativamente menores do que os medicamentos industrializados. A farmácia

de manipulação tornou-se uma opção para promover a aquisição de medicamentos por menores custos, resultando assim num crescente aumento da procura por medicamentos manipulados.

O número de estabelecimentos fornecedores destes serviços também aumentou. De acordo com dados fornecidos pelo Conselho Regional de Farmácia em Santa Catarina, houve um aumento acentuado no número de farmácias de manipulação de 1964 a 2001, representando um crescimento total de 12.500%. (Anexo A e B)

Assim, a preocupação com a qualidade dos medicamentos manipulados de forma a atender aos requisitos de qualidade tem sido demonstrada pelos usuários destes fármacos, bem como pelos profissionais de saúde, principalmente em se tratando de uma doença grave e crônica. A avaliação da qualidade de fármacos antihipertensivos manipulados é de fundamental importância no contexto atual.

Este trabalho visa a sugerir metodologias de avaliação da qualidade de cápsulas manipuladas a partir de diferentes aspectos. Como ferramenta, serão avaliadas cápsulas de três fármacos antihipertensivos: atenolol, enalapril e propranolol. As cápsulas servirão como instrumentos de avaliação das técnicas sugeridas, em se tratando de uma classe de medicamentos onde aspectos como dosagem e segurança terapêutica são indicativos de qualidade que podem ser vitais para os usuários.

É importante ressaltar que o objetivo deste trabalho não reside na qualificação das cápsulas em si segundo critérios de adequação, mas na validação dos métodos de análise de qualidade. Esclareça-se, portanto, que o objeto deste trabalho é metodológico e não material.

Como proposto, o objetivo não é generalizar conclusões a respeito das cápsulas manipuladas em farmácias, mas, sim, apresentar diretrizes para que a avaliação da qualidade das cápsulas possa ser adotada por farmácias de manipulação.

Em síntese, este trabalho busca a validação de metodologias analíticas para aplicação em cápsulas manipuladas de antihipertensivos, suprimindo a necessidade dos farmacêuticos nos aspectos de determinação qualitativa e quantitativa da qualidade de fármacos visando à garantia da qualidade de produtos manipulados.

Atende-se assim, a um apelo da população usuária de medicamentos e dos profissionais médicos em garantir a qualidade dos produtos; bem como dos próprios farmacêuticos na busca constante da perfeição nos processos de manipulação de medicamentos.

## **2-Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar metodologias de análise de cápsulas manipuladas de antihipertensivos, contribuindo para a garantia da qualidade de produtos manipulados.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a metodologia de manipulação de cápsulas através dos resultados obtidos, visando ao aperfeiçoamento dos processos de manipulação.

- Determinar técnicas de avaliação da qualidade de cápsulas de atenolol, propranolol e enalapril, desde o processo de controle de qualidade da matéria-prima até o produto acabado.
- Desenvolver e validar metodologia analítica para doseamento do fármaco e de cápsulas de atenolol, propranolol e enalapril por titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no ultravioleta e cromatografia líquida de alta eficiência.
- Comparar e discutir o uso de diferentes metodologias analíticas para o doseamento do fármaco e de cápsulas de atenolol, propranolol e enalapril.
- Sugerir técnicas que possam ser usadas por farmácias de manipulação para o controle de qualidade de cápsulas.

### **2.3 Impactos esperados**

- Reconhecimento pela comunidade científica das metodologias desenvolvidas e validadas.
- Divulgação e disponibilização das técnicas desenvolvidas e validadas para farmácias de manipulação e centros analíticos de controle de qualidade de medicamentos.
- Aperfeiçoamento de processos de manipulação de medicamentos.

- Valorização do profissional farmacêutico e do seu papel na manipulação de medicamentos.

- Atestar a potencialidade de produzir medicamentos manipulados com qualidade.

- Valorização do programa de Pós Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina.

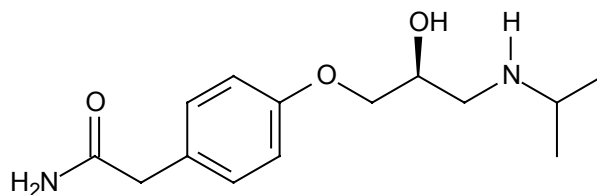
### 3 Revisão bibliográfica

#### 3.1 Revisão bibliográfica dos fármacos

##### 3.1.1 Atenolol

Embora ainda não descrito na farmacopéia brasileira, o fármaco atenolol possui monografia oficial nas farmacopéias americana, européia e britânica (The United States Pharmacopeia USP 24, 2000 (USP, 2000); European Pharmacopoeia, 1997 (EP, 1997), British Pharmacopoeia 2000 (BP, 2000).

##### 3.1.1.1 Características químicas



**Figura 1: Estrutura química do atenolol**

O fármaco de nome químico (R)-4-[hidroxi-3-isopropilaminopropoxi] fenilacetamida, é denominado Atenolol (Munson,1996; Korolkovas *et al.*, 2000).

Constitui-se um  $\beta$ -bloqueador hidrofílico, de fórmula molecular  $C_{14}H_{22}N_2O_3$  e peso molecular 266,34 (Reynolds, 1996).

### 3.1.1.2 Ação

Atenolol é um antagonista de longa duração de ação dos receptores adrenérgicos, possuindo relativa cardioseletividade  $\beta_1$ , sem atividade simpatomimética intrínseca ou estabilizadora de membrana, que ocorre com alguns medicamentos antihipertensivos (USP DI, 1991; Reynolds, 1996; Munson, 1996; Korolkovas *et al.*, 2000).

Exerce atividade cronotrópica e inotrópica negativa pela inibição dos receptores  $\beta_1$  adrenérgicos do miocárdio (McEvoy, 1999).

Em pacientes hipertensos a administração oral de atenolol reduz significativamente a pressão sangüínea sistólica e diastólica de repouso e atenua o aumento da pressão sangüínea induzida por exercícios (Wadworth *et al.*, 1991).

É eficaz e geralmente bem tolerado em pacientes com todos graus de hipertensão. Dados de estudos comparativos mostram que quando administrado oralmente, atenolol reduz a pressão sangüínea em proporções similares a doses terapêuticas usuais de outros antagonistas  $\beta$  adrenérgicos, inibidores da enzima conversora de angiotensina, antagonistas do cálcio,... Há evidências de redução da mortalidade por distúrbios cardiovasculares durante a terapia prolongada com atenolol em pacientes com hipertensão (Wadworth *et al.*, 1991).



### **3.1.1.3 Indicações**

As indicações terapêuticas são o tratamento da hipertensão, angina *pectoris* aguda ou crônica. É usado para reduzir o risco de mortalidade cardiovascular no controle do infarto agudo do miocárdio, e pacientes que estão hemodinamicamente estáveis e no tratamento de taquiarritmias atriais. (Munson,1996; Reynolds, 1996; McEvoy, 1999).

### **3.1.1.4 Apresentações e Dosagens**

Para o controle da hipertensão, a dosagem inicial para adultos é de 25,0 a 50,0 mg uma vez ao dia. A dosagem oral pode ser aumentada para 100,0 mg diárias para a resposta ótima. O efeito total é usualmente estabelecido dentro de duas semanas. A maioria dos pacientes hipertensos respondem a uma dosagem diária de 50,0 a 100,0 mg. Atenolol geralmente é administrado uma vez ao dia. A administração de mais de uma dose ao dia para o controle da hipertensão usualmente não é necessária (Munson, 1996; McEvoy, 1999).

É improvável que o aumento da dose de atenolol acima de 100,0 mg ao dia resulte em benefício adicional para pacientes recebendo monoterapia ou terapia combinada com outros medicamentos. Em doses maiores, inibe também os receptores  $\beta_2$ , principalmente os localizados na musculatura bronquial e vascular. Sua potência  $\beta$  bloqueadora é 1, igual à do propranolol (Wadworth *et al.*, 1991; Korolkovas *et al.*, 2000).

No Brasil, é encontrado sob a forma de comprimidos de 25,0, 50,0 bem como 100,0 mg, e em farmácias de manipulação sob a forma de cápsulas nas concentrações prescritas pelos médicos.

Formulações gastro-resistentes tiveram menor biodisponibilidade do que formas de liberação imediata, em estudos comparativos entre cápsulas de liberação prolongada e comprimidos de liberação imediata. A presença de comida no estômago pode atuar como um reservatório para as formas de liberação imediata, aumentando a sua biodisponibilidade (Rouge *et al.*, 1998).

#### **3.1.1.5 Absorção**

O atenolol é rápida, porém incompletamente absorvido pelo trato gastrointestinal. Apenas cerca de 50 a 60% de uma dose oral de atenolol é absorvida. O pico de concentração plasmática igual a 1-2  $\mu\text{g/mL}$  é alcançado 2 a 4 horas após a administração oral (Wadworth *et al.*, 1991; McEvoy, 1999; Reynolds, 1996; Korolkovas *et al.*, 2000).

O efeito de atenolol na taxa cardíaca tem início após 1 hora, alcança o pico em 2 a 4 horas e persiste 24 horas após a administração oral do fármaco. O efeito antihipertensivo e bloqueio  $\beta$  adrenérgico de uma dose oral de 50,0 a 100,0 mg persiste por 24 horas (McEvoy, 1999).

#### **3.1.1.6 Distribuição**

O atenolol é amplamente distribuído na maioria dos tecidos exceto no sistema nervoso central, embora sejam relatadas pequenas frações da dose administrada atravessando a barreira hemato-encefálica (Wadworth *et al.*, 1991; Korolkovas *et al.*, 2000).

O fármaco atravessa a placenta facilmente sendo detectado no cordão umbilical. Durante a administração continuada, as concentrações no soro do feto são equivalentes à do soro materno. Atenolol é excretado no leite materno, onde têm sido detectadas concentrações maiores do que as no plasma materno (Reynolds, 1996; Wadworth *et al.*, 1991; McEvoy, 1999).

### **3.1.1.7 Eliminação**

A ligação a proteínas plasmáticas é mínima: aproximadamente 6 a 16%. Em pacientes com função renal normal, atenolol tem uma meia-vida de 6 a 7 horas. A eliminação é cerca de 6 L/h (100 mL/min). O metabolismo hepático é mínimo. Aproximadamente 40 a 50% de uma dose oral é excretada inalterada na urina. O restante é excretado inalterado nas fezes, principalmente como fármaco não absorvido. Cerca de 1 a 12% é removível por hemodiálise (USP DI, 2000; Wadworth *et al.*, 1991; McEvoy, 1999; Korolkovas *et al.*, 2000).

O fármaco tem muito baixa solubilidade lipídica. É removível por hemodiálise (USP DI, 2000; Korolkovas *et al.*, 2000).

### **3.1.1.8 Efeitos adversos**

Os efeitos adversos mais freqüentemente relatados durante a terapia oral de atenolol para hipertensão, angina *pectoris* e arritmias são: bradicardia, extremidades frias, sintomas gastrointestinais, fadiga, fraqueza, pesadelos, distúrbios do sono, dor de cabeça, distúrbios sexuais. Em geral, esses efeitos são moderados, usualmente tornando-se menos freqüentes com a terapia continuada. Na maioria dos casos estudados, necessita-se da retirada do tratamento em apenas 3 a 6% dos pacientes (Wadworth *et al.*, 1991).

Teoricamente, há risco reduzido de broncoespasmo, hipoglicemia, e vasoconstrição periférica quando as dosagens diárias estão nas faixas menores, por causa da cardioseletividade. A redução da dosagem é necessária na insuficiência renal, mas não na insuficiência hepática (USP DI, 2000).

#### **3.1.1.9 Doseamento do Atenolol:**

A farmacopéia européia apresenta como método de doseamento para o atenolol a titulação potenciométrica em meio não-aquoso, utilizando ácido perclórico como titulante (EP, 1997). O mesmo método de doseamento em meio não-aquoso é apresentado na monografia do fármaco na farmacopéia britânica (BP, 2000).

Não há método farmacopéico para o doseamento de cápsulas de atenolol. Para os comprimidos, a farmacopéia britânica apresenta o método da espectrometria de absorção no ultravioleta utilizando uma solução contendo 0,01% de atenolol analisada no comprimento de onda de 275 nm (BP, 2000).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é descrita na farmacopéia americana como metodologia para o doseamento tanto do fármaco quanto de comprimidos de atenolol (USP, 2000).

Diversas metodologias têm sido propostas para a determinação de fármacos  $\beta$ -bloqueadores como atenolol e propranolol, e o principal foco têm sido nas metodologias envolvendo cromatografia líquida de alta eficiência, isoladamente, ou em combinação com outros métodos. Uma outra tendência é a busca de metodologias para a determinação simultânea de diferentes fármacos em associação, ou otimização de metodologias para uma mesma classe de fármacos.

Relata-se o desenvolvimento de método cromatográfico de alta eficiência para a determinação simultânea de atenolol e anlodipina, com resultados exatos, precisos e lineares (Argekar e Powar, 2000).

A cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa foi utilizada para quantificação de atenolol simultaneamente a antagonistas do cálcio, com eluição em condições isocráticas (Patel *et al.*, 1998).

Para a completa resolução e determinação do beta-bloqueador atenolol e principais impurezas foi desenvolvido um método cromatográfico. O método permite a determinação precisa das impurezas e da potência do atenolol, na forma de fármaco puro ou em comprimidos. A técnica utiliza coluna C-18 de aço inoxidável com 300 x 3,9 mm e fase móvel contendo metanol, 25 mM ortofosfato dihidrogenio de potássio com 0,06% (v/v) dibutilamina (20:80, v/v) pH 3. Foi usada uma taxa de fluxo de 1 mL/min e detecção em comprimento de onda 226 nm. A aplicação do método a comprimidos de 50,0 e 100,0 mg proveu recuperação de 99% e reprodutibilidade de 1,1 e 0,52 %, respectivamente (Pawlak e Clark, 1992).

A análise de amostras comerciais de comprimidos e cápsulas de  $\beta$ -bloqueadores inclusive atenolol e propranolol foi realizada através de técnicas de CLAE e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS). O conteúdo de uma única cápsula ou de um único comprimido foi diluído, sonificado por aproximadamente meia hora e tomadas alíquotas para análise (Abdel-Hamid, 2000).

Foram validadas metodologias analíticas usando CLAE com detecção ultravioleta para a quantificação de  $\beta$ -bloqueadores, demonstrando

proporcionalidade, precisão e exatidão. O uso de apenas um tipo de coluna de fase reversa e fase móvel para todos  $\beta$ -bloqueadores permite a análise de um grande número de amostras em pouco tempo (Modamio *et al.*, 1996).

O tipo de coluna e a composição da fase móvel influenciam a separação cromatográfica. Uma seleção inapropriada das condições cromatográficas pode levar a falhas na detecção, separação incompleta e resultados errôneos (Abdel Hamid, 2000).

Os componentes de um sistema de CLAE com detecção no ultravioleta proposto na literatura são uma coluna 5  $\mu$ m C-18 (125 x 4 mm d.i.), e fase móvel constituída de acetonitrila e tampão fosfato (pH 3,0 ; 0,067 M) com 0,2 % p/v de trietilamina (Modamio *et al.*, 1996).

As metodologias CLAE para  $\beta$ -bloqueadores geralmente requerem fase móvel contendo três componentes: acetonitrila ou metanol para controlar a retenção, tampão para controlar a força iônica e o pH da fase móvel, e pareamento iônico. Os reagentes devem prover a adequada retenção dos  $\beta$ -bloqueadores ou aminas orgânicas como agentes mascaradores para diminuir a cauda do pico. Um estudo demonstrou que a adição de alquilaminas ou aminas orgânicas não é essencial para a adequada separação dos  $\beta$ -bloqueadores, diminuindo a complexidade da análise, e protegendo a coluna C-18, que têm a vida útil diminuída por estes compostos (Basci *et al.*, 1998).

A polaridade da fase móvel tem um efeito dominante sobre o comportamento cromatográfico de solutos em CLAE. Assim, a retenção de  $\beta$ -bloqueadores em diferentes concentrações de acetonitrila em tampão fosfato (10 mM, pH 3,0) foi averiguada. O aumento da concentração de acetonitrila em tampão fosfato reduz os fatores de capacidade dos  $\beta$ -bloqueadores por causa da diminuição da polaridade da fase móvel. Em determinado estudo, o propranolol foi adequadamente separado, usando fase móvel composta por 30% de acetonitrila, com a razão de simetria de pico de 70%. Porém, o fármaco atenolol não foi separado usando fase móvel contendo 30% de acetonitrila em tampão fosfato (Basci *et al.*, 1998).

O fármaco atenolol não é adequadamente separado por uma fase móvel contendo 30% de acetonitrila por causa de sua alta hidrofiliabilidade e a adição de alquil sulfatos e aminas orgânicas não foi capaz de melhorar esta separação. Utilizou-se metanol concomitantemente com acetonitrila, otimizando a separação, com maior simetria de pico. Foi também demonstrado, que o metanol é bem adsorvido em sílica, promovendo uma fase estacionária homogênea; podendo ser este o mecanismo de melhora da simetria de picos. Foi alcançada boa simetria de pico com a fase móvel constituída por metanol, acetonitrila, tampão fosfato (10 mM) (15:15:70, v/v/v, pH 3,0), em uma coluna C-18 com tamanho de partícula 10 µm e 300 x 3,9 mm de diâmetro interno (Basci et al., 1998).

Nas estratégias de separação complementar descrita na literatura, diferentes condições são procuradas para obter a resolução desejada, mas os diversos sistemas de separação são usualmente otimizados separadamente. Há ainda a proposta de um método de fases móveis complementares, podendo ter um efeito considerável na resolução de misturas complexas. O sucesso da separação depende da variação na seletividade dos compostos eluídos (Vivo-Truyols *et al.*, 2000).

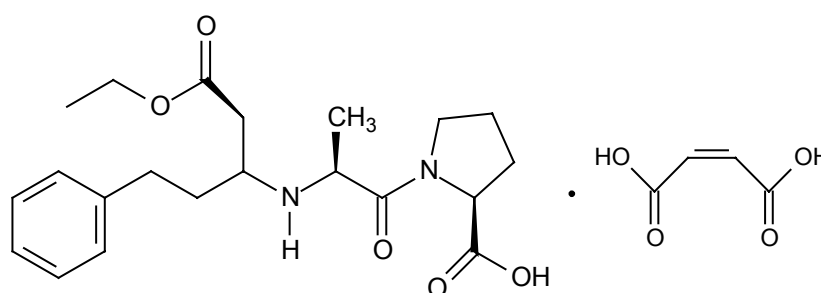
Foi usada CLAE acoplada a ionização *electrospray* e espectrometria de massa na determinação de β-bloqueadores, incluindo atenolol e propranolol. Investigou-se a otimização da fase estacionária para a técnica, com o objetivo de obter o melhor sinal na espectrometria de massa e melhor forma do pico (Needham *et al.*, 2000).

Para a avaliação das fases estacionárias de CLAE é preciso cautela na seleção dos componentes testados e parâmetros teste, bem como quanto ao tratamento e apresentação dos resultados (Law, Houghton e Ballard, 1998).

### 3.1.2 Enalapril

Embora ainda não descrito na Farmacopéia Brasileira, o fármaco enalapril possui monografia oficial nas Farmacopéias Americana, Britânica e na Farmacopéia Européia (USP 2000; BP, 2000; European Pharmacopoeia Supplement, 2001 (EP, 2001).

#### 3.1.2.1 Características químicas



**Figura 2: Estrutura química do maleato de enalapril**

O enalapril é um fármaco de fórmula molecular  $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$  e peso molecular 492,5. Sua denominação química é (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonil)-3-fenilpril]amino]propanoil]pirrolidina-2-ácido carboxílico (Z)-butenedioato. É um derivado peptídico sintético. Corresponde ao éster etílico da 1-[[carboxi-3fenilpropil]-L-alanil]-L-prolina (Korolkovas, 2000).



Enalaprilato e enalapril são inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA). Enalapril, o etiléster do enalaprilato, é um pró-fármaco e tem uma pequena atividade farmacológica até ser hidrolisado no fígado a enalaprilato. O fármaco é comercialmente disponível como maleato de enalapril e difere estruturalmente do enalaprilato pela presença de um grupo etoxicarbonil ao invés de um grupo carboxílico na posição 1 da 1-alanil-1-prolina e pela presença do sal maleato. Estas modificações estruturais resultam em aumento da absorção gastro-intestinal do enalapril comparado ao enalaprilato o qual é fracamente absorvido pelo trato gastro-intestinal.

Enalapril é estruturalmente e farmacologicamente similar ao captopril, mas contém um nitrogênio dissubstituído ao invés de um grupo sulfidrílico na posição 3 de 2 metil-oxoprolil-1-prolina. A falta do grupo sulfidril no enalapril pode resultar na diminuição dos efeitos adversos como reações cutâneas, alterações de paladar e proteinúria (McEvoy, 1999; Korolkovas, *et al.*, 2000).

### **3.1.2.2 Ações**

O fármaco atua reduzindo a pressão sanguínea e produzindo efeitos hemodinâmicos benéficos em pacientes com falência cardíaca congestiva principalmente pela supressão do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A clivagem da angiotensina I em angiotensina II é inibida. Esta possui ação vasoconstritora que estimula a secreção de aldosterona e hormônio antidiurético (Munson, 1996; McEvoy, 1999).

Evidências crescentes sugerem que o principal mecanismo de ação de inibição da ECA pelo enalapril e suas mudanças hemodinâmicas benéficas resultantes são subseqüentes à redução direta dos níveis de angiotensina II nos vasos sanguíneos, levando à dilatação dos vasos periféricos e redução da

resistência vascular o que resulta na diminuição da pressão sangüínea. Alguns estudos têm sugerido uma possível contribuição do papel desempenhado pelo sistema simpático e mudanças nas cininas vasoativas ou prostanóides.

O tratamento diminui a pressão sangüínea por diminuir a resistência vascular periférica sem aumentar a taxa de batimentos cardíacos. É eficaz em diminuir a pressão sangüínea em todos os graus de hipertensão essencial e renovascular (Todd e Goa, 1992).

A redução da mortalidade no tratamento vasodilatador da falência cardíaca com enalapril é atribuída à redução da incidência de morte súbita (Sato, 1996).

A terapia com inibidores da enzima conversora de angiotensina adia a deterioração e aumenta a sobrevida na insuficiência cardíaca congestiva crônica e disfunção do ventrículo esquerdo. Estudos indicam que a principal razão para a inibição da ECA em casos estudados, e após infarto do miocárdio é a modulação da ativação neurohormonal prolongada (Sigurdsson e Swedberg, 1995).

O fármaco enalapril produz regressão da hipertrofia do ventrículo esquerdo e aumento na capacidade de exercício em pacientes com angina microvascular (Iriarte *et al.*, 1995).

Benefício substancial é oferecido pelo enalapril a pacientes com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, prevenindo o remodelamento adverso ventricular, o desenvolvimento de falência cardíaca clínica, reduzindo as taxas de hospitalização por falência cardíaca e em alguns estudos, diminuindo a mortalidade. A maioria dos benefícios derivados parecem estar associados com a prevenção da hipertrofia do ventrículo esquerdo, dilatação e disfunção, resultando na prevenção da falência cardíaca. (Konstam, 1995).

Nas dosagens terapêuticas usuais em pacientes com hipertensão essencial média a severa, enalapril é tão efetivo quanto outros inibidores da ECA, diuréticos,  $\beta$ -bloqueadores, e outros medicamentos (Todd e Goa, 1992).

### **3.1.2.3 Indicações**

O fármaco enalapril como monoterapia reduz em cerca de 15 a 25% a pressão sistólica e diastólica , com a normalização da pressão diastólica ocorrendo em cerca de 50 a 75% dos pacientes com hipertensão essencial ou renovascular.

A pressão sangüínea é reduzida pelo enalapril em pacientes com hipertensão essencial ou renovascular, com regressão da hipertrofia do ventrículo esquerdo durante a administração prolongada (Todd e Goa, 1992).

### **3.1.2.4 Apresentações e Dosagens**

Para o controle da hipertensão de pacientes sem uso concomitante de diuréticos a dosagem inicial usual em adultos é 2,5 a 5,0 mg ao dia administrada sob supervisão. A dosagem do fármaco deve ser ajustada de acordo com a resposta da pressão sanguínea do paciente. A terapia com enalapril pode então ser começada na dosagem de 10,0 mg uma vez ao dia em distúrbios moderados ou 20,0 mg para casos mais severos, e a dosagem dobrada a cada 1 a 2 semanas para alcançar a resposta máxima. A dosagem diária de manutenção é de 10,0 a 40,0 mg (Todd e Goa, 1992; McEvoy, 1999).

No Brasil, é encontrado sob a forma de comprimidos de 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg, e em farmácias de manipulação sob a forma de cápsulas nas concentrações prescritas pelos médicos.

### **3.1.2.5 Absorção**

Administrado sob a forma do sal maleato, aumenta-se a biodisponibilidade sistêmica do enalaprilato, inibidor ativo da ECA, que é fracamente absorvido em humanos em razão de sua alta polaridade. Apenas 3,0 a 12,0 % de uma dose oral de enalaprilato é absorvida, enquanto que aproximadamente 55,0 a 75,0 % de uma dose oral de maleato de enalapril é absorvida pelo trato gastro-intestinal, e os picos séricos da concentração de enalapril são alcançados após 1 hora, declinando rapidamente depois. Os alimentos parecem não afetar substancialmente a taxa ou extensão de absorção do maleato de enalapril. Após administração oral, o maleato de enalapril parece sofrer metabolismo de primeira passagem, principalmente no fígado, sendo hidrolisado a enalaprilato, o qual alcança picos de concentração plasmática cerca de 3 a 4 horas após a administração do enalapril (Todd e Goa, 1992; Reynolds, 1996; McEvoy, 1999; Korolkovas *et al.*, 2000).

O efeito hipotensivo de uma dose oral de maleato de enalapril é evidenciado dentro de uma hora e máximo em 4 a 8 horas, e geralmente persiste por 12 a 24 horas (McEvoy, 1999).

### **3.1.2.6 Distribuição**

Aproximadamente 50,0 a 60,0 % do enalaprilato é ligado a proteínas plasmáticas. Dois sítios de ligação têm sido identificados. O enalaprilato parece penetrar na maioria dos tecidos, em particular nos rins e tecido vascular, embora a penetração no sistema nervoso central não tenha sido conclusivamente demonstrada após administração das dosagens terapêuticas. O fármaco não se acumula em nenhum tecido após administração de múltiplas doses em animais. Ocorre permeação mínima no leite materno, porém o fármaco atravessa a placenta (Todd e Goa, 1992; McEvoy, 1999).

### **3.1.2.7 Eliminação**

Após a administração oral, enalapril e enalaprilato são excretados na urina e

fezes. Em humanos saudáveis cerca de 60,0 a 78,0 % (destes, cerca de 43,0 a 56,0 % como enalaprilato e o restante como fármaco inalterado) de uma dose de 10,0 mg de maleato de enalapril é excretado na urina dentro de 24 a 48 horas após a administração e aproximadamente 33,0 % (cerca de 27,0 % como enalaprilato e 6,0 % como fármaco inalterado) é excretado nas fezes, representando a excreção biliar da droga não absorvida (Todd e Goa, 1992; McEvoy, 1999).

A principal rota de eliminação é renal: 18L/h para enalapril e 8,0 a 9,5 L/h para enalaprilato. O enalaprilato sofre uma eliminação polifásica com uma fase de eliminação inicial de cerca de 5 horas e uma fase prolongada terminal de 30 a 35 horas, refletindo a forte ligação do enalaprilato à ECA plasmática (Todd e Goa, 1992).

A meia-vida efetiva de acumulação seguida de doses múltiplas de enalapril é relatada como sendo cerca de 11 horas em pacientes com função renal normal (Korolkovas *et al*, 2000; Reynolds, 1996).

A hemodiálise reduz a concentração sérica do enalaprilato em aproximadamente 35,0 % (USP DI, 2000).

### **3.1.2.8 Efeitos adversos**

Os efeitos adversos mais freqüentes durante a terapia com enalapril ocorrem em menos de 10,0 % dos pacientes, os quais são geralmente moderados, transitórios e não limitam a terapia: dor de cabeça, fraqueza, sonolência, dor abdominal e palpitações. É provável que muitos destes eventos não estejam relacionados ao tratamento, mas mais propriamente à hipertensão ou ainda podem representar efeitos não específicos, pois ocorrem freqüentemente em pacientes não medicados (Todd e Goa, 1992).

### **3.1.2.9 Doseamento do Enalapril**

As farmacopéias britânica e europeia apresentam como método de doseamento para o enalapril a titulação potenciométrica em meio aquoso, utilizando hidróxido de sódio como titulante (BP 2000; EP 2001).

Não há método farmacopéico para o doseamento de cápsulas de enalapril.

Não foi encontrado método farmacopéico por espectrometria de absorção no ultravioleta para determinação de enalapril. Um número reduzido de metodologias têm sido propostas para a quantificação do fármaco por espectrometria de absorção no ultravioleta, e a maioria delas é baseada na formação de compostos colorimétricos. Não foi encontrada nenhuma metodologia para o fármaco isolado e tampouco para comprimidos e cápsulas por espectrometria de absorção no ultravioleta de leitura direta.

Foi relatado um método espectrofotométrico para o doseamento de enalapril baseado na formação de complexos ternários. O método não permite a leitura direta, pois é necessária a extração do complexo ternário cobre II – eosina - enalapril com clorofórmio e posterior leitura a 533,4 nm (Ayad et al, 2002).

Em estudo realizado visando determinar metodologias de doseamento do fármaco, métodos espectrofotométricos por pareamento iônico com azul de bromotimol, por complexação com sulfato de cobre e reação com cloreto ferrico III e métodos fluorimétricos utilizando 4-cloro -7-nitrobenzofurazano (cloreto de NBD) e o-ftalaldeído como reagentes fluorogênicos não forneceram resultados satisfatórios para a sua utilização como métodos físico-químicos de doseamento de maleato de enalapril (Rech ,1993).

A quantificação do fármaco por espectrometria derivada aumenta a detecção dos menores traços do espectro de absorção ultravioleta, tendo melhor desempenho do que a espectrometria de absorção no ultravioleta convencional. Para alcançar o máximo de resposta derivativa e exatidão, na determinação do teor de comprimidos de enalapril associado à hidroclorotiazida, relata-se a utilização de duas diferentes ordenadas derivativas por causa da baixa absorção do maleato de enalapril. A comparação estatística dos resultados obtidos com espectrometria de absorção no ultravioleta derivada e CLAE para o maleato de enalapril mostrou que não há diferenças significativas entre os dois métodos (El Walily *et al*, 1995).

A cromatografia líquida de alta eficiência é descrita na farmacopéia americana como metodologia para o doseamento do maleato de enalapril puro e de comprimidos contendo o fármaco (USP, 2000).

Métodos precisos e confiáveis de CLAE têm sido usados com bons resultados para a determinação dos níveis plasmáticos de inibidores da ECA, incluindo enalapril, em modelos animais e humanos (Anzenbacherová *et al*, 2001).

A maioria dos métodos de CLAE desenvolvidos para análise de enalapril e enalaprilato, incluindo o apresentado na monografia da farmacopéia americana, envolve o uso de artifícios especiais de controle de temperatura, utilizando-se coluna com alta temperatura, para superar o problema de divisão de picos do fármaco (USP, 2000; Tajerzadeh e Hamidi, 2001). Porém, há diferentes rotas analíticas usando CLAE, testadas e validadas por diferentes autores, que não apresentam estes requisitos de coluna, facilitando a análise.

Foi desenvolvido e validado um método simples e relativamente rápido para a quantificação de enalapril e enalaprilato por CLAE, que não requer condições especiais, como altas temperaturas de coluna. Foi testada uma série de fases móveis formadas por soluções tampão com diferentes valores de pH em combinação com diferentes moderadores, incluindo acetonitrila, metanol e trietilamina, em diferentes frações volumétricas. Apenas acetonitrila em pH ácido mostrou resultados aceitáveis. Além do mais, os resultados indicaram que a forma do pico e o tempo de retenção do enalaprilato podem ser afetados dramaticamente tanto pela composição como pelo pH da fase móvel com apenas uma média limitada de ambos parâmetros promovendo resultados desejáveis. A otimização do método foi alcançada com uma fase móvel constituída por água-acetonitrila-ácido ortofosfórico (85,0 % p/v) (90:10:1, v/v/v) com um pH de 2,8 ajustado pela adição de solução concentrada de NaOH. Mediante testes com diferentes tipos de coluna, a C18 foi a que demonstrou a melhor separação, devendo esta ser resistente ao pH, por causa da acidez da fase móvel. A taxa de fluxo de 0,7 mL/min foi a que proporcionou melhor resolução do pico. A metodologia foi validada por testes de limite, linearidade, precisão, exatidão, seletividade (Tajerzadeh e Hamidi, 2001).



O uso de CLAE na quantificação de maleato de enalapril é também relatado com a utilização de fase móvel isocrática composta por acetonitrila e água (20:80, v/v), com pH ajustado para 3,8 com ácido acético. A fase móvel foi escolhida após diversos testes com acetonitrila-água e metanol-água, em diferentes proporções e valores de pH utilizando uma coluna C-18 12 µm Nucleosil (250 x 4,6 mm d.i. ). A detecção é feita através de detector ultravioleta. Executaram-se mudanças no comprimento de onda de detecção, para alcançar a máxima detecção de resposta na análise (El Walily *et al*, 1995).

A cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa foi utilizada para a determinação de enalapril e seus dois metabólitos: enalaprilato (diácido, forma ativa do fármaco, produto da degradação hidrolítica do enalapril) e enalapril-DKP (ciclização do enalapril). A retenção de enalapril-DKP é controlada pelo processo de partição de fase reversa, enquanto que a do enalapril e a sua forma diácida é governada tanto por mecanismo de fase reversa e mecanismo de troca catiônica, o qual está relacionado com o tipo de aminoácido, o equilíbrio protolítico dependente do pH e outros equilíbrios secundários como a solvatação.

A otimização do processo é obtida com a fase móvel com tampão fosfato a pH 2, e CH<sub>3</sub>CN 0,001 M. O pH baixo é crítico para a determinação do enalapril e sua forma diácida. Enalapril é um dipetídeo com uma ligação peptídica à prolina, a qual tem conformações *trans* e *cis* devido ao seu caráter de dupla ligação parcial. O pico do enalapril pode ser distorcido ou até dividido em dois picos em pH elevado. Baixos valores de pH proporcionam um pico único, porque a ligação peptídica à prolina é parcialmente protonada, com diminuição do caráter de ligação dupla parcial e aumento da taxa de intervalo entre a isomerização *cis* e *trans*. Similarmente, a forma diácida tem melhor forma de pico em pH baixo.

Além da forma do pico, a retenção do enalapril e sua forma diácida são grandemente influenciadas pelo pH. Enalapril possui carga positiva em pH 2,0; tendo 2,97 (para o grupo carboxila) e 5,35 (para o grupo amino) como valores de pK<sub>a</sub>. A forma diácida também tem carga positiva em pH 2, devido aos seus dois grupos carboxila com valores de pK<sub>a</sub> entre 2 e 3 e seu grupo amino com valor de pK<sub>a</sub>

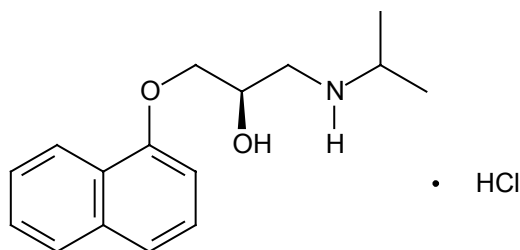
entre 5 e 6. A fase estacionária  $C_8$  têm ligados grupos silanol não reagentes. A maioria destes silanóis são ácidos com valores de  $pK_a$  entre 5 e 7. No entanto alguns silanóis podem ter menores valores de  $pK_a$ . Em pH 2, embora a maioria dos grupos silanóis esteja protonada, alguns grupos podem estar desprotonados e reagir com as cargas do enalapril e sua forma diácida através de ligação hidrogênica e troca catiônica. Quando o pH é aumentado, o processo de troca catiônica pode ser influenciado devido à mudança no estado de ionização dos silanóis, do enalapril e diácido. Assim, a retenção do enalapril e diácido será influenciada. Claramente, o pH é uma boa maneira de controlar a retenção do enalapril e do diácido.

Assim como o pH, a concentração salina é outro parâmetro controlador da retenção do enalapril e diácido. A concentração salina varia com o pH da solução ajustado para 2. A baixa concentração (0,001 M  $KH_2PO_4$ ) foi determinada como importante para a boa separação do enalapril e seu produto de ciclização (Qin *et al*, 1995).

### **3.1.3 Propranolol**

O fármaco é descrito na terceira edição da Farmacopéia Brasileira, bem como nas Farmacopéias Americana, Britânica e Européia (Farmacopéia Brasileira, 1977 (FB, 1977); USP, 2000; BP, 2000; EP, 1997).

### 3.1.3.1 Características químicas



**Figura 3: Estrutura química do propranolol**

O fármaco  $\beta$ - bloqueador apresenta fórmula molecular  $C_{16}H_{21}NO_2$ , HCl e peso molecular 295,8. Sua denominação química é cloridrato de 1-Isopropilamino-3-(1-naphthiloxi)propan-2-ol. Apresenta o anel naftalênico em lugar do grupo fenila. O propranolol é um bloqueador  $\beta$  adrenérgico não seletivo. Constitui-se um potente antagonista de receptores beta-adrenérgicos  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , que atua bloqueando os efeitos dos neurotransmissores simpáticos por competição pelo sítio de ligação. (Munson, 1996; Korolkovas *et al.*, 2000; USP DI, 2000).

### 3.1.3.2 Ação

Possui atividade antiarrítmica devido principalmente a duas ações: bloqueio dos  $\beta$ -receptores cardíacos, principalmente, e atividade estabilizadora de membrana similar ao da quinidina (ocorrendo somente em concentrações acima das utilizadas clinicamente) (Korolkovas *et al*, 2000).

O fármaco inibe a resposta aos estímulos adrenérgicos pelo bloqueio competitivo dos receptores  $\beta$  adrenérgicos. O propranolol não tem atividade

simpatomimética intrínseca. Através do bloqueio da ação adrenérgica no miocárdio, propranolol diminui a taxa e a força de contração cardíaca, diminuindo a pressão do sistema circulatório, previne o aumento induzido pelo exercício na taxa cardíaca, diminui a contratilidade do miocárdio, aumenta o tempo de ejeção sistólica, prolonga o tempo de condução átrio-ventricular, a refratariedade e aumenta o volume cardíaco. (Reynolds, 1996; McEvoy, 1999, Korolkovas,2000). O fármaco também diminui a velocidade de condução através do sinoatrial e atrioventricular e diminui a automaticidade do miocárdio via bloqueio  $\beta$  adrenérgico. (Munson, 1996; McEvoy, 1999; Korolkovas *et al*,2000).

Resultados de estudos recentes sugerem que a cardioproteção promovida pelo propranolol pode ser exercida pela atenuação do influxo de sódio dentro das células cardíacas seguida pela prevenção da disfunção mitocondrial no coração isquêmico, levando ao aumento da produção de energia pelo coração durante a reperfusão. (Iwai *et al*, 2002).

### **3.1.3.3 Indicações**

A administração oral de propranolol é usada na hipertensão crônica, angina *pectoris*, arritmia cardíaca, cardioproteção após infarto do miocárdio, profilaxia da enxaqueca, tremor essencial e estenose hipertrópica subaórtica. Também é usado para a profilaxia e tratamento de cardiomiopatias, tremores, síndrome do prolapso da válvula mitral, cefaléia de origem vascular. Indicado como adjuvante no tratamento de feocromocitoma, ansiedade e tirotoxicose (Munson, 1996; USP DI, 2000).

### **3.1.3.4 Apresentação e Dosagens**

Para o controle da hipertensão, a dosagem inicial do cloridrato de propranolol para adultos é de 20,0 a 40,0 mg duas vezes ao dia. A dosagem é determinada pela resposta do paciente. O tratamento geralmente inicia com doses menores, que são aumentadas gradativamente, em intervalos de 3 a 7 dias, até alcançar a pressão sanguínea ótima. Geralmente são administrados 40,0 mg via oral 3 a 4 vezes ao dia. Se necessário, pode-se aumentar a dose diária até 480,0 mg. A dose efetiva usual varia de 160,0 a 480,0 mg ao dia (Reynolds, 1996; McEvoy, 1999; Korolkovas *et al.*, 2000).

É usado sob a forma de cloridrato de propranolol, sendo encontrado no Brasil na apresentação de comprimidos de 10 a 80mg, e em farmácias de manipulação sob a forma de cápsulas nas concentrações prescritas pelos médicos (Korolkovas *et al.*, 2000).

### **3.1.3.5 Absorção**

O fármaco sofre absorção quase completa após administração oral. A biodisponibilidade é afetada pelo efeito de primeira passagem. Em média, apenas 25 % do fármaco atingem a circulação sistêmica. Após a absorção gastro-intestinal, o propranolol é captado pelo fígado através de tecidos de ligação não específicos. Há grandes diferenças individuais na extração hepática, provavelmente por causa das diferenças no fluxo sanguíneo hepático. Após administração oral, o fármaco não alcança a circulação geral até que os sítios de ligação hepática estejam saturados (Hardman *et al.*, 1996; Reynolds, 1996; McEvoy, 1999; USP DI, 2000).

Cerca de 80 % da dose administrada é removida durante a eliminação pré-sistêmica; porém esta percentagem diminui para 65 % com o tratamento crônico. O pico de concentração plasmática ocorre cerca de 1 a 2 horas depois da administração oral. As concentrações plasmáticas alcançadas variam entre indivíduos. O fármaco é detectado no plasma dentro de 30 minutos, e o pico de concentração plasmática é alcançado cerca de 60 a 90 minutos após a administração oral. O tempo em que as concentrações plasmáticas são alcançadas pode ser diminuído, mas as concentrações não são necessariamente diminuídas, quando o fármaco é administrado com alimentos (Reynolds, 1996; McEvoy, 1999; Korolkovas *et al*, 2000).

Há uma considerável variação entre pacientes relacionada às concentrações plasmáticas de propranolol e efeitos terapêuticos, mas as concentrações plasmáticas terapêuticas do propranolol são usualmente 50,0 a 100,0 ng/mL. Concentrações de 100,0 ng/mL geralmente representam um alto grau de bloqueio  $\beta$ -adrenérgico. Possui meia-vida plasmática de cerca de 4 horas (Hardman, 1996; McEvoy, 1999).

#### **3.1.3.6 Distribuição**

O propranolol é amplamente distribuído nos tecidos corporais incluindo pulmões, fígado, rins e coração. O fármaco atravessa a barreira hemato-encefálica e a placenta, e é distribuído no leite materno (USP DI, 2000; Reynolds, 1996).

O volume aparente de distribuição do propranolol varia amplamente na proporção da fração do fármaco não ligado em todo sangue. O propranolol apresenta ligação às proteínas plasmáticas maior que 90,0 %. Tanto o propranolol livre quanto o ligado a proteínas é metabolizado. A biodisponibilidade é de cerca de 30,0 %, sendo significativamente reduzida pelo metabolismo de primeira passagem (Reynolds, 1996; McEvoy, 1999; USP DI, 2000; Korolkovas *et al.*,2000).

### **3.1.3.7 Eliminação**

O propranolol é quase completamente metabolizado no fígado, e a eliminação é principalmente renal. Até 8 metabólitos têm sido identificados na urina. É excretado na urina, sendo 0,5 % como fármaco íntegro. Apenas um de seus metabólitos (4-hidroxiopropranolol) é considerado biologicamente ativo; mas a contribuição dos metabólitos para a atividade total é incerta. Apenas 1,0 a 4,0 % de uma dose oral da droga é detectada nas fezes como fármaco inalterado e metabólitos (Hardman *et al.*, 1996; Reynolds, 1996; McEvoy, 1999, Korolkovas *et al.*,2000).

A eliminação do propranolol parece seguir a cinética de primeira ordem e ser independente das concentrações plasmáticas ou da dose administrada. A meia-vida de eliminação registrada varia consideravelmente em diferentes estudos (McEvoy, 1999).

O fármaco não é removível por hemodiálise (Reynolds, 1996; Korolkovas *et al.*, 2000; USP DI, 2000).

### **3.1.3.8 Efeitos adversos**

As principais reações adversas são: sonolência (em doses altas), dificuldades de dormir, cansaço, fraqueza, distúrbios gastro-intestinais, ansiedade ou irritabilidade, bradicardia, tontura, broncoespasmo, insuficiência cardíaca congestiva, depressão mental, redução da circulação periférica. Com incidência rara, podem ocorrer reações alérgicas, arritmias, dor torácica, leucopenia, confusão, hepatotoxicidade, alucinações, hipotensão ortostática, erupção psoriforme e trombocitopenia (Reynolds, 1996; USP DI, 2000).

Há risco aumentado de efeitos adversos no sistema nervoso central, por causa da alta penetração no sistema nervoso central. É preciso reduzir a dosagem na insuficiência hepática, mas não é necessário na insuficiência renal (USP DI, 2000).

### **3.1.3.9 Doseamento do Propranolol**

Diferentes metodologias têm sido propostas para a determinação do fármaco. O método descrito nas farmacopéias britânica e europeia é a titulação potenciométrica em meio não aquoso utilizando hidróxido de sódio como titulante para o doseamento do fármaco em meio alcoólico (BP, 2000; EP 1997).

A farmacopéia brasileira apresenta também o método de titulação potenciométrica em meio não aquoso. Porém, traz como titulante o ácido perclórico em solução acética. É preciso adicionar acetato de mercúrio para impedir a interferência do grupamento cloridrato no doseamento do propranolol. Há assim a formação de cloreto de mercúrio, que é relativamente não ionizável. A mesma metodologia é sugerida por Korolkovas (FB, 1977; Korolkovas, 1988).



Não há metodologia farmacopéica descrita para o doseamento de cápsulas de propranolol.

Para os comprimidos, a farmacopéia britânica apresenta o método da espectrometria de absorção no ultravioleta no comprimento de onda de 290 nm (BP, 2000).

A farmacopéia americana adota como metodologia oficial a cromatografia líquida de alta eficiência tanto para o fármaco quanto para os comprimidos de propranolol (USP, 2000).

Dentre os métodos encontrados na literatura, desenvolveu-se um método espectrofotométrico e espectrometria de absorção atômica, para determinação de propranolol, baseada na interação do fármaco com CS<sub>2</sub> seguida pela complexação com íons Cu(II). O método demonstrou boa exatidão, sem sofrer interferência de excipientes (El Ries *et al.*, 2000).

Alguns autores encontraram dificuldades na determinação de propranolol. A detecção de propranolol por CLAE não foi possível utilizando coluna C-18 e fase móvel constituída de metanol e solução de ácido acético 1% (4:1), com detector a 258nm, devido a pobre detecção do propranolol pelo detector ultravioleta. O autor sugere o uso de LC-MS para quantificação do fármaco, baseando-se no monitoramento da massa da molécula ou fragmento iônico preferencialmente ao monitoramento das propriedades de absorção no ultravioleta (Abdel Hamid, 2000).

Muitos dos aspectos da análise por CLAE com detector ultravioleta que são considerados como aceitáveis, não são apropriados à CLAE com detecção por espectrometria de massas ou então precisam ser de alguma forma modificados. Há ainda a interferência dos isótopos da molécula. Numa revisão dos fatores a serem considerados no desenvolvimento de métodos CLAE com detecção por espectrometria de massas, considera-se que o espectro de ionização *electrospray* de compostos orgânicos contém diferentes íons ao redor da região da massa molecular. O espectro do propranolol, além de mostrar o íon esperado de massa

260, mostra também íons adicionais devido à presença de isótopos na molécula, mostrando espécies com massa moleculares 261, 262 e 263, representando 18,6; 2 e 0,16% da intensidade do íon monoisotópico (Law e Temesi, 2000).

Aplicou-se a cromatografia líquida de alta eficiência e força de troca catiônica na análise de propranolol, mostrando utilidade na análise de compostos com diferentes propriedades físico-químicas, na qual a separação não seria possível com o uso de técnica CLAE isocrática de fase reversa simples. A técnica mostrou-se útil nas determinações em material biológico, especialmente plasma (Law e Appleby, 1998).

Outras técnicas foram consideradas no item 3.1.1.9 para doseamento de atenolol e propranolol.

### **3.2 Manipulação de cápsulas e aspectos relacionados ao Controle de qualidade em farmácias de manipulação**

A farmacopéia brasileira define o medicamento magistral como o medicamento preparado na farmácia, cuja prescrição estabelece a composição, a forma farmacêutica e a posologia (Farmacopéia Brasileira, 1988 (FB, 1998).

A legislação que regulamenta o funcionamento das farmácias de manipulação no Brasil é a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 33 de 19 de abril de 2000. Esta resolução apresenta diretrizes para a manipulação segundo boas práticas de manipulação e controle de qualidade de matérias primas e produtos acabados.

O controle de qualidade é definido pela RDC 33/2000 como o conjunto de operações (programação, coordenação e execução) com o objetivo de verificar a conformidade das preparações com as especificações estabelecidas.

A garantia da qualidade é descrita como o esforço organizado e documentado dentro de uma empresa no sentido de assegurar as características do produto, de modo que cada unidade do mesmo esteja de acordo com as suas especificações.

As boas práticas de manipulação estabelecem requisitos gerais para a aquisição de drogas, insumos farmacêuticos e materiais de embalagem, o armazenamento, a manipulação, a conservação, o transporte, dispensação de preparações magistrais e oficinais e fracionamento de produtos industrializados (Brasil, 2000).

### **3.2.1 Manipulação de Cápsulas**

As cápsulas são preparações de consistência sólida, constituídas por um invólucro duro ou mole, de forma e capacidades variáveis, que contém uma quantidade de medicamento que em geral, constitui uma unidade posológica. Quando um médico prescreve comprimidos, a escolha fica limitada aos produtos comerciais disponíveis. Cápsulas, entretanto, podem ser preparadas extemporaneamente com uma ampla faixa de dosagem. As cápsulas são formas farmacêuticas muito versáteis, pois podem ser preparadas extemporaneamente, permitindo ao farmacêutico realizar composições e individualizar a dose de acordo com as necessidades e requerimentos clínicos (Le Hir, 1995; Allen, 2000).

Dentre as vantagens da manipulação de cápsulas inclui-se a proteção do fármaco contra agentes externos como pó, ar e luz; elevada resistência física e mascaramento de características organolépticas desagradáveis dos fármacos. Por requererem um número de adjuvantes reduzido, o controle de incompatibilidades é

facilitado. Proporcionam estabilidade ao fármaco, devido ao baixo número de componentes e à ausência de água nas etapas de sua elaboração, permitindo a incorporação de substâncias incompatíveis.

Apresentam boas características de biodisponibilidade, visto que a cobertura se dissolve rapidamente no estômago (em torno de 10-20 minutos), liberando o material de enchimento. Em geral, a biodisponibilidade de fármacos em cápsulas é maior do que em comprimidos.

Há a necessidade de garantir condições ideais de temperatura e umidade na conservação das cápsulas devido à sua sensibilidade a estes fatores.

As cápsulas podem ser duras ou moles. As moles são formadas por uma única peça, esférica ou ovóide, e geralmente contém substâncias de natureza oleosa ou dispersões líquidas. Sua elaboração não é viável em farmácias de manipulação, e a produção é em escala industrial. Na farmácia de manipulação, é mais freqüente o emprego de cápsulas de gelatina duras, constituídas por dois elementos independentes (Le Hir, 1995; Vila-Jato, 1997).

As cápsulas gelatinosas duras consistem de duas partes: a base ou corpo, mais comprida e com menor diâmetro, a qual atua como receptáculo para o medicamento; e a tampa, mais curta e com diâmetro ligeiramente maior. A tampa desliza sobre parte do corpo, fechando-o hermeticamente. A produção das cápsulas duras é feita em escala industrial. A farmácia de manipulação adquire as cápsulas vazias, e encapsula as substâncias ativas mediante prescrição médica (Allen, 2000; Trillo, 1993).

O processo de produção inicia-se pela pesagem do fármaco e ajuste da densidade aparente a fim de que o volume contido em uma cápsula corresponda exatamente ao peso da substância ativa considerada. Esta equivalência pode ser conseguida pela adição e mistura de um excipiente inerte. É importante que a mistura dos fármacos com os excipientes seja homogênea, para garantir a uniformidade de dosagem.

Para a encapsulação da mistura utilizam-se equipamentos manuais (encapsuladores). Em geral são constituídos por uma placa perfurada, na qual se colocam os corpos dos invólucros. As bordas destes coincidem exatamente com o nível superior da placa. O enchimento é feito por nivelamento. Quando se conclui a etapa de nivelamento, diferentes sistemas que variam de um aparato a outro, permitem que se elevem ligeiramente os corpos já cheios, procedendo-se ao encaixe das tampas. Após o enchimento partículas de pó podem se aderir às paredes externas das cápsulas, fazendo-se necessárias operações complementares de limpeza. O acondicionamento das cápsulas deve ser protegido de altas temperaturas e de umidade excessiva (Le Hir, 1995).

### **3.2.2 Controle de qualidade de cápsulas**

As cápsulas devem atender às exigências de variação de peso e teor de princípios ativos descritos nas monografias (FB, 1988). Devem cumprir com os requerimentos exigidos pelas farmacopéias, as quais incluem monografias para os produtos formulados em cápsulas que estabelecem limites mínimos de aceitabilidade nos ensaios requeridos para garantir a qualidade das mesmas. As cápsulas devem conter uma quantidade determinada e uniforme de substâncias ativas, estáveis e biodisponíveis nesta forma. Entre os ensaios a que devem submeter-se as cápsulas preparadas destacam-se a determinação de peso médio, uniformidade de dose e tempo de dissolução.

Testes de desintegração usualmente não são requeridos para cápsulas a menos que estas tenham sido tratadas para resistir à dissolução no suco gástrico, e serem dissolvidas no suco entérico (Gennaro, 1995).

A uniformidade das formas de dosagem pode ser demonstrada por dois métodos: variação de peso ou uniformidade de conteúdo (Gennaro, 1995, FB 1996).

O método de variação de peso pode ser aplicado somente no caso de cápsulas com teor de substância ativa igual ou superior a 50,0 mg por unidade, ou quando este compreender mais do que 50% em peso da dose unitária. Por este método, o conteúdo do componente ativo nas cápsulas é calculado a partir do resultado do doseamento de 10 cápsulas e do peso líquido das mesmas considerando distribuição homogênea do fármaco.

A Uniformidade de Conteúdo é aplicável em qualquer tipo de cápsula. É exigida no caso de cápsulas cujo teor de substâncias ativas é inferior a 50,0 mg por unidade ou quando este compreende menos de 50% do peso da unidade. O método pode ser aplicado sem restrições.

Através do teste de Uniformidade de Conteúdo são analisadas 10 cápsulas individualmente, conforme indicado na monografia para o doseamento ou conforme as especificações farmacopéicas do método (FB, 1996; USP, 2000).

### **3.2.3 Validação de metodologias**

A validação de um método analítico é o processo pelo qual, por estudos de laboratório, se estabelece que o seu desempenho característico vai ao encontro dos requerimentos das aplicações analíticas intencionadas. O desempenho característico é expresso em termos de parâmetros analíticos (USP, 2000).

É um programa documentado através do qual se estabelece que um método analítico possui todos os requisitos para o seu uso proposto. É, ainda, parte integrante do desenvolvimento de um método analítico, visto que sem fidelidade nos resultados é impossível garantir que um medicamento cumpra com as especificações exigidas e que sua qualidade seja adequada (Trillo, 1993).

A validação dos métodos analíticos utilizados procurará atingir os padrões sugeridos pela Conferência Internacional de Harmonização (ICH) bem como os delineados na Farmacopéia Americana (ICH-Q2A, 1995; USP, 2000). A definição bem como a metodologia de determinação destes parâmetros é resumida a seguir:

*Exatidão:* A exatidão de um procedimento analítico expressa a proximidade ou concordância entre o valor que é aceito (um valor verdadeiro ou um valor de referência aceitável) e o valor encontrado. É determinada pela aplicação do método a amostras nas quais foram adicionadas quantidades de analito tanto acima quanto abaixo dos níveis esperados nas amostras. A exatidão é calculada a partir dos resultados dos testes como a percentagem de analito recuperada pelo método.

*Precisão:* Expressa a proximidade de concordância entre uma série de medidas obtidas de múltiplas alíquotas de uma mesma amostra homogênea sob as condições prescritas. A precisão pode ser considerada em três níveis: repetibilidade (precisão sob as mesmas condições operacionais dentro de um curto intervalo de tempo), precisão intermediária (variações do laboratório: diferentes dias de análise, diferentes equipamentos,...) e reprodutibilidade (precisão entre diferentes laboratórios). É determinada pela análise de um diferente número de alíquotas de uma amostra homogênea, suficiente para calcular estatisticamente uma estimativa válida do desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação).

*Especificidade:* É a capacidade de medir inequivocadamente o analito na presença de outros componentes que podem estar presentes, incluindo impurezas e produtos de degradação. É determinada pela comparação dos resultados de testes de análises de amostras contendo impurezas, produtos de degradação, ou placebo com aqueles resultados obtidos das análises sem estes interferentes. O método considera a diferença de resultados entre os dois grupos de amostras.

*Linearidade:* É a habilidade de obter resultados que são diretamente proporcionais à concentração de analito na amostra, dentro de uma dada média. É determinada pelo tratamento matemático de resultados de testes obtidos pela análise de amostras com concentrações do analito através da média determinada.

*Faixa:* É o intervalo entre a maior e a menor concentração (quantidade) de analito em uma amostra para a qual tenha sido demonstrada que o procedimento analítico tem aceitável nível de precisão, exatidão e linearidade. A faixa do método é validada pela verificação de que o método analítico provê aceitável precisão, exatidão e linearidade quando aplicados a amostras contendo analito nos extremos da faixa da mesma forma como no meio desta (ICH Q2A, 1995; USP, 2000).



## **4. Metodologias Gerais**

### **4.1 Análises preliminares de Qualificação de padrão Secundário e Controle de Qualidade da matéria-prima**

Com o objetivo de caracterizar preliminarmente as substâncias utilizadas como referência no presente trabalho, estas foram submetidas à análise das características organolépticas, solubilidade, pH, ponto de fusão e espectrometria no infravermelho. Os resultados obtidos foram comparados às especificações farmacopéicas, ao padrão de espectro de infravermelho obtido na literatura e ao laudo de análise fornecido pelo fabricante.

Adicionalmente utilizou-se como referência para validação da substância química de referência (SQR) a comparação dos resultados obtidos no doseamento utilizando diferentes metodologias analíticas, como titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e cromatografia líquida de alta eficiência, comparando-se também os resultados com o laudo de análise emitido pelo fabricante.

Os fármacos utilizados para a manipulação das cápsulas foram submetidos à análises preliminares de controle de qualidade, comparando-se os resultados obtidos com as especificações farmacopéicas bem como os resultados obtidos na análise da substância química de referência.

Os fármacos foram analisados efetuando-se os testes requeridos na legislação brasileira para farmácias de manipulação. Dentre os testes requeridos na RDC 33, os aplicáveis às matérias-primas sólidas destinadas à encapsulação são: caracteres organolépticos, solubilidade, pH, ponto de fusão, densidade, avaliação do laudo de análise do fabricante (Brasil, 2000).

Além dos testes exigidos pela RDC 33, foi realizada a análise da identidade por espectrometria no infra-vermelho, e do teor por titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no ultra-violeta e cromatografia líquida de alta eficiência.

Na ausência de monografia oficial de matéria-prima, formas farmacêuticas e metodologias gerais inscritos na Farmacopéia Brasileira, a legislação brasileira permite adoção de monografia oficial, de outros compêndios internacionais, de acordo com a portaria nº 116 de 22 de novembro de 1995 (Brasil, 1995).

#### **4.1.1 Avaliação dos Caracteres Organolépticos**

Esta análise é abordada na Farmacopéia Brasileira sob o item “descrição de substância” no capítulo das Generalidades. Constitui em verificar se as características da substância correspondem às descritas na monografia e laudo do fabricante.

Para realização deste ensaio, cerca de 0,1 g da amostra foi pesada e espalhada com o auxílio de uma espátula sobre um papel de filtro. Foi então observada: a cor do material, a cristalinidade, a existência de pontos com coloração ou aspectos diferentes do restante da amostra.

#### **4.1.2 Análise da solubilidade**

A análise da solubilidade foi realizada de acordo com os procedimentos descritos na Farmacopéia Brasileira. Pesou-se 1 g da amostra e foi-se adicionando as quantidades de solvente equivalentes ao termo descritivo apresentado na tabela seguinte (FB, 1988).

**Tabela 1: Partes de solvente por uma parte de soluto equivalentes á solubilidade de fármacos a 25°C**

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

#### **4.1.3 Determinação de pH**

O teste foi realizado de acordo com os procedimentos descritos na Farmacopéia Brasileira, após aferição do medidor de pH e diluição das amostras em

água destilada isenta de dióxido de carbono. Os resultados foram comparados com as especificações farmacopéicas e com o laudo do fornecedor. Na ausência desta informação, os resultados foram comparados entre a substância química de referência e a matéria-prima em análise (FB, 1988).

Os testes foram realizados em pHmetro marca *Hanna instruments* modelo HI 8424.

#### **4.1.4 Determinação da faixa de fusão**

A faixa de fusão foi determinada pelo método do bloco metálico aquecido descrito na Farmacopéia Brasileira em aparelho MICROQUÍMICA IND. Modelo MQAPF-301. A amostra previamente pulverizada e seca foi colocada sobre o bloco metálico de aquecimento entre lamínulas de vidro e a fusão foi observada com o auxílio de uma lupa (FB, 1988).

Paralelamente, foram realizados ensaios com o equipamento GEHAKA PF1000, que constitui um bloco metálico aquecido, mas que utiliza capilares ao invés de lamínulas de vidro. É um equipamento financeiramente mais acessível e que vem sendo adquirido por diversas farmácias de manipulação.

Os resultados obtidos em ambos equipamentos foram comparados às especificações farmacopéicas.

#### **4.1.5 Análise da densidade**

A densidade foi determinada na matéria-prima, medindo-se em proveta o volume ocupado por 10g da amostra, sem compactação. A média de três determinações foi adotada como a densidade do lote específico da matéria-prima, e o valor encontrado foi utilizado para realizar os cálculos relacionados à escolha do tamanho da cápsula e quantidade de excipiente a ser adicionada no processo de encapsulação.

#### **4.1.6 Perda por secagem**

O teste foi realizado de acordo com os procedimentos descritos na Farmacopéia Brasileira no item “Determinação de perda por dessecação” (FB, 1988).

#### **4.1.7 Avaliação do Laudo de análise do fabricante**

Verificou-se a autenticidade das informações contidas no laudo de análise do fabricante, comparando o resultado das análises realizadas. O teor foi um item considerado à parte, visto que este apresentou resultados diferentes de acordo com cada metodologia empregada.

#### **4.1.8 Identificação de substâncias por espectrometria no infra-vermelho**

Para a identificação dos fármacos, determinou-se o espectro na região do infra-vermelho de acordo com o procedimento descrito na Farmacopéia Brasileira (FB, 1988). Preparou-se as amostras na forma de pastilhas de KBr, submetendo-as à análise em um espectrofotômetro na região do infravermelho BOMEN HARTMANN & BRAUN modelo MB-100.

O espectro obtido com o padrão foi comparado ao da literatura e o obtido com a matéria-prima foi comparado com ambos.

#### **4.1.9 Doseamento do fármaco**

Este trabalho aborda três tipos de análises utilizadas para a determinação quantitativa de fármacos: análise titrimétrica (titulação potenciométrica), espectrometria ultra-violeta e cromatografia líquida de alta eficiência. As metodologias serão apresentadas na parte experimental específica para cada fármaco.

#### **4.2 Manipulação das formulações**

Foram manipuladas cápsulas de atenolol 100mg, propranolol 80mg e enalapril 20mg pela técnica de preenchimento manual e nivelamento, a qual corresponde à principal técnica utilizada nas farmácias de manipulação.

O processo de manipulação consiste em: pesagem, cálculo do tamanho de cápsula, escolha e adição de excipientes, homogeneização, tamisação e encapsulação.

A manipulação inicia-se na pesagem da quantidade de fármaco suficiente para o número total de cápsulas que serão manipuladas. Foi utilizado o método volumétrico de enchimento de cápsulas. Este é mais preciso do que os métodos baseados na capacidade das cápsulas em termos de peso. O parâmetro peso varia muito conforme a densidade do pó a ser encapsulado enquanto que as cápsulas têm capacidade constante em termos de volume (Ferreira, 2000).

A escolha do tamanho da cápsula é feita determinando-se o volume ocupado por cada dose, a partir da determinação da densidade do pó, e o tamanho de cápsula necessário para acondicionar tal volume. A quantidade de excipiente a ser utilizada, também é determinada a partir do parâmetro da densidade.

A mistura do fármaco com excipientes é feita empregando a técnica da diluição geométrica, buscando garantir a uniformidade de fármacos na mistura (Allen, 2000).

Os excipientes utilizados na manipulação das cápsulas de atenolol e propranolol são os sugeridos por Ferreira (2000) como excipiente padrão para cápsulas. Para a manipulação do maleato de enalapril, foi utilizado o excipiente alcalinizante proposto pelo mesmo autor em edição revisada (Ferreira, 2001).

A encapsulação é o processo onde as matérias-primas pesadas e homogeneizadas são acondicionadas em cápsulas adequadas. Antes da

encapsulação propriamente dita, a mistura é ainda tamisada, passando por um tamis (60 a 100 mesh), para garantir a homogeneidade do tamanho de partículas (Ferreira, 2000).

### **4.3 Avaliação da Qualidade das Cápsulas manipuladas**

As análises exigidas pela RDC 33 aplicáveis às cápsulas correspondem ao peso médio, desintegração e teor do princípio ativo (Brasil, 2000).

Os métodos físicos e físico-químicos aplicáveis ao controle de qualidade de cápsulas que foram analisados no presente trabalho constituem-se:

- Determinação de peso médio
  
- Uniformidade de doses unitárias: uniformidade de conteúdo (abrange a determinação do teor de princípio ativo)
  
- Determinação de tempo de dissolução
  
- Avaliação da interação do fármaco com excipientes pela técnica de difração de raios-X

#### **4.3.1 Determinação de peso médio**



A metodologia adotada é a preconizada pela Farmacopéia Brasileira. Pesou-se individualmente 20 cápsulas e determinou-se o peso médio. A variação tolerada foi de 10%, visto que este é o limite de aceitação para cápsulas de até 300mg (FB, 1988).

#### **4.3.2 Avaliação da uniformidade de doses unitárias: Uniformidade de conteúdo**

Determinou-se o teor de 10 cápsulas individualmente, conforme especificado na metodologia de uniformidade de doses unitárias descrita pela Farmacopéias Brasileira e Americana (FB, 1996; USP, 2000).

A uniformidade de conteúdo será analisada por diferentes metodologias analíticas quantitativas: titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no ultravioleta e cromatografia líquida de alta eficiência. As especificações das metodologias são abordadas na parte experimental específica de cada fármaco.

#### **4.3.3 Determinação do tempo de dissolução**

A metodologia de determinação do tempo de dissolução das cápsulas realizou-se com base na aparelhagem, procedimentos e critérios de aceitação descritos na Farmacopéia Brasileira. Foi utilizado dissolutor NOVA ÉTICA, modelo

299/6. O meio e o tempo de dissolução seguem ao especificado na monografia de cada fármaco para comprimidos, visto não haver monografia específica para cápsulas de nenhum dos fármacos estudados. As leituras das absorvâncias das soluções foram feitas em espectrofotômetro SHIMADZU, modelo UV-1601PC.

#### **4.3.4 Análise da interação dos fármacos com excipientes pela técnica de Difração de raio-X**

Os padrões de difração de Raios-X de pó foram determinados em um equipamento PHILIPS, modelo X Pert, nas seguintes condições: filtro de níquel, tubo com ânodo de cobre, voltagem de 4000V, corrente de 40mA.

A leitura é essencialmente uma plotagem da intensidade em função de  $2\theta$ . (Jenkins e De Vries, 1995).

A técnica de difração de raios-X foi utilizada para determinar possíveis modificações no comportamento cristalino dos fármacos atenolol, enalapril e propranolol, presente nas cápsulas produzidas, em comparação ao apresentado pelos fármacos quando analisados individualmente. Interações com os excipientes utilizados podem ser responsáveis por tais alterações.

Foi realizada a análise qualitativa em função do espaçamento entre os máximos difratados (picos), analisando a sua posição no difratograma obtido da substância isolada e do conteúdo das cápsulas, contendo a mistura física de todas as substâncias.

#### **4.4 Metodologia de Validação das técnicas utilizadas**

Tanto a Farmacopéia Americana quanto a Conferência de Harmonização Internacional (ICH) reconhecem que não há necessidade de avaliar todos os parâmetros de performance analítica existentes (USP, 2000; ICH Q2A, 1995).

Os parâmetros selecionados e a respectiva forma de avaliação é abordada nas rotas de validação para os métodos de doseamento utilizados.

##### **4.4.1 Rota de Validação da metodologia de titulação potenciométrica para doseamento de fármaco e cápsulas**

A primeira etapa constitui-se na qualificação do padrão secundário, feita doseando-se a substância química de referência e avaliando-se a precisão. A precisão foi determinada através do parâmetro repetibilidade.

A repetibilidade foi avaliada através do desvio padrão e coeficiente de variação percentual obtido na determinação do fármaco em 6 amostras sob a mesma concentração, no mesmo dia e sob as mesmas características experimentais.

A especificidade e a exatidão do método pode ser também demonstrada pela comparação dos resultados com o teor declarado pelo fornecedor.

A segunda etapa é o doseamento da matéria-prima utilizando parâmetros que validam o método utilizado. A precisão foi determinada através do parâmetro repetibilidade.

A repetibilidade foi avaliada através do desvio padrão e coeficiente de variação percentual obtido na determinação do fármaco em 6 amostras sob a mesma concentração, no mesmo dia e sob as mesmas características experimentais.

A especificidade e a exatidão foram demonstradas pela comparação dos resultados com o teor declarado pelo fornecedor e com os obtidos no presente trabalho com a espectrometria UV e CLAE. O percentual de concordância foi calculado pela razão determinada entre o teor determinado por titulação potenciométrica e o teor declarado pelo fabricante ou os teores determinados pelas outras metodologias.

A terceira etapa contempla o doseamento dos fármacos nas cápsulas utilizando parâmetros de validação do método.

O primeiro parâmetro analisado foi a precisão, avaliada através da repetibilidade. Esta foi analisada através do desvio padrão e coeficiente de variação percentual obtido na determinação do fármaco em 10 amostras de igual concentração teórica, no mesmo dia e sob as mesmas características experimentais. A ICH recomenda o mínimo de 6 determinações. Porém foram realizadas 10 determinações para satisfazer o teste farmacopéico de uniformidade de conteúdo.

A exatidão bem como a especificidade foram avaliadas através da comparação com os resultados obtidos para o doseamento das cápsulas pelas metodologias de espectrometria de absorção no UV e CLAE. Fez-se a comparação dos resultados através da determinação do percentual de concordância entre os valores determinados por cada método. O percentual de concordância foi obtido pela razão calculada entre o teor determinado por titulação potenciométrica e o teor

determinado pelas outras metodologias (ICH Q2A, 1995; FB, 1996; Brittain, 1998; USP, 2000).

#### **4.4.2 Rota de Validação de metodologias de espectrometria de absorção no UV e CLAE para doseamento de fármaco e cápsulas**

Após determinar a concentração teste e as demais especificações da metodologia, a próxima etapa é a construção de uma curva de calibração com a substância química de referência, com no mínimo 5 pontos, determinados em triplicata, variando de 70 a 130 % da concentração teste. Avalia-se a linearidade através dos cálculos de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Os dados matemáticos obtidos da regressão linear estimam o grau de linearidade. Os cálculos efetuados são o coeficiente de correlação, a equação da reta com a respectiva inclinação e intersecção do eixo y. A faixa também é um parâmetro que é determinado a partir do estudo da linearidade.

A segunda etapa contempla o doseamento da matéria-prima utilizando parâmetros que validam o método utilizado. A precisão foi avaliada através da repetibilidade, determinando-se o teor da matéria-prima a partir da equação da reta obtida com a substância química de referência, em 6 determinações na concentração teste.

Foi construída a curva de calibração com a matéria-prima com cada ponto em triplicata, e repetida em três dias diferentes, analisando-se assim a precisão intermediária do método. Foram analisadas a linearidade e a faixa com as mesmas especificações utilizadas no doseamento do padrão. A equação da reta obtida para a matéria-prima, será utilizada para a determinação do teor das cápsulas.

A exatidão do método para o doseamento da matéria-prima foi analisada através do percentual de recuperação obtido a partir de uma quantidade conhecida de substância química de referência adicionada à amostra de matéria-prima, utilizando-se três concentrações diferentes, com três determinações para cada uma (ICH Q2A, 1995).

A terceira etapa constitui-se no doseamento dos fármacos nas cápsulas utilizando parâmetros de validação do método. O primeiro parâmetro analisado foi a precisão, avaliada através da repetibilidade. Esta foi analisada através do desvio padrão e coeficiente de variação percentual obtido na determinação do fármaco em 10 amostras de igual concentração teórica, no mesmo dia e sob as mesmas características experimentais, calculadas a partir da equação da reta obtida da média de determinações realizadas em três dias diferentes, em triplicata a cada dia, com a mesma matéria-prima utilizada para a manipulação das cápsulas. A ICH recomenda o mínimo de 6 determinações. Porém foram realizadas 10 determinações para satisfazer o teste farmacopéico de uniformidade de conteúdo.

A exatidão foi analisada através do percentual de recuperação obtido a partir de uma quantidade conhecida de substância química de referência adicionada à amostra de cápsulas, utilizando-se três concentrações diferentes, com três determinações para cada uma, conforme recomendado pela ICH. A exatidão e a especificidade podem ainda ser analisadas através da concordância dos resultados obtidos para o doseamento das cápsulas pelas outras metodologias desenvolvidas. Assim, determinou-se o percentual de concordância entre os teores determinados por cada metodologia, através da razão dos resultados obtidos por cada metodologia (ICH Q2A, 1995; FB, 1996; Brittain, 1998; USP, 2000).

## **5. Parte experimental específica do atenolol: metodologias específicas, resultados e discussão**

### **5.1 Metodologias para o atenolol**

#### **5.1.1. Metodologias de controle de qualidade de atenolol matéria-prima e qualificação de padrão secundário**

A substância química de referência utilizada no presente trabalho foi adquirida do fornecedor Galena®, pertencente ao lote ATN/M/89/00-01 e teor declarado igual a 99,4%. Esta substância foi submetida aos testes de qualificação, conforme descrito em 4.1.

A matéria prima utilizada para a manipulação das cápsulas foi adquirida do fornecedor Galena®, pertencente ao lote ATN/M/85/00-01 e teor declarado igual a 99,3%. A matéria prima foi previamente analisada conforme descrito no item 4.1.

##### **5.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de atenolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.1.

#### **5.1.1.2 Análise da solubilidade de atenolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.2.

#### **5.1.1.3 Determinação de pH de atenolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.3.

#### **5.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de atenolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.4.

#### **5.1.1.5 Análise da densidade de atenolol**



As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.5.

#### **5.1.1.6 Determinação de umidade de atenolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.6.

#### **5.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de atenolol fornecido pelo fabricante**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.7.

#### **5.1.1.8 Identificação de atenolol por espectrometria no Infra-vermelho**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.8

### **5.1.1.9 Doseamento de atenolol matéria-prima e substância química de referência.**

A determinação do teor da matéria-prima e da substância química de referência foi feita utilizando parâmetros que validam os métodos de análise empregados.

As metodologias utilizadas foram titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

#### **5.1.1.9.1 Doseamento de Atenolol por Titulação Potenciométrica**

A titulação potenciométrica em meio não aquoso é a técnica preconizada pela Farmacopéia Européia e pela Farmacopéia Britânica para o fármaco atenolol (EP 1997; BP, 2000).

Dissolvem-se 200mg de atenolol em 80mL de ácido acético anidro R. Titula-se com ácido perclórico 0,1M. O ponto de equivalência é determinado por potenciometria. Cada mL de ácido perclórico utilizado corresponde a 26,63 mg de atenolol (EP 1997; BP, 2000).

A técnica foi reproduzida e validada para o doseamento da matéria-prima bem como da substância química de referência.

#### 5.1.1.9.2 Doseamento de Atenolol por Espectrometria de absorção no UV

A espectrometria de absorção no UV a 275nm é a técnica preconizada na Farmacopéia Britânica 2000 para doseamento de comprimidos de atenolol (BP, 2000).

Validou-se um método de doseamento por espectrometria a 275nm para o fármaco atenolol, utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo lambda 10 UV/VIS.

A partir de uma solução estoque a 200µg/mL da substância química de referência em metanol, foram feitas diluições para a construção de uma curva de calibração, com 7 pontos variando a concentração de 40 a 175µg/mL. A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata. A equação da reta foi determinada a partir da média das três leituras.

Esta curva de calibração feita com a substância química de referência foi usada para determinar o teor da matéria-prima.

As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise, e comparada com a curva de calibração da substância química de referência.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. A partir de uma solução estoque da matéria-prima em análise com 100µg/mL, foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração final 50µg/mL. De uma solução contendo 200µg/mL de substância química de referência (SQR) foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 50µg/mL de matéria-prima, a fim de

obter concentrações finais 70, 100 e 150µg/mL, dos quais 20, 50 e 100µg/mL, respectivamente, são equivalentes à SQR adicionada e 50µg/mL é referente à matéria-prima em análise.

#### **5.1.1.9.3 Doseamento de Atenolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.**

A farmacopéia Americana apresenta uma metodologia por CLAE para doseamento tanto do fármaco quanto de comprimidos de atenolol (USP, 2000).

Validou-se a metodologia de doseamento para o fármaco utilizando sistema CLAE SHIMADZU, constituído de bomba LC-10AD VP e detector UV-Vis SPD-10AV VP, gerenciado pelo controlador SCL-10AVP, acoplado a um computador Mega Corp, e operado pelo programa Class-VP. A fase estacionária utilizada foi uma coluna Lichrospher® RP-18 (5µm) de 125 x 4mm. A fase móvel utilizada foi metanol/acetonitrila/tampão fosfato (15:15:70) com pH 3, fluxo isocrático de 1mL/min. A detecção foi em UV a 225nm.

Construiu-se uma curva de calibração com a substância química de referência, dissolvendo inicialmente 1mg/mL do fármaco na fase móvel. Esta solução foi diluída 1:10 a fim de obter 100µg/mL na fase móvel. Para preparar a curva, diferentes quantidades desta solução são diluídas na fase móvel, para obter as concentrações de 2,5 a 25µg/mL de atenolol. Esta curva de calibração feita com a SQR foi utilizada para determinar o teor da matéria-prima.

As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise. A curva foi feita em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Foram feitas soluções-estoque a 100µg/mL com a matéria-prima e com a SQR. Da solução contendo a matéria-prima, foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração final 5µg/mL. Da solução contendo SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 5µg/mL de matéria-prima, a fim de obter concentrações finais 10, 15 e 20 µg/mL, dos quais 5, 10 e 15µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 5µg/mL é referente à matéria-prima em análise.

### 5.1.2 Manipulação de cápsulas de Atenolol

Foram manipuladas 360 cápsulas com 100 mg de atenolol. O método de encapsulação utilizado foi o de preenchimento manual e nivelamento descrito nas metodologias gerais no item 4.2.

Os excipientes utilizados na manipulação das cápsulas de atenolol são os sugeridos por Ferreira, 2000 como excipiente padrão para cápsulas, conforme tabela abaixo.

**Tabela 2: Formulação cápsulas de atenolol**

| <b>Substância</b>       | <b>Concentração</b> |
|-------------------------|---------------------|
| Atenolol                | 100mg               |
| Estearato de Magnésio   | 0,5%                |
| Aerosil                 | 1,0%                |
| Lauril Sulfato de Sódio | 1,0%                |
| Talco Farmacêutico      | 30%                 |
| Amido de milho          | qsp 1 cápsula       |

Todos os ensaios de controle de qualidade de cápsulas de atenolol foram realizados com este mesmo lote de cápsulas.

### **5.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de atenolol**

#### **5.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de atenolol**

A metodologia utilizada é a sugerida na Farmacopéia Brasileira, a qual esta descrita no item 4.3.1 das metodologias gerais.

#### **5.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de atenolol**

Determinou-se a uniformidade de dose das cápsulas de atenolol conforme descrito nas metodologias gerais item 4.3.2, doseando-se o conteúdo de dez cápsulas individualmente.

Não existe metodologia farmacopéica para doseamento de cápsulas de atenolol. As metodologias utilizadas no doseamento da matéria-prima foram adaptadas e validadas para o a determinação do teor das cápsulas, as quais são: titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

##### **5.1.3.2.1 Doseamento de cápsulas de atenolol por Titulação Potenciométrica**

A técnica das farmacopéias europeia e britânica descrita no item 5.1.1.9.1 sugerida para doseamento do fármaco foi adaptada e validada para o doseamento das cápsulas manipuladas (EP, 1997; BP, 2000).

A farmacopéia brasileira recomenda no caso de titulação, utilizar titulante mais diluído na determinação de uniformidade de conteúdo. A metodologia adaptada e validada constitui-se na diluição do conteúdo de uma cápsula (100 mg teóricos) em 40 mL de ácido acético anidro R. A titulação é feita com ácido perclórico 0,05 M. Cada mL gasto equivale a 13,315 mg de atenolol (FB, 1996).

#### **5.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de atenolol por Espectrometria de absorção no UV**

A espectrometria de absorção no UV a 275 nm é a técnica preconizada na Farmacopéia Britânica para doseamento de comprimidos de atenolol (BP, 2000).

A fim de validar uma metodologia de análise para cápsulas, construiu-se uma curva de calibração com a matéria-prima, a partir de uma solução estoque contendo 200 µg/mL do fármaco dissolvido em metanol, com 8 pontos variando a concentração de 40 a 200 µg/mL. A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata, e foram realizadas três curvas, em dias diferentes, sob as mesmas condições experimentais. A equação da reta foi determinada a partir da média das leituras determinadas nos três dias.

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco descrita em 5.1.1.9.2 foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas. Assim, cada cápsula foi diluída em 100 mL de metanol, obtendo uma solução estoque com concentração teórica igual a 1000 µg/mL. Esta solução foi diluída a fim de obter solução com

concentração teórica final igual a 100 µg/mL. Estas diluições foram preparadas em triplicata, e medidas as absorvâncias a 275 nm. Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Cada cápsula foi diluída em 100 mL de metanol, formando uma solução com concentração teórica de 1000 µg/mL. Diluiu-se esta solução em uma para dez partes de metanol, obtendo assim uma solução com concentração teórica 100 µg/mL. Fizeram-se diluições em metanol a fim de atingir concentração final 50 µg/mL em 4 amostras. A primeira foi diluída com metanol. Às demais foram adicionadas alíquotas de uma solução 200 µg/mL de SQR, a fim de obter concentrações finais 70, 100 e 150 µg/mL, dos quais 20, 50 e 100 µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 50µg/mL teóricos são referentes à cápsula em análise.

#### **5.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de atenolol por cromatografia líquida de alta aficiência (CLAE)**

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco citada no item 5.1.1.9.3 foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas.

O conteúdo de cada cápsula foi diluída em 100 mL de fase móvel, obtendo uma solução com concentração teórica igual a 1000 µg/mL. Esta solução foi diluída a fim de obter concentração teórica 100 µg/mL. Foram tomadas alíquotas e diluídas para obter concentração teórica final igual a 10 µg/mL. Estas diluições foram preparadas em triplicata, e injetadas no cromatógrafo sob as mesmas condições experimentais descritas no item 5.1.1.9.3



Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Diluíram-se 1 cápsula de 100mg para 100mL de fase móvel, obtendo assim uma solução de concentração teórica igual a 1mg/mL. Esta solução foi diluída em uma para 10 partes de fase móvel a fim de obter 100µg/mL. Fez-se também uma solução estoque com a SQR a 1mg/mL e da mesma forma, dilui-se esta para 100ug/mL. Da solução contendo a cápsula, foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração teórica final 5µg/mL. Da solução de SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 5µg/mL de cápsula, a fim de obter concentrações finais 10, 15 e 20 µg/mL, dos quais 5, 10 e 15µg/mL respectivamente são referentes à SQR adicionada e 5µg/mL é referente à cápsula em análise.

### **5.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de atenolol**

Não existe metodologia farmacopéica para a determinação do tempo de dissolução de cápsulas de atenolol.

O meio de dissolução utilizado é o especificado na USP 24 para comprimidos de atenolol , e constitui-se de água a 37°C.

Inicialmente, foi obtido o espectro de absorção na região do UV entre 200 e 400 nm de uma solução a 25 µg/mL de atenolol diluído em água para determinar o comprimento de onda onde ocorre a absorção máxima.

Foi preparada uma curva de calibração a partir de uma solução com 100 µg/mL de matéria-prima diluída em água, com concentrações variando de 2,5 a 20 µg/mL. A absorbância de cada ponto no comprimento de onda determinado foi medida em triplicata.

O aparato utilizado é a cesta para agitação do meio de dissolução, descrita na Farmacopéia Brasileira (FB, 1988).

Foram feitas seis determinações, tomando-se alíquotas do conteúdo da cuba após 30 minutos e diluídas a fim de se obter 11,1 µg/mL teóricos no caso de diluição total.

As amostras foram doseadas em espectrofotômetro e a curva de calibração da matéria-prima diluída em água foi utilizada para determinar o teor encontrado na amostra. Foi determinada a porcentagem de dissolução.

#### **5.1.3.4 Análise da interação de Atenolol com excipientes pela técnica de Difração de Raios-X**

A metodologia utilizada está descrita nas metodologias gerais no item 4.3.4.

## **5.2 Resultados e discussão atenolol**

### **5.2.1 Controle de qualidade de atenolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário**

As análises foram realizadas com a mesma matéria-prima usada para manipulação das cápsulas. Paralelamente, alguns dos ensaios foram realizados com amostras de outro lote de atenolol, com o intuito de qualificá-lo como substância química de referência (SQR), e comparação de resultados.

#### **5.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de atenolol**

A matéria prima analisada apresenta-se como pó branco, de acordo com as referências consultadas. (EP 1997; USP, 2000; BP 2000; O'Neil *et al.*, 2001)

A SQR apresentou as mesmas características.

#### **5.2.1.2 Análise da solubilidade de atenolol**

O fármaco apresentou-se pouco solúvel em água, isopropanol e acetona; ligeiramente solúvel em etanol 96%, facilmente solúvel em ácido acético e solúvel em dimetilsulfóxido, demonstrando conformidade com os dados apresentados nas monografias (Reynolds, 1996; EP 1997; USP, 2000; BP 2000; O'Neil *et al.*, 2001).

Os mesmos solventes foram testados para a SQR apresentando igual conformidade.

#### **5.2.1.3 Determinação de pH de atenolol**

O pH medido a 25°C, em triplicata de amostras com 1% de atenolol diluído em água foi 11,2. Não foram encontradas referências relacionadas.

A SQR apresentou pH 11,1 sob as mesmas condições.

#### **5.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de atenolol**

A faixa de fusão encontrada para a matéria prima foi 154,7 a 156,2 °C.

A Farmacopéia Americana reporta a faixa de 152,0 a 156,5 °C para o fármaco (USP, 2000).

A SQR apresentou igual conformidade, e faixa de fusão de 152,0 a 156,0 °C.

Não foram encontradas divergências de resultados entre os equipamentos utilizados.

#### **5.2.1.5 Análise da densidade de atenolol**

A densidade aparente encontrada para a matéria-prima foi 0,3006 g/mL. Este é um ensaio de caráter informativo, relacionado ao lote específico de cada matéria-prima, e utilizado para determinação da quantidade de excipiente a ser utilizado na manipulação das cápsulas.

#### **5.2.1.6 Determinação de umidade de atenolol**

Houve uma perda de 0,45 % do peso de amostras de 1 g de atenolol em secagem em estufa a 105 °C até peso constante. O ensaio foi realizado em triplicata e as amostras encontram-se dentro do limite de 0,5 % especificado na literatura (USP, 2000; BP 2000).

### **5.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de atenolol fornecido pelo fabricante**

Das análises realizadas, as características organolépticas, a solubilidade, o ponto de fusão, a perda por dessecação são citadas no laudo do fornecedor e os resultados estão em conformidade com as especificações tanto para a matéria prima quanto para a SQR. O teor também está em conformidade com o laudo, tanto da matéria-prima, quanto da SQR, conforme apresentado no item 5.2.1.9, o qual contempla os resultados das análises de doseamento.

### **5.2.1.8 Identificação de atenolol por espectrometria no Infra-vermelho**

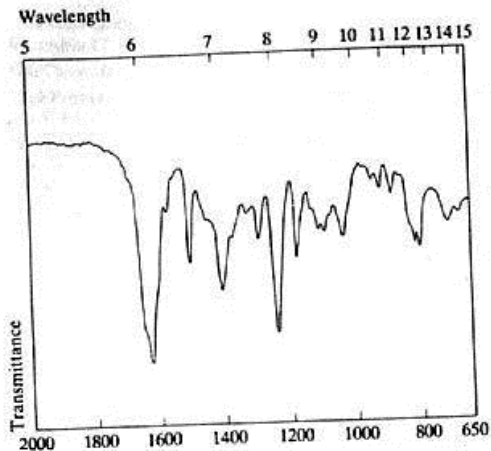
O espectro IV obtido para o atenolol demonstrou sobreponibilidade ao apresentado na literatura adotada como referência (Moffat, 1986). Adicionalmente o espectro foi comparado ao obtido sob as mesmas condições para a substância química de referência adotada como padrão, mostrando-se correspondente e atestando a identidade do fármaco.

Observa-se a banda referente ao grupamento carbonila próximo a  $1650\text{ cm}^{-1}$ .

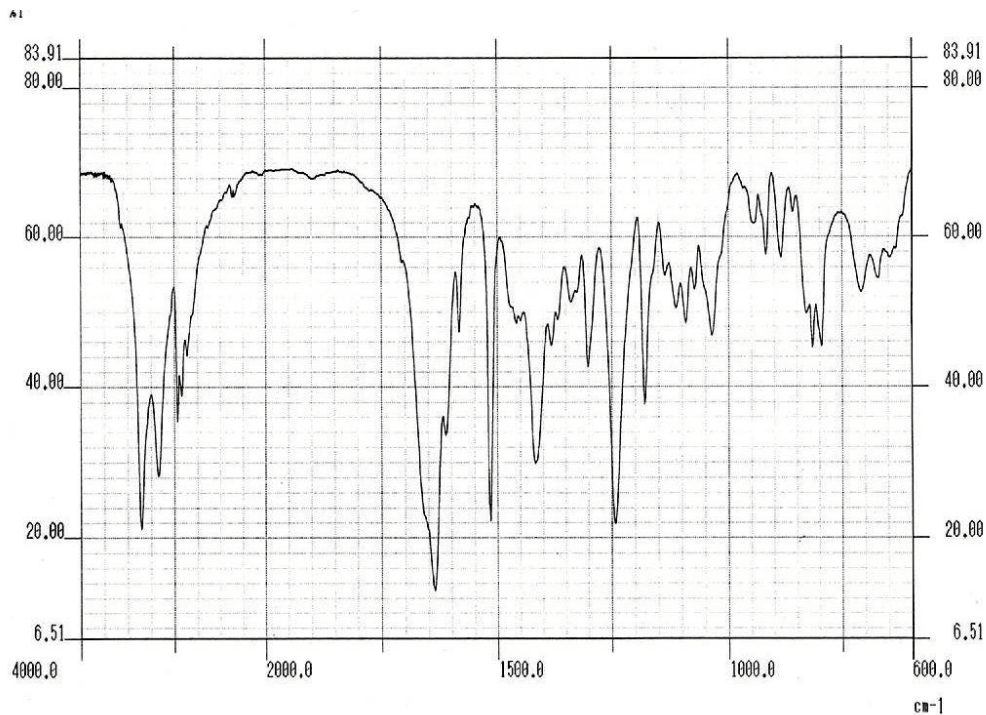
Pouco acima de  $1500\text{ cm}^{-1}$  observa-se a banda fina característica das ligações duplas de carbono.

Entre  $3000$  e  $3500\text{ cm}^{-1}$  observa-se as bandas largas relativas aos grupamentos amina e amida presentes na estrutura do fármaco (Silverstain, 2000).

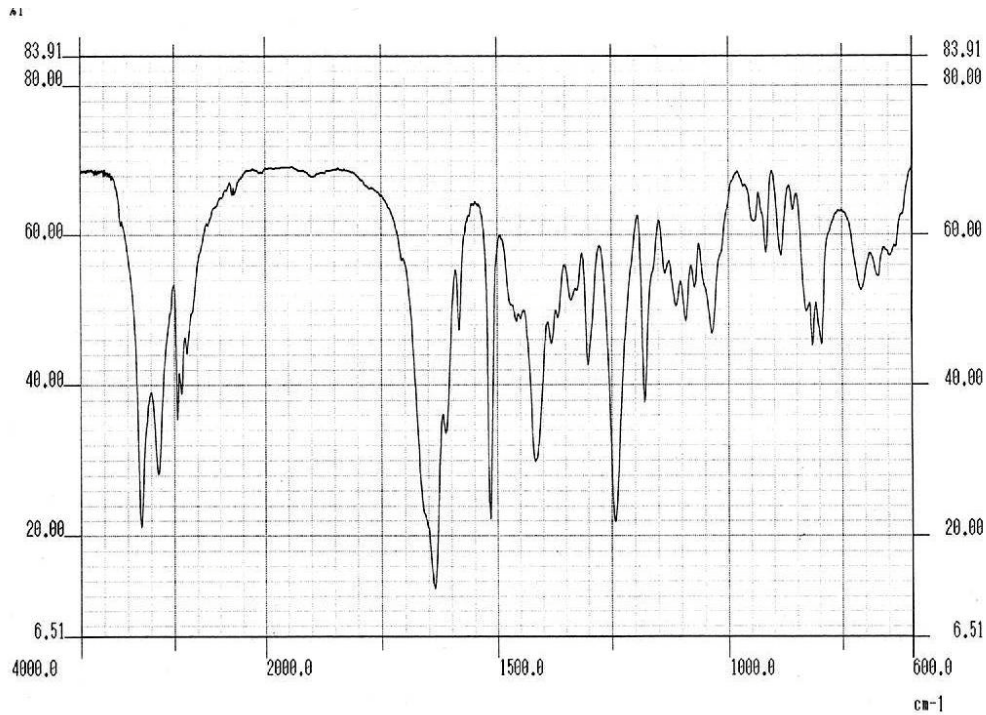
Os principais picos reportados para o atenolol localizam-se nos comprimentos de onda 1633, 1245, 1510, 1184, 805 e 820  $\text{cm}^{-1}$  (Moffat, 1986).



**Figura 4: Espectro IV obtido na literatura para o atenolol (Moffat, 1986)**



**Figura 5: Espectro IV obtido para o atenolol – SQR**



**Figura 6: Espectro IV obtido para o atenolol – matéria-prima**

### **5.2.1.9 Doseamento de atenolol**

#### **5.2.1.9.1 Doseamento de atenolol por Titulação Potenciométrica**

A primeira etapa foi o doseamento do padrão secundário, avaliando a precisão através do parâmetro repetibilidade. O teor foi determinado em seis amostras e os resultados podem ser visualizados na tabela seguinte.



**Tabela 3: Determinação de teor de Atenolol SQR por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>Coefficiente<br/>Variação (%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1              | 100,61          | 99,54 $\pm$ 0,76                     | 0,76                                 |
| 2              | 98,75           |                                      |                                      |
| 3              | 99,79           |                                      |                                      |
| 4              | 99,99           |                                      |                                      |
| 5              | 99,50           |                                      |                                      |
| 6              | 98,61           |                                      |                                      |

A precisão do método foi demonstrada pelo baixo coeficiente de variação. O laudo do fabricante apresenta como teor do padrão 99,4%. Assim, o resultado encontrado está em conformidade com o laudo, apresentando percentual de concordância de 100,14%, atestando a especificidade e exatidão do método. Dessa forma a conformidade do resultado do doseamento obtido por um método farmacopéico com o apresentado pelo laudo do fabricante, além dos demais testes de qualificação realizados, justifica o uso desta substância como SQR. Será adotado como valor de referência o teor 99,4% apresentado no laudo do fabricante.

O doseamento da matéria-prima foi realizado baseando-se em parâmetros que validam o método utilizado. Primeiramente analisou-se a precisão, através da repetibilidade obtida no doseamento de 6 amostras, conforme resultados apresentados na tabela abaixo.

**Tabela 4: Determinação de teor de Atenolol matéria-prima por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>Coefficiente<br/>Variação<br/>(%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|--|
| 1              | 100,27          | 98,65 $\pm$ 1,41                     | 1,43                                     |
| 2              | 99,16           |                                      |  |

|   |       |  |  |
|---|-------|--|--|
| 3 | 98,68 |  |  |
| 4 | 99,85 |  |  |
| 5 | 97,11 |  |  |
| 6 | 96,84 |  |  |

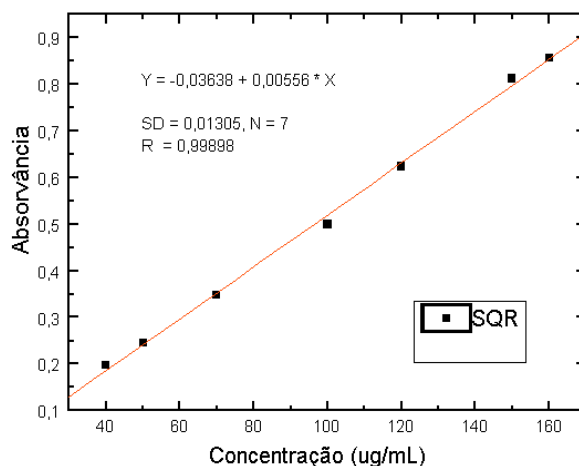
A precisão do método foi demonstrada pelo baixo coeficiente de variação obtido na determinação de atenolol em amostras do fármaco analisadas no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais.

O teor determinado de 98,65 % apresenta percentual de concordância de 99,34% em relação ao teor declarado pelo fabricante. Os percentuais de concordância obtidos para o doseamento do fármaco por espectrometria de absorção no ultravioleta e CLAE são 98,41 % e 100,10 %, respectivamente. Os percentuais de concordância encontram-se dentro das margens de limites de determinação de teor do atenolol, demonstrando a especificidade do método.

Ambos, matéria-prima e SQR encontram-se dentro dos limites que a Farmacopéia Americana especifica para teor no fármaco: 98,0 a 102,0 % (USP, 2000).

#### **5.2.1.9.2 Doseamento de atenolol por Espectrometria de absorção no UV**

A curva de calibração com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação de 0,99898 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear da SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima. A faixa determinada foi 40 a 175µg/mL.



**Figura 7: Curva de Calibração de atenolol SQR por espectrometria de absorção no ultravioleta**

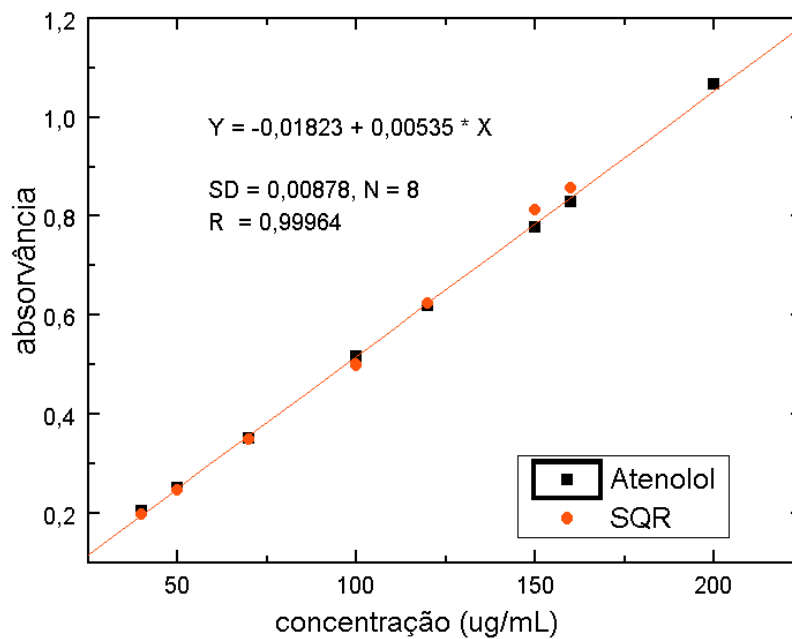
O teor determinado de matéria-prima foi calculado a partir da equação da reta obtida com o padrão, considerando-se que a substância química de referência possui 99,4% de teor. Fez-se seis diluições da matéria-prima com concentração teórica 100µg/mL. A média dos valores encontrados foi 100,24 % de teor da matéria – prima, calculada a partir da curva de calibração feita com a substância química de referência. A precisão foi demonstrada pelo coeficiente de variação 1,85 %.

**Tabela 5: Determinação de teor de matéria-prima Atenolol por espectrometria de absorção no ultravioleta**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) ± dp | Coefficiente Variação (%) |
|---------|----------|----------------|---------------------------|
| 1       | 102,56   | 100,24 ± 1,85  | 1,85                      |
| 2       | 101,97   |                |                           |
| 3       | 98,10    |                |                           |
| 4       | 100,00   |                |                           |
| 5       | 98,22    |                |                           |
| 6       | 100,60   |                |                           |

Os percentuais de concordância em relação ao teor declarado pelo fabricante, bem como ao teor determinado por CLAE são 100,84% e 101,71%, respectivamente.

As mesmas diluições empregadas na construção desta curva de calibração foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99964, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR bem como a exatidão do método.



**Figura 8: Comparação das curvas de calibração de atenolol SQR e matéria-prima por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A exatidão do método foi verificada através do percentual médio de recuperação obtido igual a 99,39 % e coeficiente de variação igual a 4,71 %. Os resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela abaixo.

**Tabela 6: Teste de recuperação para atenolol por espectrometria de absorção no ultravioleta**

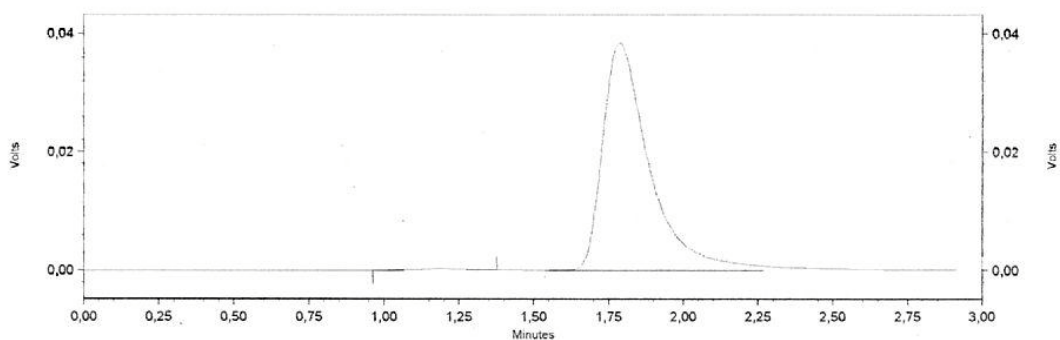
| Concentração inicial (MP) ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade SQR adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade recuperada * | % de recuperação | % médio recuperado $\pm$ dp | C.V. % |
|--|--|-------------------------|------------------|-----------------------------|--------|
| 50   | 20   | 20,96                   | 104,80           | 99,39 $\pm$ 4,68            | 4,71   |
| 50   | 50   | 48,43                   | 96,86            |                             |        |
| 50   | 100  | 96,52                   | 96,52            |                             |        |

\*Cada valor é média de três determinações.

### 5.2.1.9.3 Doseamento de atenolol por Cromatografia Líquida de Alta eficiência

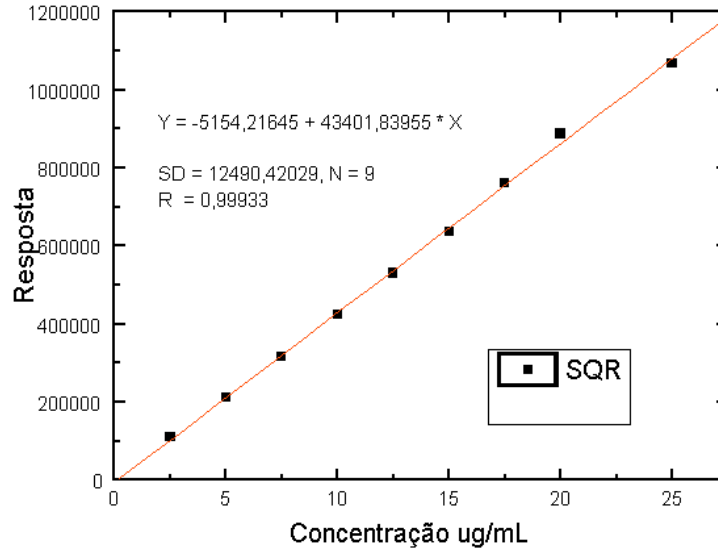
As amostras foram diluídas na fase móvel, na faixa de 2,5 a 25 $\mu\text{g/mL}$  e injetadas no cromatógrafo sob as condições descritas em 5.1.1.9.3.

A injeção de uma diluição de atenolol substância química de referência a 10 $\mu\text{g/mL}$  resultou no cromatograma abaixo.



**Figura 9: Cromatograma obtido para diluição de atenolol SQR 10 $\mu\text{g/mL}$**

A curva de calibração com a respectiva regressão linear na faixa de 2,5 a 25 $\mu\text{g/mL}$  é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99933 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima.



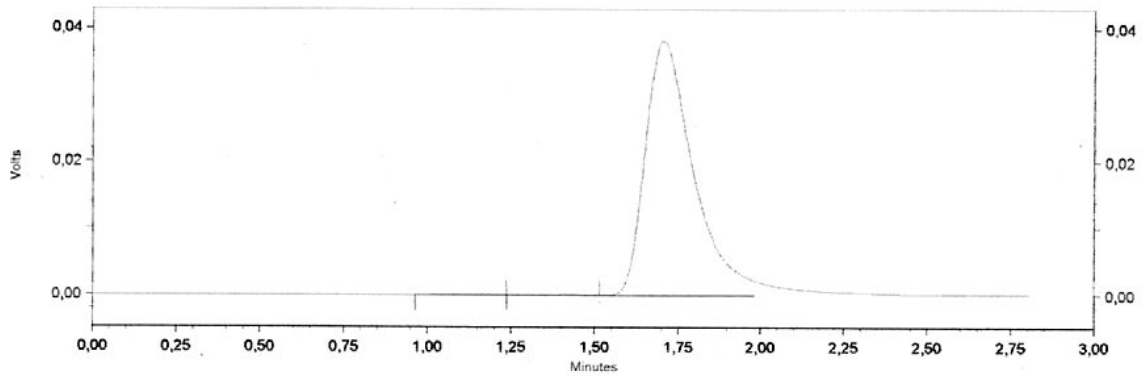
**Figura 10: Curva de Calibração de atenolol SQR por CLAE**

Esta curva de calibração foi usada para calcular o teor da matéria-prima, sabendo-se que a substância química de referência possui 99,40 % de teor. Fez-se seis diluições da matéria-prima com 10 µg/mL de concentração teórica. A média dos valores encontrados foi 98,55 % de matéria-prima calculada a partir da curva de calibração feita com a substância química de referência. A precisão foi demonstrada pelo coeficiente de variação 1,48 %.

**Tabela 7: Determinação de teor de matéria-prima Atenolol por CLAE**

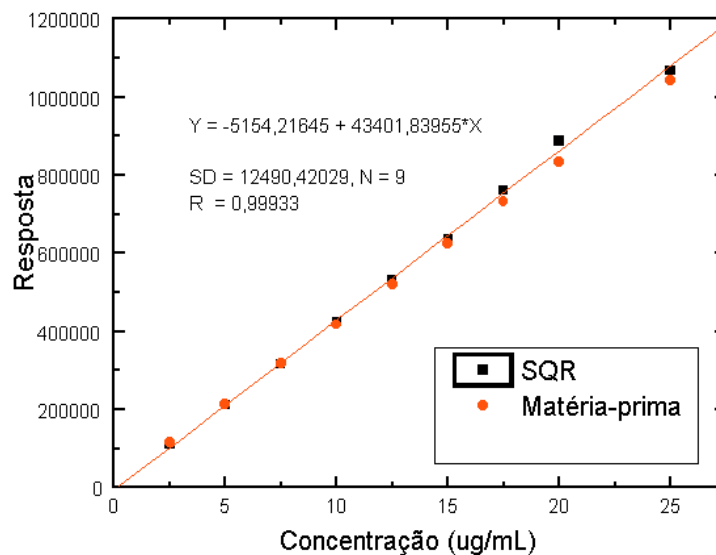
| Amostra | Teor (%) | Média (%) ± dp | Coeficiente Variação (%) |
|---------|----------|----------------|--------------------------|
| 1       | 100,02   | 98,55 ±1,45    | 1,48                     |
| 2       | 97,74    |                |                          |
| 3       | 97,15    |                |                          |
| 4       | 100,74   |                |                          |
| 5       | 97,95    |                |                          |
| 6       | 97,73    |                |                          |

O percentual de concordância em relação ao teor declarado pelo fabricante é igual a 99,14 %. A injeção de 10 µg/mL de atenolol matéria-prima resultou no cromatograma abaixo.



**Figura 11: Cromatograma obtido para diluição de atenolol matéria-prima 10µg/mL**

As mesmas diluições empregadas na construção desta curva de calibração foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi comparada à curva do padrão, demonstrando sobreposição. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99933, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR bem como a exatidão do método. A curva de calibração da matéria-prima será usada para doseamento das cápsulas manipuladas.



**Figura 12: Comparação das curvas de calibração de atenolol SQR e matéria-prima por CLAE**

A exatidão do método foi verificada através do percentual médio de recuperação obtido igual a 100,68% e coeficiente de variação igual a 4,85%. Os

resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela abaixo.

**Tabela 8: Teste de recuperação para atenolol por CLAE**

| Concentração inicial (MP) ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade SQR adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade recuperada * | % de recuperação | % médio recuperado $\pm$ dp | C.V. |
|--|--|-------------------------|------------------|-----------------------------|------|
| 5  | 5  | 5,32                    | 106,32           | 100,68 $\pm$                | 4,85 |
| 5  | 10   | 9,79                    | 97,89            | 4,88                        |      |
| 5  | 15   | 14,67                   | 97,83            |                             |      |

\*Cada valor é média de três determinações.

## 5.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de atenolol manipuladas

### 5.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de atenolol

O peso médio determinado em 20 unidades foi igual a 0,2567. Das vinte unidades analisadas, nenhuma excedeu a variação de 5 % deste valor. As cápsulas encontram-se conformes no requisito uniformidade de peso, cujos limites especificados na Farmacopéia Brasileira para cápsulas entre 80 e 250 mg é igual a 7,5 % de variação (FB, 1988).

Os pesos individuais das cápsulas podem ser vistos na tabela abaixo.

**Tabela 9: Variação de peso e peso médio em gramas das cápsulas de atenolol**

|        |        |        |        |
|--------|--------|--------|--------|
| 0,2515 | 0,2630 | 0,2562 | 0,2543 |
| 0,2651 | 0,2626 | 0,2596 | 0,2562 |



|   |        |                |        |
|---|--------|----------------|--------|
| 0,2672  | 0,2529 | 0,2542         | 0,2482 |
| 0,2462  | 0,2553 | 0,2562         | 0,2526 |
| 0,2512  | 0,2646 | 0,2514         | 0,2656 |
| Média:0,2567 Desvio padrão: 0,005997 Coef.Variação: 2,34% |        |                |        |
| Limites de variação                                       |        | +7,5% = 0,2759 |        |
|   |        | - 7,5%= 0,2374 |        |

### 5.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de atenolol

#### 5.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de atenolol por Titulação Potenciométrica

As cápsulas manipuladas foram analisadas individualmente por titulação potenciométrica, e os resultados mantiveram-se dentro dos limites especificados para comprimidos de atenolol o qual é de 90 a 110% do teor declarado; conforme pode-se observar na tabela abaixo.

**Tabela 10: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por titulação**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) $\pm$<br>dp | C.V. (%) |
|---------|----------|-----------------------|----------|
| 1       | 96,00    | 99,093 $\pm$ 3,03     | 3,06     |
| 2       | 97,35    |                       |          |
| 3       | 106,75   |                       |          |
| 4       | 98,69    |                       |          |
| 5       | 100,03   |                       |          |
| 6       | 97,35    |                       |          |

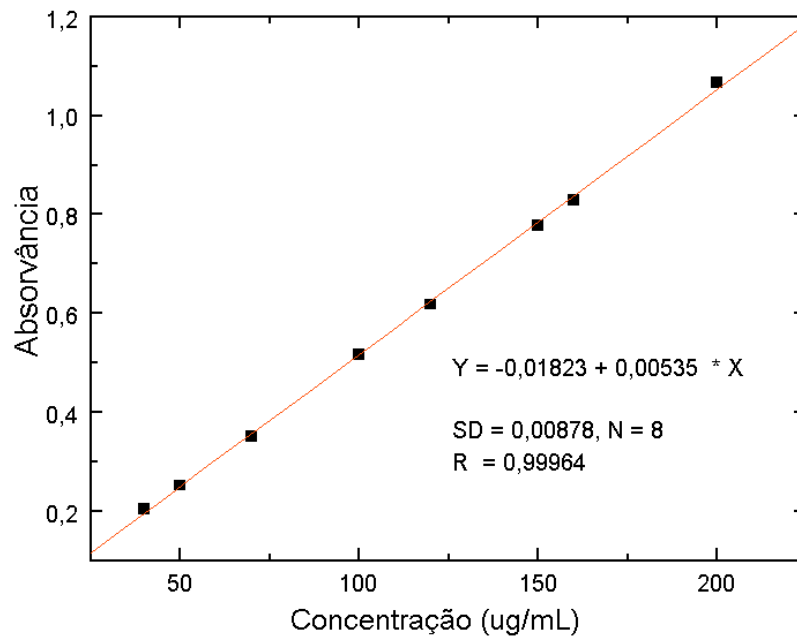
|    |        |  |  |
|----|--------|--|--|
| 7  | 97,35  |  |  |
| 8  | 100,03 |  |  |
| 9  | 100,03 |  |  |
| 10 | 97,35  |  |  |

A exatidão e a especificidade podem ser demonstradas pela concordância dos resultados com os apresentados pelas outras metodologias. Os percentuais de concordância obtidos para o doseamento das cápsulas por espectrometria de absorção no UV e CLAE são 94,51 % e 104,03 %, respectivamente.

#### **5.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de atenolol por Espectrometria-UV**

A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

A curva de calibração com a respectiva regressão linear determinada na faixa de 40 a 175  $\mu\text{g/mL}$  é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99964 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a autenticidade dos resultados.



**Figura 13: Curva de Calibração de atenolol - matéria-prima por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A precisão do método através do parâmetro repetibilidade, bem como a uniformidade de conteúdo foram demonstradas pelo coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento de 10 cápsulas, individualmente. Os resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela seguinte, considerando 100% de teor a concentração igual a 100  $\mu\text{g/mL}$  que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 11: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por espectrometria-UV**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) $\pm$ dp | Coefficiente de Variação (%) |
|---------|----------|--------------------|------------------------------|
|         |          |                    |                              |

|    |        |               |      |
|----|--------|---------------|------|
| 1  | 108,57 | 104,84 ± 3,30 | 3,15 |
| 2  | 105,46 |               |      |
| 3  | 99,85  |               |      |
| 4  | 109,57 |               |      |
| 5  | 102,55 |               |      |
| 6  | 102,87 |               |      |
| 7  | 103,46 |               |      |
| 8  | 107,98 |               |      |
| 9  | 106,73 |               |      |
| 10 | 101,39 |               |      |

Os resultados da determinação dos teores individuais de cada cápsula mantiveram-se dentro dos limites especificados pela Farmacopéia Americana para comprimidos de atenolol o qual é de 90 a 110% do teor declarado (USP, 2000).

A exatidão e a especificidade podem ser demonstradas pela concordância dos resultados com os apresentados pelas outras metodologias. O percentual de concordância obtido para o doseamento das cápsulas por CLAE é 110,06%. Sugere-se que percentuais de concordância maiores do que 100% indiquem a existência de uma interferência positiva (Brittain, 1998). Assim, o percentual de concordância em relação à metodologia CLAE, sugere a presença de uma interferência positiva no doseamento pela técnica de espectrometria de absorção no UV. Porém, esta interferência encontra-se dentro da faixa aceitável, pois nenhuma das dez cápsulas excedeu os limites de variação especificados.

A exatidão foi avaliada através do percentual de recuperação encontrado igual a 102,11. Porém o coeficiente de variação demonstra uma variação considerável. Os resultados do teste de recuperação podem ser vistos na tabela seguinte, a qual demonstrou que com o aumento da quantidade adicionada ocorreu uma diminuição da quantidade recuperada, resultando em um desvio padrão maior.

**Tabela 12: Teste de recuperação para cápsulas de atenolol por espectrometria de absorção UV**

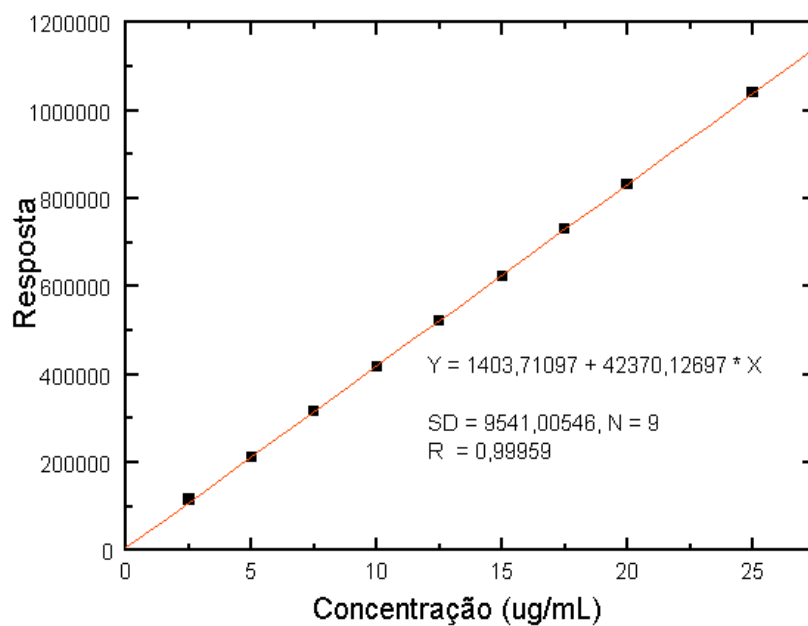
| <b>Concentração inicial (MP) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>CV %</b> |
|--|--|--------------------------------|----------------------|---|-------------|
| 50   | 20   | 22,05                          | 110,25               | 102,11 $\pm$ 7,93                             | 7,76        |
| 50   | 50   | 50,84                          | 101,68               |   |             |
| 50   | 100  | 94,39                          | 94,39                |   |             |

\*Cada valor é média de três determinações.

#### **5.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de atenolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

A curva de calibração com a respectiva regressão linear determinada na faixa de 2,5 a 25 $\mu\text{g/mL}$  é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99959 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a fidedignidade dos resultados.

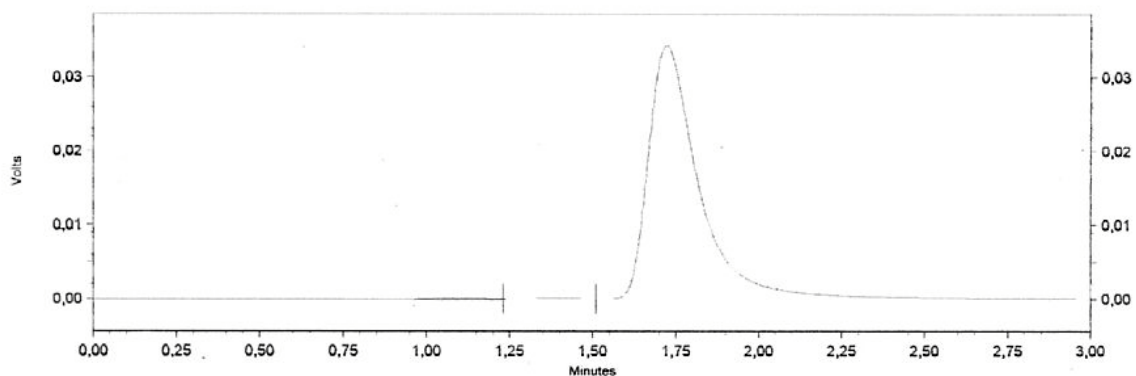


**Figura 14: Curva de Calibração de atenolol - matéria-prima por CLAE**

A precisão do método foi avaliada através do parâmetro repetibilidade.

A uniformidade de conteúdo foi demonstrada pelo coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento individual de 10 cápsulas.

O cromatograma obtido pela análise de uma solução contendo 10µg/mL teóricos de atenolol provenientes da diluição de uma das cápsulas analisadas é mostrado abaixo.



**Figura 15: Cromatograma obtido para diluição de cápsula de atenolol analisada**

Os resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela seguinte, considerando 100% de teor a concentração igual a 10µg/mL que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 13: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de atenolol por CLAE**

| Cápsula | Teor (%) | Média (%)± dp | C.V.(%) |
|---------|----------|---------------|---------|
| 1       | 96,81    | 97,41 ± 5,85  | 6,00    |
| 2       | 99,05    |               |         |
| 3       | 105,38   |               |         |
| 4       | 105,67   |               |         |
| 5       | 91,90    |               |         |
| 6       | 98,32    |               |         |
| 7       | 90,45    |               |         |
| 8       | 90,00    |               |         |
| 9       | 99,36    |               |         |
| 10      | 96,58    |               |         |

Os resultados obtidos encontram-se em conformidade com as especificações farmacopéicas que delimitam a aceitação entre 90 e 110% de teor (USP, 2000).

No entanto algumas cápsulas encontram-se bem próximas ao limite mínimo de teor tolerado. Neste ponto do trabalho, pode-se notar a importância da análise individual de cápsulas, como representativo da homogeneidade. Se o conteúdo das 10 cápsulas tivesse sido misturado e tomadas alíquotas desta mistura para a realização do doseamento, conforme indicam muitas monografias, provavelmente as cápsulas de maior teor cobririam esta falta de ativo nas cápsulas de menor teor, no momento do doseamento. Além disso, a mistura posterior, poderia mascarar uma homogeneização inadequada no momento de manipulação das cápsulas.

Sugere-se o uso de fatores de correção do teor da matéria-prima a fim de obter o teor de ativo necessário (Ferreira, 2000). Desse modo, embora as cápsulas estejam em conformidade com as especificações, os resultados estariam mais perto do ideal se fosse considerado um fator de correção do ativo quando da manipulação das cápsulas.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação, cujos resultados são mostrados abaixo. O percentual de recuperação médio encontrado e o baixo coeficiente de variação demonstram a exatidão do método.

**Tabela 14: Teste de recuperação para cápsulas de atenolol por CLAE.**

| <b>Concentração teórica inicial (Cápsulas) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. %</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|---|---------------|
| 5  | 5  | 5,22                           | 104,43                  | 102,45 $\pm$<br>1,82                          | 1,78%         |
| 5  | 10   | 10,21                          | 102,08                  |   |               |
| 5  | 15   | 15,13                          | 100,85                  |   |               |

\* Cada valor é média de três determinações

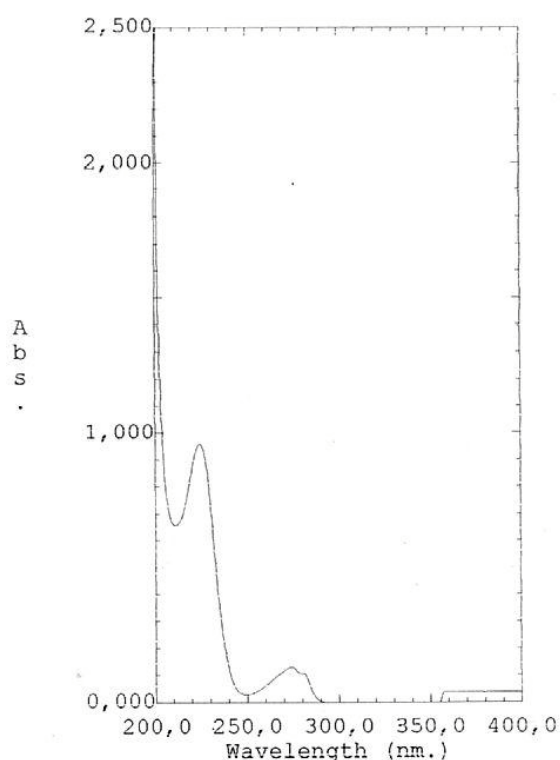


### 5.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de atenolol

O espectro de absorção na região do UV entre 200 e 400 nm obtido com uma solução teste de atenolol a 25µg/mL em água, que constitui o meio de dissolução especificado, mostrou um pico de absorção em 224nm, conforme pode-se observar na tabela 14 e na figura 16.

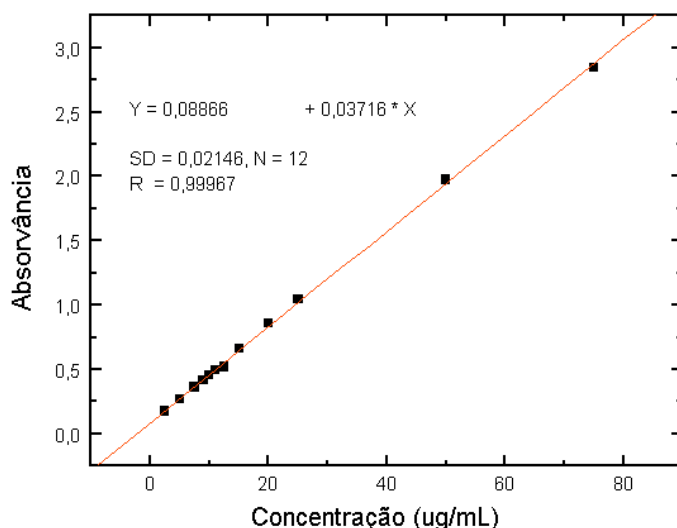
**Tabela 15: Absorvâncias medidas em uma solução teste de atenolol**

| Comprimento de Onda (nm) | Absorvância |
|--------------------------|-------------|
| 375                      | 0,0371      |
| 280,20                   | 0,1068      |
| 274                      | 0,1294      |
| 224,40                   | 0,9565      |



**Figura 16: Espectro de absorção na região do UV do atenolol (200 – 400 nm)**

A curva de calibração feita em água com o atenolol, do mesmo lote de matéria-prima com que foram manipuladas as cápsulas, pode ser observada abaixo, com a respectiva equação da reta e coeficiente de correlação.



**Figura 17: Curva de calibração por espectrometria de absorção no ultravioleta de Atenolol no meio de dissolução**

As porcentagens de dissolução obtidas após 30 minutos são apresentadas na tabela abaixo. Os teores foram calculados considerando-se 100% de dissolução a concentração teórica igual a 11,1 $\mu$ g/mL.

**Tabela 16: Porcentagem de dissolução de cápsulas de atenolol**

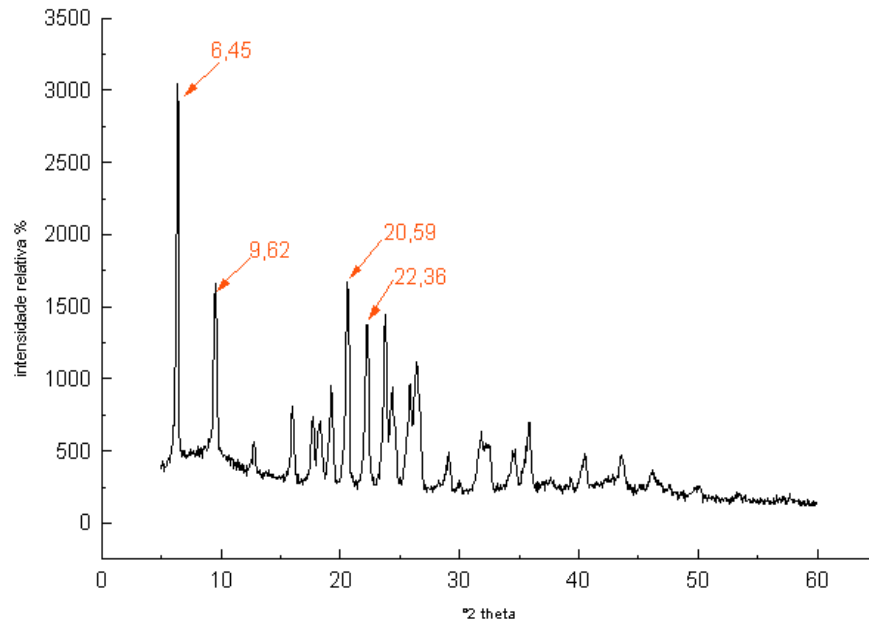
| Teor (%) | Média  |
|----------|--------|
| 103,15   | 97,91% |

|        |  |
|--------|--|
| 102,61 |  |
| 93,69  |  |
| 96,85  |  |
| 99,73  |  |
| 91,44  |  |

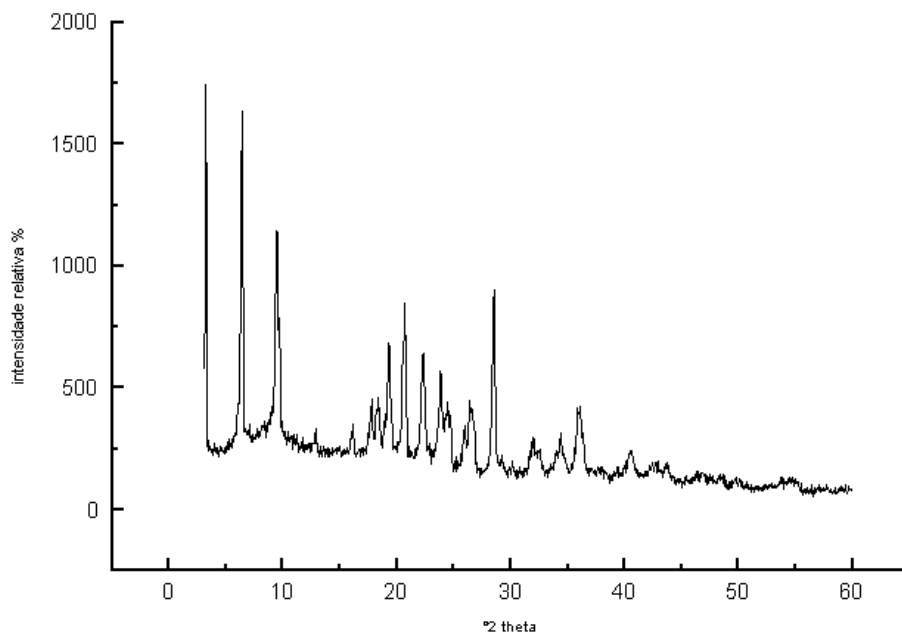
As concentrações obtidas encontram-se de acordo com a tolerância especificada pela Farmacopéia Americana para comprimidos de atenolol, que é de no mínimo 80 % de dissolução após 30 minutos sob as condições especificadas (USP, 2000).

#### **5.2.2.4 Análise da interação de Atenolol com excipientes pela técnica de Difração de Raios-X**

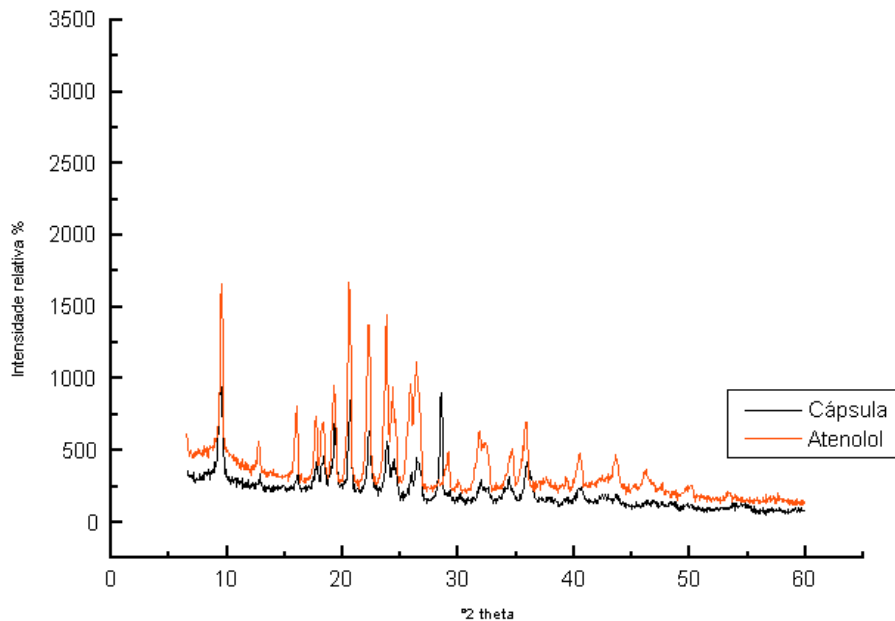
Os difratogramas obtidos para o fármaco atenolol e para o conteúdo das cápsulas manipuladas são apresentados nas figuras 18 e 19. A figura 20 mostra ambos os difratogramas, permitindo visualizar a sobreposição dos mesmos.



**Figura 18: Difratoograma obtido para o fármaco Atenolol**



**Figura 19: Difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol**



**Figura 20: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de atenolol e fármaco**

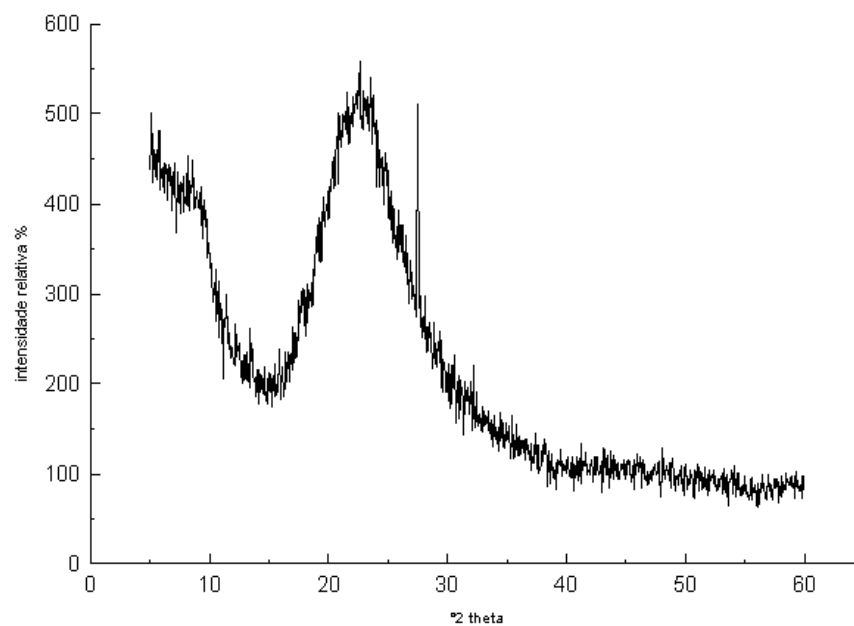
Pode-se observar os picos de maior intensidade no difratograma obtido para o fármaco atenolol apontados na figura 18 correspondentes a  $2\theta = 6,45; 9,62; 20,59$  e  $22,36$ .

Foram também obtidos os difratogramas para cada um dos excipientes utilizados na formulação: aerosil, amido, lauril sulfato de sódio, estearato de magnésio e talco. A fim de investigar alterações na estrutura cristalina do fármaco, determinou-se os picos significativos e analisaram-se os difratogramas obtidos para a substância isolada e cápsula (mistura), a fim de verificar se os mesmos mantinham-se nas mesmas posições.

A relativa aleatoriedade no arranjo das moléculas de uma substância não cristalina gera uma dispersão pouco coerente de Raios-X, resultando num largo e

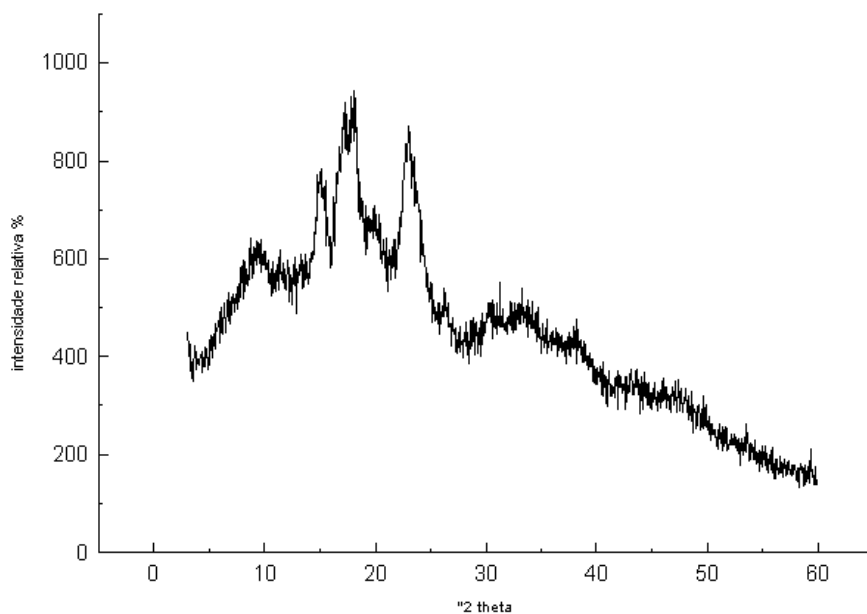
difuso padrão de máximos de difração. Estes padrões são claramente distinguíveis das espécies cristalinas, que fornecem padrões de difração nítidos (USP, 2000).

O aerosil (figura 21) apresenta difratograma típico de estruturas não cristalinas. Além disso, está presente em baixa concentração na formulação, e concentrações baixas não são detectadas pelo equipamento. Ainda, as intensidades relativas são muito baixas em relação às intensidades dos picos significativos encontrados no difratograma das cápsulas.



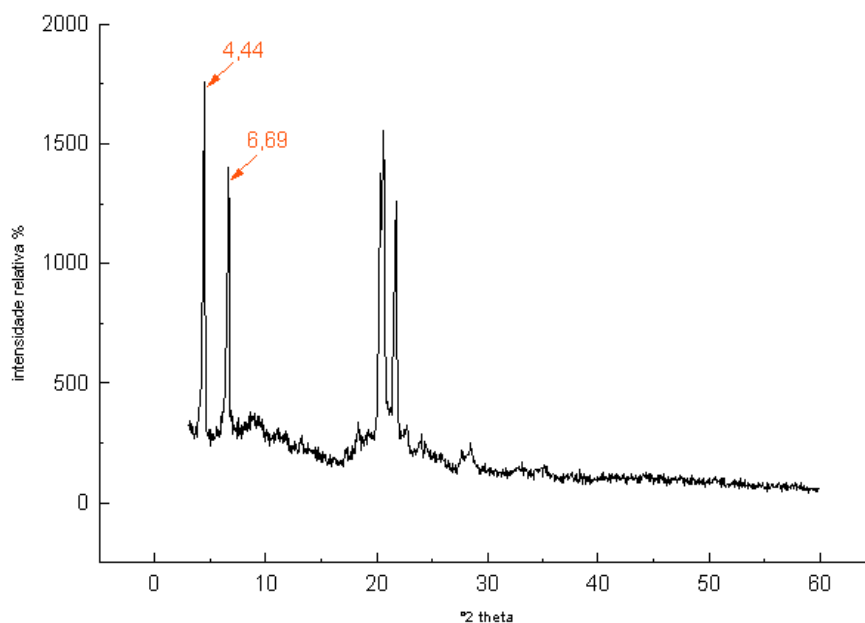
**Figura 21: Difratograma obtido para o aerosil**

O amido (figura 22), embora presente em quantidade significativa na formulação, apresenta difratograma típico de estruturas não cristalinas, além de intensidades relativas muito baixas em relação às intensidades dos picos significativos encontrados no difratograma das cápsulas.

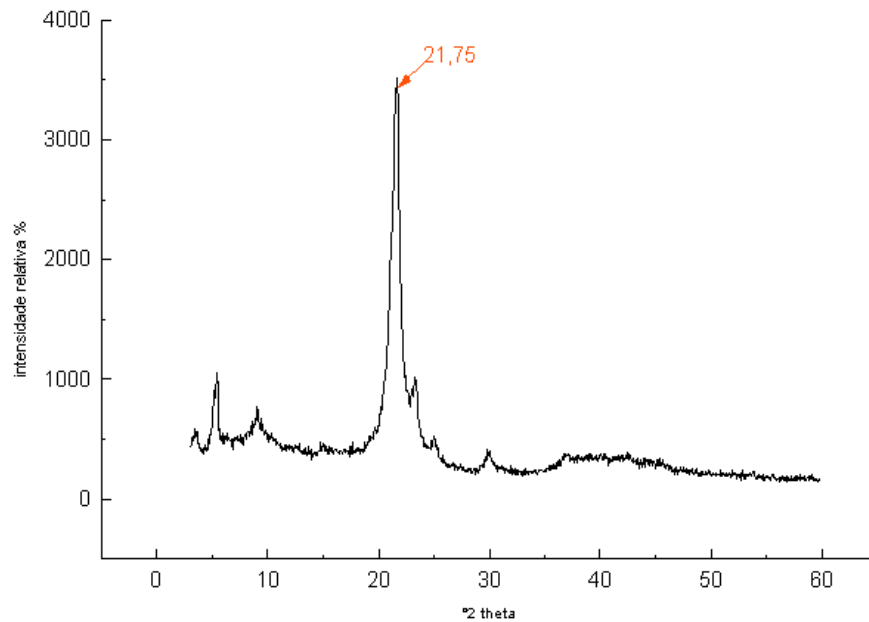


**Figura 22: Difratograma obtido para o amido**

O Lauril Sulfato de Sódio (figura 23) e o Estearato de magnésio (figura 24) estão presentes em concentrações iguais a 1 e 0,5% respectivamente. Concentrações menores do que 5% não interferem significativamente na análise.



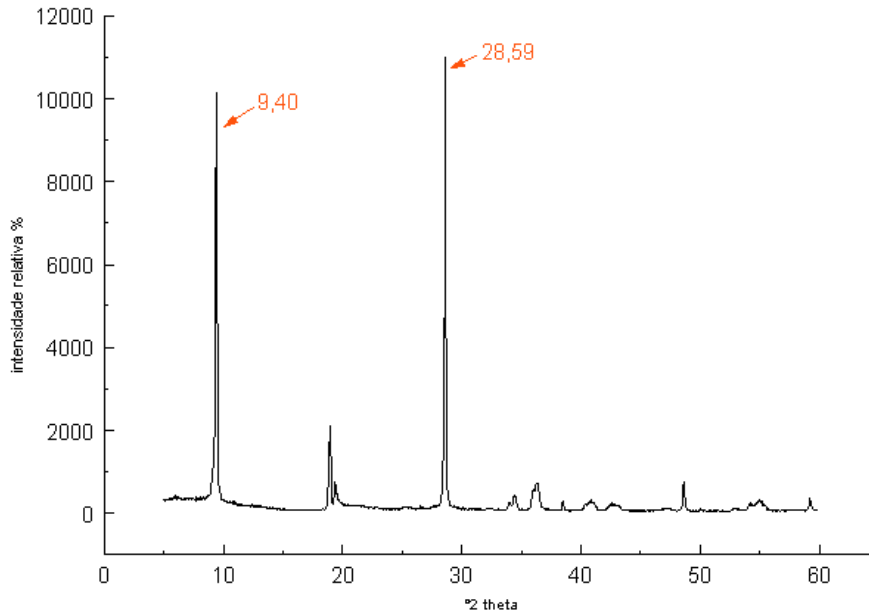
**Figura 23: Difratoograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio**



**Figura 24: Difratoograma obtido para o Estearato de Magnésio**

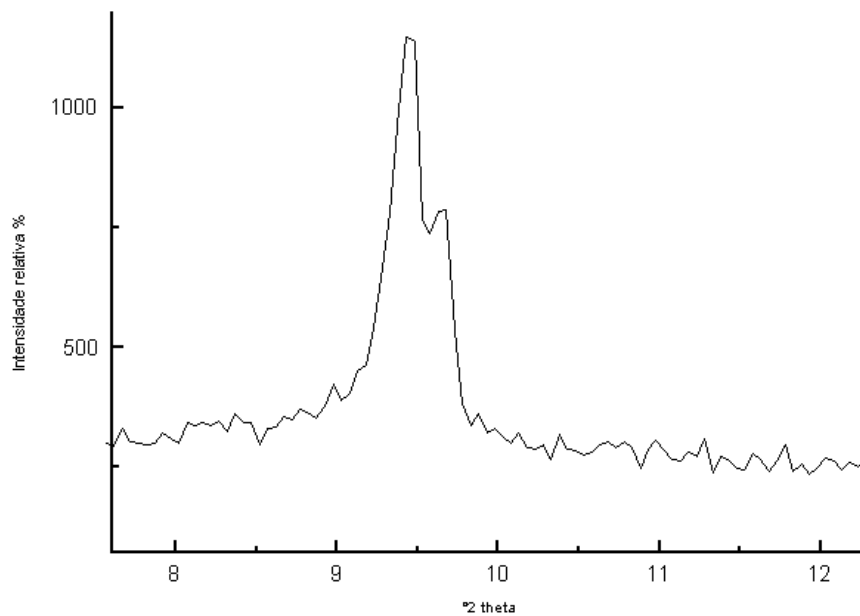
O talco (figura 25) é um excipiente que apresenta difratoograma típico de estrutura cristalina, e está presente em quantidade significativa na formulação. Assim, determinou-se os picos mais significativos correspondentes a  $2\theta=9,40$  e  $28,59$ .





**Figura 25: Difratoograma obtido para o talco**

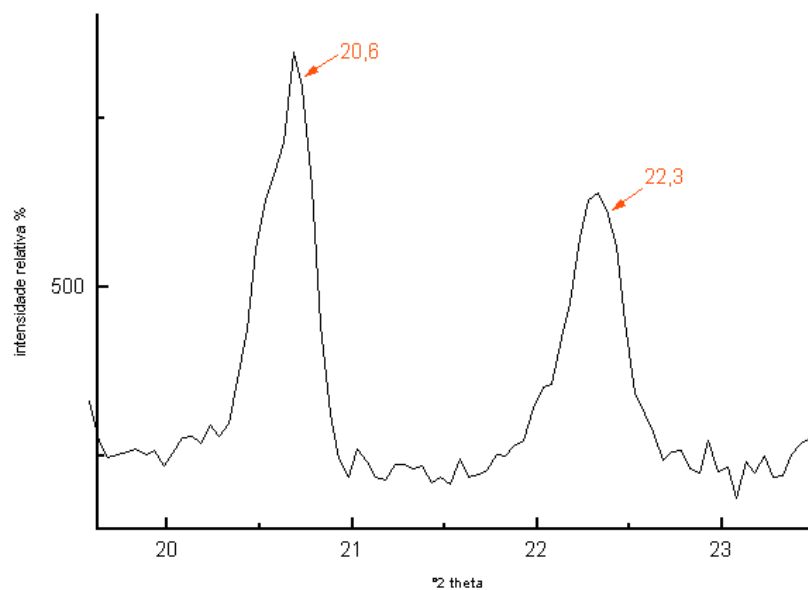
A partir da figura 19 obtém-se a figura 26, a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 8 a 12 de  $2\theta$  do difratograma obtido para as cápsulas.



**Figura 26: Faixa de 8 a 12 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol**

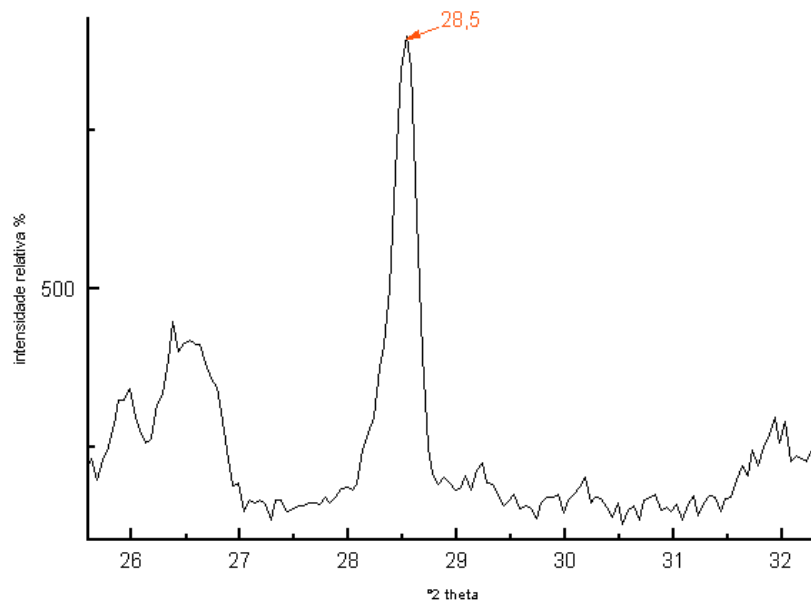
Verifica-se a presença de picos sobrepostos em  $2\theta$  aproximadamente igual a 9,5. Porém, pode-se constatar a existência de dois picos. O primeiro em  $2\theta=9,45$  e o segundo em  $2\theta=9,65$ . Sugere-se que se refiram aos picos  $2\theta=9,4$  do talco e  $2\theta=9,62$  do atenolol.

Também a partir da figura 19, obteve-se a figura 27 a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 20 a 23 de  $2\theta$ . Pode-se verificar a presença dos picos  $2\theta=20,6$  e  $2\theta=22,3$  referentes ao atenolol.



**Figura 27: Faixa de 20 a 25 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol**

A figura 28 corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 26 a 32 de  $2\theta$ . Pode-se observar em  $2\theta=28,5$ , isolado, o pico referente ao talco.



**Fig 28: Faixa de 26 a 32 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de atenolol**

Quando ocorrem interações com excipientes, podem ocorrer mudanças na estrutura cristalina do fármaco resultando em alteração no perfil de difração de raios-X.

Assim, a presença de picos isolados no difratograma da formulação das cápsulas, bem como a verificação da existência de picos nas mesmas posições em que se encontravam nos difratogramas individuais das substâncias, é uma evidência de que não ocorre alteração na estrutura cristalina do fármaco.

## **6. Parte experimental Enalapril: Metodologias específicas, Resultados e discussão**

### **6.1 Metodologias para o enalapril**

#### **6.1.1 Metodologias de controle de qualidade de enalapril matéria-prima e qualificação de padrão Secundário**

A substância química de referência utilizada no presente trabalho foi adquirida do fornecedor Galena®, pertencente ao lote 20010405 e teor declarado igual a 99,8%. Esta substância foi submetida aos testes de qualificação, conforme descrito no item 4.1.

A matéria prima utilizada para a manipulação das cápsulas foi adquirida do fornecedor Galena®, pertencente ao lote 5111-00-042-A e teor declarado igual a 99,6%. A matéria prima foi previamente analisada conforme descrito no item 4.1.

##### **6.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.1.

#### **6.1.1.2 Análise da solubilidade de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.2.

#### **6.1.1.3 Determinação de pH de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.3.

O pH foi determinado a 25°C, em triplicata de amostras contendo 1% de enalapril diluído em água (EP, 2000).

#### **6.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.4.

#### **6.1.1.5 Análise da densidade de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.5.

#### **6.1.1.6 Determinação de umidade de enalapril**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.6.

#### **6.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de enalapril fornecido pelo fabricante**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.7.

#### **6.1.1.8 Identificação de enalapril por espectrometria no Infra-vermelho**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.8

### **6.1.1.9 Doseamento de enalapril matéria-prima e substância química de referência.**

A determinação do teor da matéria-prima e da substância química de referência foi feita utilizando parâmetros que validam os métodos de análise empregados. As metodologias utilizadas foram titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

#### **6.1.1.9.1 Doseamento de enalapril por Titulação Potenciométrica**

A titulação potenciométrica em meio aquoso é a técnica preconizada pelas farmacopéias Britânica e Européia para o fármaco enalapril (BP, 2000; EP, 2001).

Dissolvem-se 100mg de enalapril em 30mL de água livre de dióxido de carbono. Titula-se com hidróxido de sódio 0,1M. O ponto de equivalência é determinado por potenciometria. Cada mL de hidróxido de sódio utilizado corresponde a 16,42mg de enalapril.

A técnica foi reproduzida e validada para o doseamento da matéria-prima bem como da substância química de referência.

#### **6.1.1.9.2 Doseamento de enalapril por Espectrometria de absorção no UV**

Desenvolveu-se uma metodologia de doseamento de enalapril por espectrometria de absorção no UV, em virtude de não terem sido encontradas referências farmacopéicas segundo este método para doseamento do fármaco.

Determinou-se o espectro de absorção na região do UV entre 200 e 300 nm de uma solução teste contendo 20 $\mu$ g/mL do fármaco em solução de ácido clorídrico 0,1N, para determinar o comprimento de onda onde ocorre maior absorção. Foi obtida a curva derivada de primeira ordem do espectro determinado para aumentar a detecção das menores características. (El Walily, 1995)

Utilizou-se um espectrofotômetro SHIMADZU, modelo UV-1601PC; que possui o recurso de apresentação da curva derivada de primeira ordem.

A partir dos resultados obtidos, validou-se o método de doseamento por espectrometria a 202nm para o fármaco enalapril, utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo lambda 10 UV/VIS.

Foi preparada uma solução estoque a 1mg/mL do fármaco em solução de ácido clorídrico 0,1N,. Esta solução foi diluída dez vezes de forma a obter solução com 100 $\mu$ g/mL, a partir da qual foram feitas diluições para a construção de uma curva de calibração de 2 a 36 $\mu$ g/mL. A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata. A equação da reta foi determinada a partir da média das três leituras.

Esta curva de calibração feita com a substância química de referência foi usada para determinar o teor da matéria-prima.



As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise, e comparada com a curva de calibração da substância química de referência.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. A partir de uma solução estoque com 100µg/mL, foram feitas diluições em ácido clorídrico 0,1N, a fim de atingir concentração final 12µg/mL. De uma solução 100µg/mL de SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 12µg/mL de matéria-prima, a fim de obter concentrações finais 16, 20 e 24µg/mL, dos quais 4, 8 e 12 µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 12µg/mL é referente à matéria-prima em análise.

#### **6.1.1.9.3 Doseamento de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta eficiência.**

A metodologia oficial adotada pela Farmacopéia Americana para o doseamento tanto do fármaco quanto de comprimidos de enalapril utiliza a CLAE (USP, 2000).

Validou-se um método de doseamento para o fármaco utilizando sistema CLAE SHIMADZU, constituído de bomba LC-10AD VP e detector UV-Vis SPD-10AV VP, gerenciado pelo controlador SCL-10AVP, acoplado a um computador Mega Corp, e operado pelo programa Class-VP. A fase estacionária utilizada foi uma coluna Lichrospher® RP-18 (5µm) de 125 x 4mm. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/água (20:80) com pH ajustado pra 3,8 com ácido acético, com fluxo isocrático de 1mL/min. A detecção foi em UV a 215nm.

Construiu-se uma curva de calibração com a substância química de referência, dissolvendo inicialmente 1mg/mL do fármaco na fase móvel. Diferentes quantidades desta solução são diluídas na fase móvel, para preparar a curva obtendo as concentrações de 50 a 500µg/mL de enalapril. Esta curva de calibração feita com a SQR foi utilizada para determinar o teor da matéria-prima. As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Foram feitas soluções estoque a 1mg/mL com a matéria-prima e com a SQR. Da solução contendo a matéria-prima, foram feitas diluições na fase móvel a fim de atingir concentração final 50µg/mL. Da solução contendo SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 50µg/mL de matéria-prima, a fim de obter concentrações finais 100, 200 e 300 µg/mL de enalapril, dos quais 50, 150 e 250µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 50µg/mL é referente à matéria-prima em análise.

### **6.1.2 Manipulação de cápsulas de enalapril**

Foram manipuladas 360 cápsulas com 20mg de enalapril. O método de encapsulação utilizado foi o de preenchimento manual e nivelamento descrito nas metodologias gerais no item 4.2. Os excipientes utilizados na manipulação das cápsulas de enalapril são os sugeridos por Ferreira 2001 como excipiente alcalinizante, específico para cápsulas de enalapril, conforme tabela abaixo.

**Tabela 17: Formulação cápsulas de enalapril**

| <b>Substância</b>       | <b>Concentração</b>         |
|-------------------------|-----------------------------|
| Maleato de Enalapril    | 20mg                        |
| Bicarbonato de Sódio    | 10mg                        |
| Lauril sulfato de sódio | 1,0%                        |
| Estearato de Magnésio   | 1,0%                        |
| Aerosil                 | 1,0%                        |
| Lactose qsp 200mg       | qsp 200mg<br>para 1 cápsula |

Todos os ensaios de controle de qualidade de cápsulas de enalapril foram realizados com este mesmo lote de cápsulas; exceto o teste de titulação potenciométrica, pois sofreu interferência de um dos excipientes utilizados. Tornou-se necessária a realização de tal experimento com um lote manipulado sem bicarbonato de sódio visando possibilitar a validação do método.

### **6.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de enalapril**

#### **6.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de enalapril**

A metodologia utilizada é a sugerida na Farmacopéia Brasileira, a qual esta descrita no item 4.3.1 das metodologias gerais (FB, 1988).

#### **6.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de enalapril**

A determinação da uniformidade de dose das cápsulas de enalapril, realizou-se conforme descrito nas metodologias gerais item 4.3.2, doseando-se o conteúdo de dez cápsulas individualmente.

Não foram encontradas metodologias farmacopéica para doseamento de cápsulas de enalapril. As metodologias utilizadas no doseamento da matéria-prima foram adaptadas e validadas para a determinação do teor das cápsulas, as quais são: titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

#### **6.1.3.2.1 Doseamento das cápsulas de enalapril por titulação potenciométrica**

A técnica descrita no item 6.1.1.9.1, que é sugerida para doseamento do fármaco, foi adaptada e validada para o doseamento das cápsulas manipuladas.

A farmacopéia brasileira recomenda no caso de titulação, utilizar titulante mais diluído na determinação de uniformidade de conteúdo (FB, 1996). A metodologia adaptada e validada constitui-se na diluição do conteúdo de uma cápsula (20mg) em 30mL de água livre de dióxido de carbono. A titulação é feita com hidróxido de sódio 0,025N. Cada mL gasto equivale a 4,105mg de enalapril.

#### **6.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de enalapril por Espectrometria de absorção no ultravioleta**

Não foram encontrados métodos espectrofotométricos de absorção no ultravioleta para formulações de comprimidos ou cápsulas contendo o fármaco enalapril.

A metodologia desenvolvida e validada para o doseamento do fármaco foi aplicada e validada para doseamento de cápsulas de enalapril.

Foi feita uma curva de calibração com a matéria-prima, a partir de uma solução estoque a 1mg/mL do fármaco em solução de ácido clorídrico 0,1N. Esta solução foi diluída dez vezes de forma a obter solução com 100µg/mL, a partir da qual foram feitas diluições para a construção de uma curva de calibração de 2 a 36µg/mL. A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata, e foram realizadas três curvas, em dias diferentes, sob as mesmas condições experimentais. A equação da reta foi determinada a partir da média das leituras determinadas nos três dias.

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas. Assim, cada cápsula de concentração teórica igual a 20mg foi diluída em 25mL de solução de HCL, obtendo-se então uma solução 800µg/mL. Desta solução a 800µg/mL toma-se 625µl e dilui-se para 5mL, obtendo uma solução 100µg/mL. Por conseguinte, toma-se 1mL desta solução e dilui-se para 5 mL, obtendo uma solução de concentração teórica igual a 20µg/mL. Estas diluições foram preparadas em triplicata, e medidas as absorvâncias a 202nm. Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Cada cápsula de 20mg foi diluída em 25mL de ácido clorídrico 0,1N. Desta solução, tomou-se 3,125mL e diluiu-se para 25mL, obtendo assim uma solução com

concentração teórica 100µg/mL. A partir desta solução estoque foram feitas quatro diluições a fim de obter 12 µg/mL teóricos de enalapril referente à matéria-prima veiculada na cápsula. A primeira foi diluída em ácido clorídrico 0,1N. Às demais foram adicionadas alíquotas de uma solução 100µg/mL de SQR, a fim de obter concentrações finais 16, 20 e 24µg/mL, dos quais 4, 8 e 12µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 12µg/mL teóricos são referentes à cápsula em análise. Determinou-se as absorbâncias a 202nm destas soluções, e utilizou-se a equação da reta para determinar as concentrações de SQR recuperadas.

#### **6.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco citada no item 6.1.1.9.3 foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas.

Cada cápsula de concentração teórica igual a 20mg foi diluída em 100mL de fase móvel, obtendo uma solução com concentração teórica igual a 200µg/mL. Estas diluições foram injetadas no cromatógrafo sob as mesmas condições experimentais descritas no item 6.1.1.9.3. As análises foram feitas em triplicata.

Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Dissolveu-se 1 cápsula de 20mg para 25mL de fase móvel, obtendo assim uma solução de concentração teórica igual a 800µg/mL. Da mesma forma, tomou-se

20mg de SQR, e diluiu-se para 20mL de fase móvel, obtendo assim concentração teórica igual a 800 $\mu$ g/mL.

Da solução contendo a cápsula, foram feitas diluições na fase móvel a fim de atingir concentração teórica final igual a 48 $\mu$ g/mL. Da solução de SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 48 $\mu$ g/mL de cápsula, a fim de obter concentrações finais 100, 200 e 300  $\mu$ g/mL, dos quais 52, 152 e 252 $\mu$ g/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 48 $\mu$ g/mL é referente à cápsula em análise. As amostras foram injetadas no cromatógrafo sob as mesmas condições descritas no item 6.1.1.9.3. As análises foram realizadas em triplicata e determinado o percentual de recuperação.

#### **6.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de enalapril**

Não foi encontrada metodologia farmacopéica para a determinação do tempo de dissolução de cápsulas de enalapril.

O meio de dissolução utilizado é o especificado na Farmacopéia Americana para comprimidos de enalapril, e constitui-se de água, à 37°C,

Inicialmente, determinou-se o espectro de absorção no Ultravioleta entre 200 e 400nm, de uma solução a 22 $\mu$ g/mL de enalapril diluído em água a fim de identificar o comprimento de onda onde ocorre a absorção máxima.

Foi preparada uma curva de calibração a partir de uma solução com 400 $\mu$ g/mL de matéria-prima diluída em água, com concentrações variando de 10 a 30  $\mu$ g/mL. A absorbância de cada ponto no comprimento de onda determinado foi medida em triplicata.

O aparato utilizado é a cesta para agitação do meio de dissolução, descrita na Farmacopéia Brasileira (FB, 1988).

Foram feitas seis determinações, tomando-se alíquotas do conteúdo da cuba após 30 minutos e diluídas a fim de se obter 22 $\mu$ g/mL teóricos no caso de diluição total.

As amostras foram doseadas em espectrofotômetro a 202nm e a curva de calibração da matéria-prima diluída em água foi utilizada para determinar o teor encontrado na amostra. Foi determinada a porcentagem de dissolução considerando-se 22  $\mu$ g/mL como o valor de referência para 100% de dissolução.

#### **6.1.3.4 Análise da interação de enalapril com excipientes pela técnica de Difração de raio-X**

A metodologia utilizada está descrita nas metodologias gerais no item 4.3.4.

## **6.2 Resultados e discussão para o enalapril**

### **6.2.1 Controle de qualidade de enalapril matéria-prima e qualificação de padrão Secundário**



As análises foram realizadas com a mesma matéria-prima usada para manipulação das cápsulas. Paralelamente, alguns dos ensaios foram realizados com amostras de outro lote de enalapril, com o intuito de qualificá-lo como substância química de referência (SQR), e comparação de resultados. Os ensaios foram caracteres organolépticos, solubilidade, pH, faixa de fusão e doseamento.

#### **6.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de enalapril**

A matéria prima analisada apresenta-se como pó branco, de acordo com as referências farmacopéicas. (USP, 2000; BP 2000; EP 2001; O'Neil, 2001)

A SQR apresentou as mesmas características.

#### **6.2.1.2 Análise da solubilidade de enalapril**

Tanto a matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas quanto a SQR apresentaram-se solúveis em água, etanol 96, e em solução diluída de hidróxido de sódio e muito solúvel em metanol. Apresentam conformidade com as referências adotadas (Reynolds, 1996; USP, 2000; BP 2000; EP 2001; O'Neil, 2001).

#### **6.2.1.3 Determinação de pH de enalapril**

O pH medido em 3 determinações foi 2,6, tanto para o fármaco quanto para a SQR, apresentando conformidade com o especificado na literatura, que é de 2,4 a 2,9 (EP, 2000).

#### **6.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de enalapril**

A faixa de fusão encontrada tanto para a matéria prima quanto para a SQR manteve-se entre 143 a 145°C, utilizando-se ambos os equipamentos mencionados nas metodologias, estando conforme com as especificações da Farmacopéia Européia (EP, 2001).

#### **6.2.1.5 Análise da densidade de enalapril**

A densidade aparente encontrada para a matéria-prima foi 0,46g/mL. Este é um ensaio de caráter informativo, relacionado ao lote específico de cada matéria-prima, que possibilita determinar a quantidade de excipiente que será utilizada para a manipulação das cápsulas, uma vez determinada também a densidade do excipiente.

#### **6.2.1.6 Determinação de umidade de enalapril**

Houve uma perda de 0,5% do peso de amostras de 1g de enalapril em secagem em estufa a 105°C por 3 horas. O ensaio foi realizado em triplicata e as amostras encontram-se dentro do limite de 1% especificado na literatura (EP, 2001).

#### **6.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de enalapril fornecido pelo fabricante**

Das análises realizadas, as características organolépticas, a solubilidade, o ponto de fusão, a perda por dessecação são citadas no laudo do fornecedor e os resultados são conformes tanto para a matéria prima quanto para a SQR. O teor também está em conformidade com o laudo, tanto da matéria-prima, quanto da SQR, conforme será visto nos resultados das análises de doseamento.

#### **6.2.1.8 Identificação de enalapril por espectrometria no Infra-vermelho**

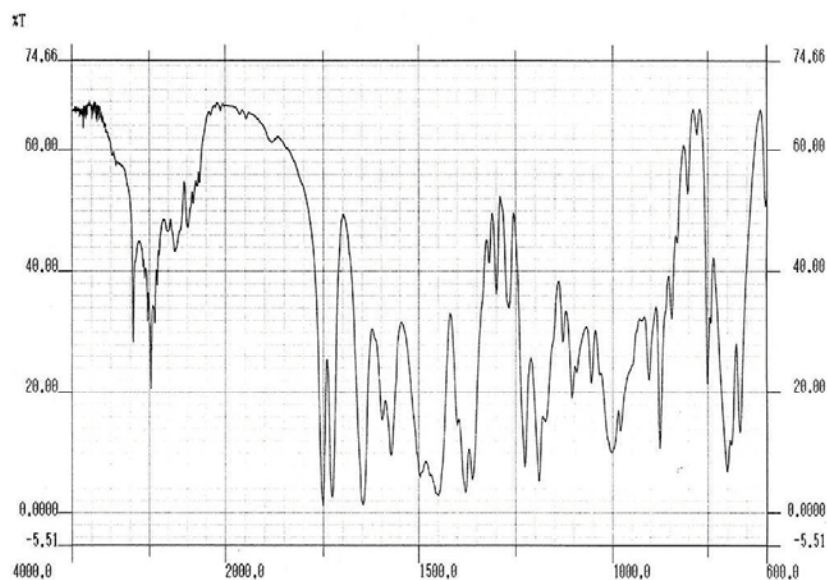
Não foi encontrado espectro IV na literatura para o enalapril, porém, o

espectro IV obtido para o enalapril demonstrou sobreposição ao espectro obtido sob as mesmas condições para a substância química de referência adotada como padrão, mostrando-se correspondente e atestando a identidade do fármaco.

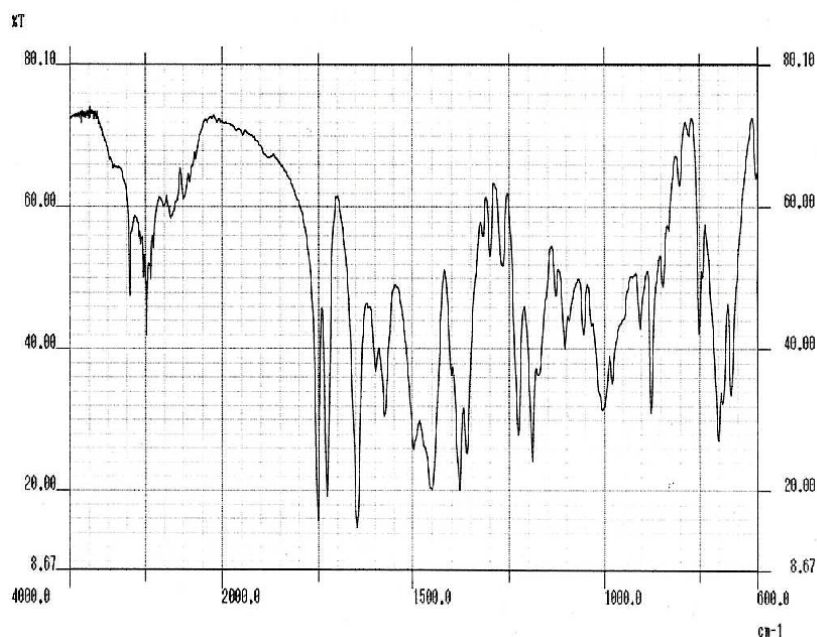
Entre 1650 e 1750  $\text{cm}^{-1}$  observam-se três bandas referentes aos grupamentos amida, ácido carboxílico e éster presentes na estrutura do fármaco.

Por volta de 3250  $\text{cm}^{-1}$  detecta-se o sinal atribuível à amina da estrutura.

Pequenos estiramentos acima e abaixo de 3000  $\text{cm}^{-1}$  demonstram a presença de ligação Carbono-Hidrogênio aromático e alifático (Silverstain, 2000).



**Figura 29: Espectro IV obtido para enalapril– SQR**



**Figura 30: Espectro IV obtido para enalapril– matéria-prima**

### 6.2.1.9 Doseamento de enalapril

#### 6.2.1.9.1 Doseamento de enalapril por Titulação Potenciométrica

A primeira etapa foi o doseamento do padrão secundário, avaliando a precisão através do parâmetro da repetibilidade. O teor foi determinado em seis amostras e os resultados podem ser visualizados na tabela abaixo.

**Tabela 18: Determinação de teor de enalapril – SQR por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) ± dp</b> | <b>Coefficiente<br/>Variação (%)</b> |
|----------------|-----------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 1              | 105,16          | 105,24 ±<br>1,11      | 1,05                                 |
| 2              | 103,64          |                       |                                      |
| 3              | 104,44          |                       |                                      |
| 4              | 106,58          |                       |                                      |
| 5              | 106,33          |                       |                                      |
| 6              | 105,32          |                       |                                      |

O método mostrou-se preciso, pois apresentou baixo coeficiente de variação. No entanto, o teor determinado encontra-se fora dos limites de 98,0 a 102,0 % tolerados pela Farmacopéia Americana e dos especificados pela Farmacopéia Britânica que são de 98,5 a 101,5%.

O laudo do fabricante apresenta como teor do padrão 99,8 %. Assim, o resultado encontrado apresenta percentual de concordância de 105,45 %. Embora a variação do percentual de concordância seja próxima a 5 %, o método não foi considerado exato, pois esta variação não se encontra dentro dos limites de teor delineados nas farmacopéias para o fármaco.

O doseamento da matéria-prima foi realizado baseando-se em parâmetros que validam o método utilizado. Primeiramente analisou-se a precisão, através da repetibilidade obtida no doseamento de seis amostras, conforme resultados apresentados na tabela abaixo.

**Tabela 19: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>Coeficiente<br/>Variação (%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| 1              | 101,82          | 102,54 $\pm$ 0,79                    | 0,77%                               |
| 2              | 102,50          |                                      |                                     |
| 3              | 101,73          |                                      |                                     |
| 4              | 103,83          |                                      |                                     |
| 5              | 103,03          |                                      |                                     |
| 6              | 102,32          |                                      |                                     |

O método mostrou-se preciso, pois apresentou baixo coeficiente de variação na determinação de enalapril em amostras do fármaco analisadas no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. Porém, da mesma forma que os

resultados obtidos para a SQR, o teor determinado encontra-se fora dos limites de teor tolerados pelas farmacopéias. O método também não foi considerado exato no doseamento da matéria-prima, pois o percentual de concordância em relação ao teor declarado pelo fabricante foi de 102,95 %, excedendo os limites de teor delineados nas farmacopéias para o fármaco.

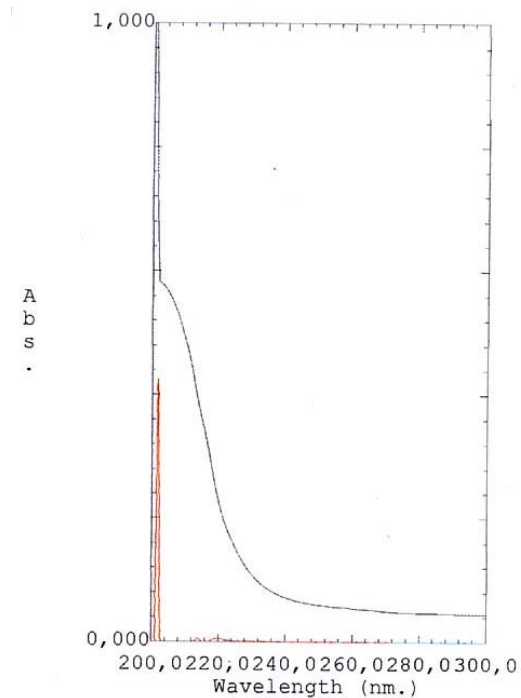
Observa-se que tanto os teores obtidos para a SQR quanto para a matéria-prima apresentaram percentuais de concordância superiores a 100 %. Assim, sugere-se a existência de uma interferência positiva nos teores de enalapril determinados por titulação potenciométrica. Outra hipótese seria a ocorrência de um erro sistemático nas determinações de enalapril, proveniente de erro no preparo da solução titulante ou alguma outra interferência não detectada.

Em virtude de os demais testes realizados tanto com a SQR quanto com a matéria-prima, terem apresentado resultados conformes, sugere-se que o problema ocorrido tenha sido na reprodução do método de titulação potenciométrica com a exatidão requerida, não significando necessariamente, inconformidade das substâncias analisadas. Assim, justifica-se o uso da SQR e da matéria-prima, desde que são adotados como referência os teores declarados pelo fabricante de 99,8 e 99,6%, respectivamente, e validados seus usos pela comparação com os resultados obtidos pelas metodologias de espectrometria de absorção no ultravioleta e CLAE.

Os percentuais de concordância obtidos para o doseamento do fármaco por espectrometria de absorção no ultravioleta e CLAE são 103,60 e 99,83%, respectivamente.

#### **6.2.1.9.2 Doseamento de enalapril por Espectrometria de absorção no UV**

O espectro de absorção entre 200 e 300 nm na região do UV de uma solução teste contendo 20 µg/mL de enalapril diluído em ácido clorídrico 0,1 N, apresentou um espectro de absorção no qual não foi possível detectar o máximo de absorção. No entanto, traçando-se a curva derivada de primeira ordem deste espectro, pode-se detectar a presença de um pico de absorção máxima a 202 nm, conforme apresentado na figura abaixo.



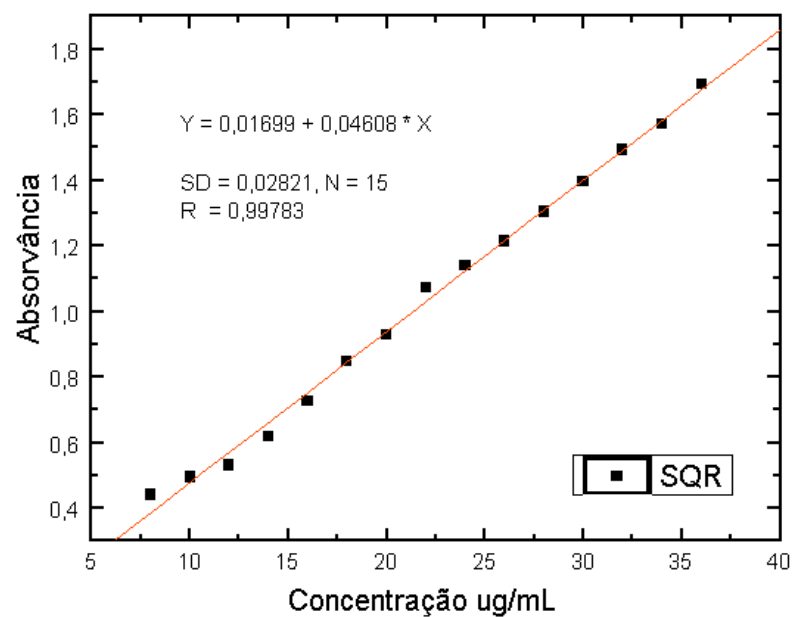
**Figura 31: Espectro de absorção (200 – 300 nm) na região do UV de uma solução teste (em preto) com a respectiva curva derivada de primeira ordem (em vermelho)**

A princípio, a diferenciação não aumenta o conteúdo da informação do espectro direto (não diferenciado), mas geralmente proporciona perfil característico, onde mudanças sutis de inclinação e curvatura se tornam mais evidentes, facilitando assim a caracterização de um composto. Além disso, a diferenciação afina as bandas de absorção e permite isolar aquelas que estão parcialmente encobertas (Hackmann, 1991).



Assim, a utilização da curva derivada de primeira ordem fornecida pelo espectrofotômetro equipado com dispositivo que traça automaticamente a derivada a partir do espectro de absorção obtido auxiliou na detecção do comprimento de onda de maior absorção.

Construiu-se então a curva de calibração a 202nm. A curva com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99783 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima. A faixa determinada foi 2 a 36µg/mL. No entanto, pode-se verificar que com o aumento da concentração, há o aumento da linearidade.



**Figura 32: Curva de Calibração de enalapril SQR por espectrometria –UV**

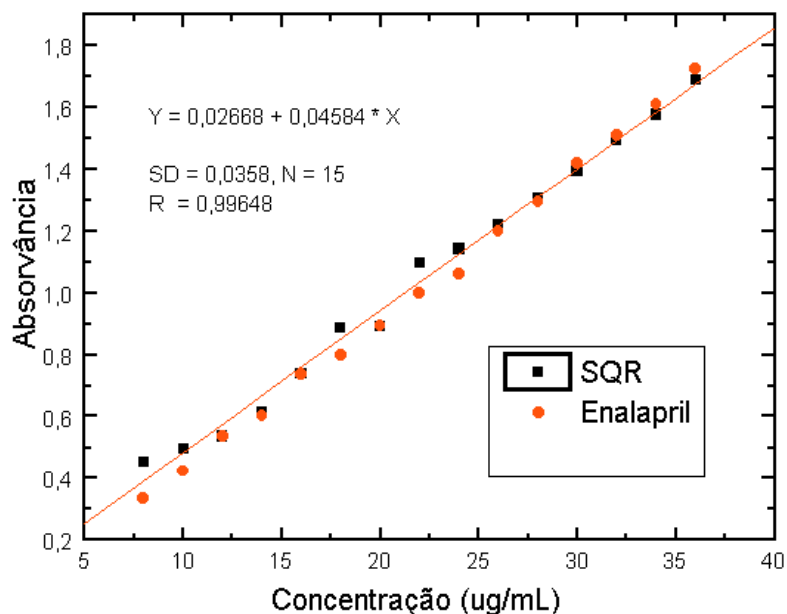
O teor determinado de matéria-prima foi calculado a partir da equação da reta obtida com o padrão, considerando-se que a substância química de referência

possui 99,8 % de teor. Fez-se seis diluições da matéria-prima com concentração teórica 20 µg/mL. A média dos teores determinados foi 98,98 % de matéria – prima calculado a partir da curva de calibração feita com a substância química de referência. O teor determinado encontra-se dentro dos limites de 98 a 102 % tolerados pela Farmacopéia Americana, e de 98,5 a 101,5 % pela Farmacopéia Britânica (EP, 1997; USP, 2000). Além disso, o percentual de concordância com o teor especificado pelo laudo do fabricante também encontra-se dentro desta faixa de tolerância, calculado em 99,37 %. A precisão foi demonstrada pelo baixo coeficiente de variação conforme observado na tabela seguinte.

**Tabela 20: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por Espectrometria de absorção no ultravioleta**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) ± dp</b> | <b>Coefficiente Variação (%)</b> |
|----------------|-----------------|-----------------------|----------------------------------|
| 1              | 99,62           | 98,98 ± 0,79          | 0,79                             |
| 2              | 99,62           |                       |                                  |
| 3              | 97,99           |                       |                                  |
| 4              | 99,08           |                       |                                  |
| 5              | 99,62           |                       |                                  |
| 6              | 97,99           |                       |                                  |

As mesmas diluições empregadas na construção da curva de calibração feita com a SQR foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99648, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR bem como a exatidão do método.



**Figura 33: Comparação das curvas de calibração de enalapril SQR e matéria-prima por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A exatidão do método foi verificada através do percentual médio de recuperação obtido igual a 100,29% e coeficiente de variação igual a 4,64%. Os resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela abaixo.

**Tabela 21: Teste de recuperação para enalapril por espectrometria de absorção no UV**

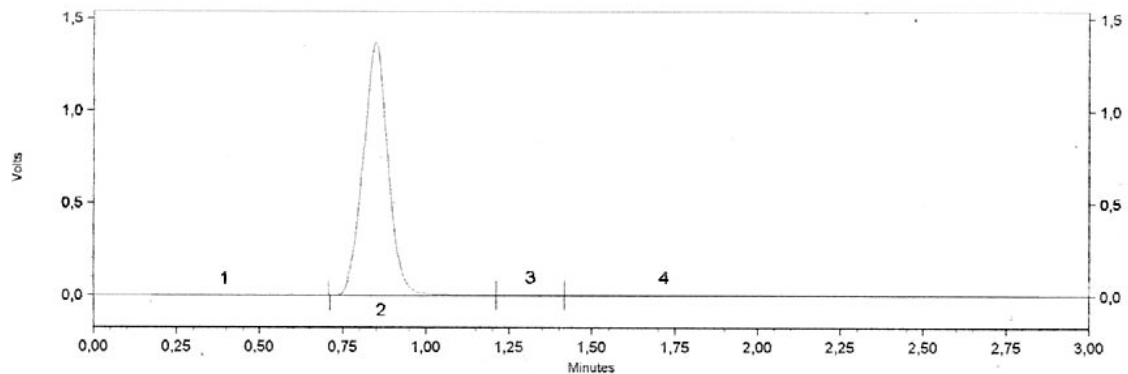
| Concentração inicial (MP) (µg/mL) | Quantidade SQR adicionada (µg/mL) | Quantidade recuperada * | % de recuperação | % médio recuperado ± dp | C.V. % |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|--------|
| 12                                | 3,72                              | 3,93                    | 105,66           | 100,29 ± 4,65           | 4,64%  |
| 12                                | 7,44                              | 7,25                    | 97,45            |                         |        |
| 12                                | 11,16                             | 10,91                   | 97,76            |                         |        |

\*Cada valor é média de três determinações.

### 6.2.1.9.3 Doseamento de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta eficiência

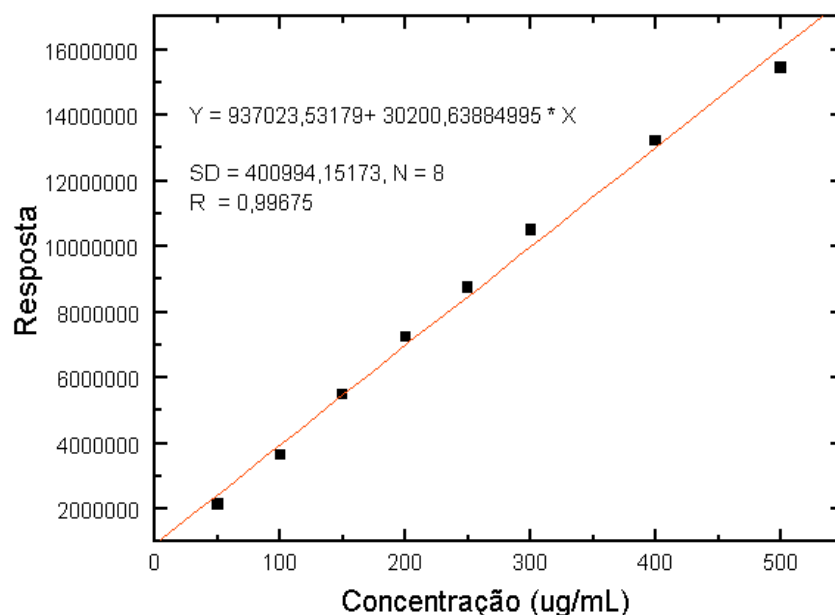
Amostras na faixa de 50 a 500 $\mu$ g/mL foram diluídas na fase móvel e injetadas no cromatógrafo sob as condições descritas em 6.1.1.9.3.

A injeção de uma solução contendo 200 $\mu$ g/mL de enalapril substância química de referência resultou no cromatograma abaixo.



**Figura 34: Cromatograma obtido para diluição de enalapril SQR a 200  $\mu$ g/mL**

A curva de calibração para a faixa determinada de 50 a 500  $\mu$ g/mL com a respectiva regressão linear obtida para a SQR é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99675 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima.



**Figura 35: Curva de Calibração de enalapril SQR por CLAE**

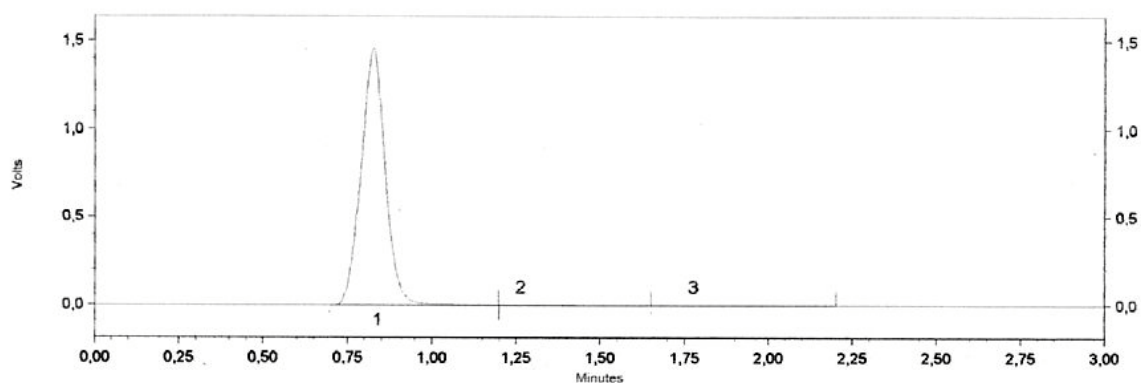
Esta curva de calibração foi usada para calcular o teor da matéria-prima. Fez-se seis diluições da mesma com 200  $\mu\text{g/mL}$  de concentração teórica. A média dos valores encontrados foi 102,71% de matéria-prima calculado a partir da curva de calibração feita com a substância química de referência. O método mostrou-se preciso, pois apresentou baixo coeficiente de variação. No entanto, o teor determinado encontra-se fora dos limites de 98,0 a 102,0 % tolerados pela Farmacopéia Americana, e pela Farmacopéia Britânica que é de 98,5 a 101,5% (USP, 2000; BP, 2000).

**Tabela 22: Determinação de teor de matéria-prima enalapril por CLAE**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) $\pm$<br>dp | C.V. (%) |
|---------|----------|-----------------------|----------|
|         |          |                       |          |

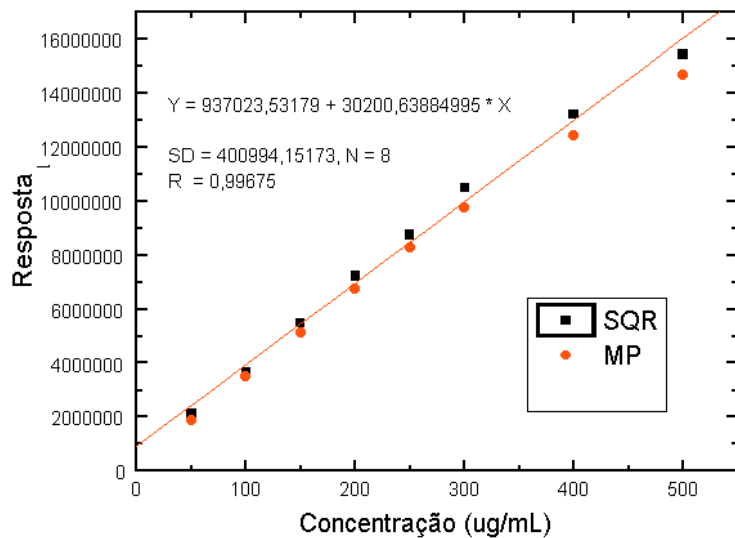
|   |        |               |      |
|---|--------|---------------|------|
| 1 | 99,76  | 102,71 ± 1,77 | 1,72 |
| 2 | 104,17 |               |      |
| 3 | 104,22 |               |      |
| 4 | 101,39 |               |      |
| 5 | 103,13 |               |      |
| 6 | 103,57 |               |      |

A injeção de uma solução contendo 200 µg/mL de enalapril matéria-prima resultou no cromatograma abaixo.



**Figura 36: Cromatograma obtido para diluição de enalapril matéria-prima a 200 µg/mL**

As mesmas diluições empregadas na construção desta curva de calibração foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99675, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR bem como a exatidão do método. A curva de calibração da matéria-prima será usada para doseamento das cápsulas manipuladas.



**Figura 37: Comparação das curvas de calibração de enalapril SQR e matéria-prima por CLAE**

A exatidão do método não pode ser verificada pelo percentual médio de recuperação obtido igual a 96,26%, em virtude do elevado coeficiente de variação.

Os resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela seguinte. Observando-se a tabela, pode-se notar que o percentual de recuperação obtido na adição de 50 µg/mL de SQR, foi baixo, refletindo no coeficiente de variação elevado. No entanto, para as demais concentrações adicionadas, o percentual de recuperação foi ótimo, mantendo-se próximo a 100 %, dentro de uma faixa de variação de  $\pm 5\%$ . Assim, o método se mostrou exato apenas na faixa de 200 a 300 µg/mL.

**Tabela 23: Teste de recuperação para enalapril por CLAE**

| Concentração inicial (MP) (µg/mL) | Quantidade SQR adicionada (µg/mL) | Quantidade recuperada * | % de recuperação | % médio recuperado $\pm$ dp | C.V. % |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------|-----------------------------|--------|
| 50                                | 50                                | 41,06                   | 82,12            | 96,26% $\pm$ 12,26          | 12,74  |
| 50                                | 150                               | 155,84                  | 103,89           |                             |        |
| 50                                | 250                               | 256,96                  | 102,78           |                             |        |

\*Cada valor é média de três determinações.

## 6.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de enalapril manipuladas

### 6.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de enalapril

O peso médio determinado em 20 unidades foi igual a 0,156. Das vinte unidades analisadas, nenhuma excedeu a variação de 5% deste valor. As cápsulas encontram-se conformes no requisito uniformidade de peso, cujos limites especificados na FB IV para cápsulas de até 80 mg é igual a 10% de variação. Os pesos individuais das cápsulas podem ser vistos na tabela abaixo.

**Tabela 24: Variação de peso e peso médio em gramas das cápsulas de enalapril**

|   |       |                              |       |
|---|-------|------------------------------|-------|
| 0,156                                     | 0,153 | 0,153                        | 0,156 |
| 0,157                                     | 0,159 | 0,155                        | 0,157 |
| 0,152                                     | 0,158 | 0,157                        | 0,157 |
| 0,155                                     | 0,162 | 0,159                        | 0,154 |
| 0,158                                     | 0,148 | 0,158                        | 0,158 |
| Média: 0,1561g    Desvio padrão: 0,002982 |       |                              |       |
| Limites de variação                       |       | +10% = 0,172<br>- 10%= 0,141 |       |

### 6.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de enalapril

#### 6.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de enalapril por Titulação Potenciométrica



As cápsulas manipuladas foram analisadas individualmente por titulação potenciométrica, conforme descrito em 6.1.3.2.1. No entanto, os valores dos potenciais obtidos, extrapolaram os valores esperados, indicando interferência dos excipientes na determinação do fármaco.

O principal interferente é o bicarbonato de sódio, pois altera o pH da solução formada com a diluição do conteúdo das cápsulas, alterando assim, também a determinação potenciométrica.

Para testar se o único interferente no método é o bicarbonato de sódio, testou-se a especificidade do método na presença de excipientes. Para tal, pesou-se exatamente cerca de 20mg de enalapril e demais excipientes exceto bicarbonato de sódio, na mesma quantidade presente nas cápsulas, para simular o conteúdo de uma cápsula, procedendo a titulação conforme descrito no item 6.1.3.2.1. Os resultados podem ser observados na tabela abaixo.

**Tabela 25: Determinação de teor de enalapril na presença dos excipientes da cápsulas exceto bicarbonato de sódio por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. (%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| 1              | 112,02          | 109,27 $\pm$ 4,28                    | 3,92%           |
| 2              | 107,42          |                                      |                 |
| 3              | 105,45          |                                      |                 |
| 4              | 104,29          |                                      |                 |
| 5              | 110,96          |                                      |                 |
| 6              | 115,48          |                                      |                 |

A titulação de amostras contendo o fármaco e os demais excipientes na ausência do bicarbonato de sódio foi 109,27%. Os resultados apresentaram coeficiente de variação igual a 3,92%, mostrando que o método é relativamente

preciso. No entanto a determinação de teor obteve resultados acima dos esperados, mostrando que os excipientes interferem na especificidade e exatidão do método.

A determinação da especificidade é extremamente importante durante a validação de um método não cromatográfico, porque este não contém uma fase de separação que garanta a não interferência dos excipientes.

A especificidade de um procedimento analítico é determinada através da análise de uma amostra ou amostras, contendo espécies interferentes em potencial, no caso os excipientes, demonstrando a capacidade do método em gerar informações confiáveis mesmo na interferência dessas espécies (Brittain, 1998).

O percentual de concordância obtido para a determinação da matéria-prima na presença de excipientes em relação ao obtido com a matéria-prima na ausência destes, determinada no item 6.1.1.9.1, foi 106,56%. O valor acima de 100% indica a existência de uma interferência positiva no doseamento.

Ainda assim, foi manipulado um lote especial sem bicarbonato de sódio, porem com todos os demais excipientes, apenas para testar o método para cápsulas.

**Tabela 26: Doseamento individual de cápsulas de enalapril (lote sem bicarbonato) por titulação potenciométrica.**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. (%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| 1              | 115,95          | 111,44 $\pm$ 3,59                    | 3,22            |
| 2              | 111,85          |                                      |                 |
| 3              | 111,85          |                                      |                 |
| 4              | 109,8           |                                      |                 |
| 5              | 107,75          |                                      |                 |
| 6              | 107,75          |                                      |                 |
| 7              | 118             |                                      |                 |
| 8              | 109,8           |                                      |                 |
| 9              | 107,75          |                                      |                 |

|    |       |  |  |
|----|-------|--|--|
| 10 | 113,9 |  |  |
|----|-------|--|--|

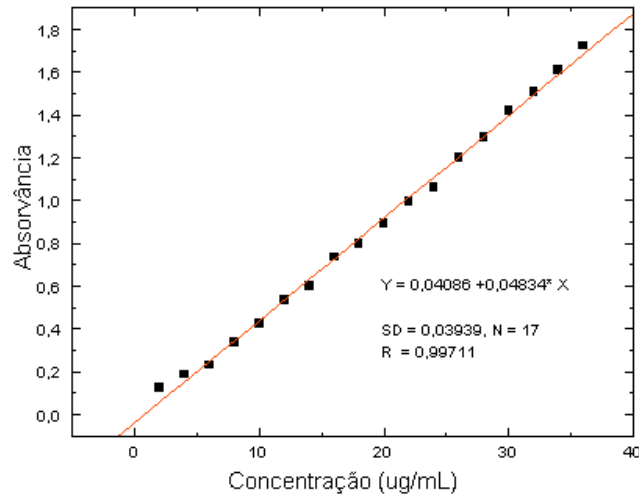
Conforme esperado, os resultados obtidos encontram-se acima dos limites especificados pela farmacopéia americana para comprimidos de enalapril o qual é de 90 a 110% do teor declarado. Embora tenha demonstrado relativa precisão pelo coeficiente de variação de 3,22%, o método não se mostrou apropriado para o doseamento das cápsulas (USP, 2000).

Porém os resultados aqui obtidos não podem ser comparados com os doseamentos das cápsulas testadas por espectrometria de absorção no UV e CLAE para cápsulas, pois não se referem ao mesmo lote de cápsulas, embora contenham a mesma matéria-prima.

#### **6.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de enalapril por Espectrometria de absorção no UV**

A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

A curva de calibração determinada na faixa de 2 a 36 $\mu$ g/mL com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99711 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a autenticidade dos resultados.



**Figura 38: Curva de Calibração de enalapril - matéria-prima por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A precisão do método através do parâmetro repetibilidade, bem como a uniformidade de conteúdo foram demonstradas pelo coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento de 10 cápsulas, individualmente. Os resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela abaixo, considerando 100% de teor a concentração igual a 20µg/mL que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 27: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de enalapril por espectrometria-UV**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) ± dp | Coefficiente de Variação (%) |
|---------|----------|----------------|------------------------------|
| 1       | 105,9    | 97,58% ± 3,99  | 4,09                         |
| 2       | 99,7     |                |                              |
| 3       | 99,5     |                |                              |
| 4       | 93,4     |                |                              |

|    |       |  |  |
|----|-------|--|--|
| 5  | 98,05 |  |  |
| 6  | 95,85 |  |  |
| 7  | 99,05 |  |  |
| 8  | 97,2  |  |  |
| 9  | 91,2  |  |  |
| 10 | 95,95 |  |  |

Os resultados da determinação dos teores individuais de cada cápsula mantiveram-se dentro dos limites especificados pela Farmacopéia Americana para comprimidos de enalapril o qual é de 90 a 110% do teor declarado (USP, 2000).

A exatidão e a especificidade podem ser demonstradas pela concordância dos resultados com os apresentados pelas outras metodologias. O percentual de concordância em relação aos resultados obtidos para o doseamento das cápsulas por CLAE é 98,87%.

A exatidão foi avaliada através do percentual de recuperação encontrado igual a 96,95, e um baixo coeficiente de variação. Os resultados do teste de recuperação podem ser vistos na tabela abaixo.

**Tabela 28: Teste de recuperação para cápsulas de enalapril por espectrometria-UV**

| <b>Concentração inicial (MP) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. %</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|---|---------------|
| 12   | 4,076  | 3,72                           | 91,26                   | 96,95 $\pm$ 4,92                              | 5,07          |
| 12   | 8,152  | 8,13                           | 99,73                   |   |               |
| 12   | 12,228   | 12,21                          | 99,85                   |   |               |

\*Cada valor é média de três determinações.

### 6.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de enalapril por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

A curva de calibração com a respectiva regressão linear determinada na faixa de 50 a 500 µg/mL é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99795 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a fidedignidade dos resultados.

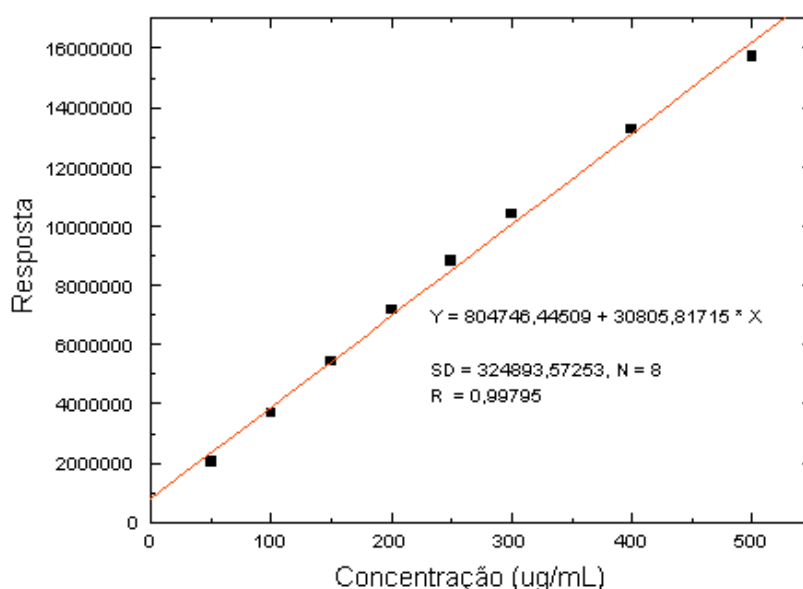
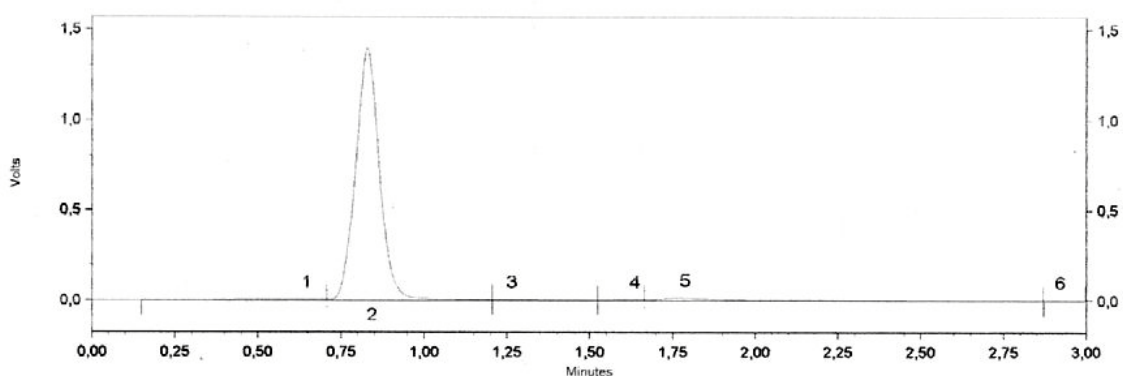


Figura 39: Curva de Calibração de enalapril - matéria-prima por CLAE

A precisão do método foi avaliada através do parâmetro repetibilidade. A uniformidade de conteúdo foi demonstrada pelo coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento de 10 cápsulas, individualmente.

O cromatograma obtido pela análise de uma solução contendo 200 $\mu$ g/mL teóricos de enalapril provenientes da diluição de uma das cápsulas analisadas é mostrado abaixo.



**Figura 40: Cromatograma obtido para diluição de cápsula de enalapril analisada**

Os resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela abaixo, considerando 100% de teor a concentração igual a 200 $\mu$ g/mL que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 29: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de enalapril por CLAE**

| Cápsula | Teor (%) | Média (%) $\pm$ dp | C.V.% |
|---------|----------|--------------------|-------|
| 1       | 100,116  | 98,70 $\pm$ 1,98   | 2,01  |

|    |          |  |  |
|----|----------|--|--|
| 2  | 96,36234 |  |  |
| 3  | 96,45103 |  |  |
| 4  | 98,93081 |  |  |
| 5  | 98,66725 |  |  |
| 6  | 100,2615 |  |  |
| 7  | 97,74594 |  |  |
| 8  | 98,44147 |  |  |
| 9  | 97,1921  |  |  |
| 10 | 102,8152 |  |  |

Os resultados mantiveram-se dentro das especificações delineadas na Farmacopéia Americana para comprimidos de enalapril, que é de 90 a 110% do teor declarado (USP, 2000). A precisão e a homogeneidade de dose foram mostradas pelo baixo coeficiente de variação percentual obtido.

A exatidão do método foi testada através do teste de recuperação, cujos resultados são mostrados abaixo. Embora o percentual de recuperação médio encontrado seja próximo a 100%, o coeficiente de variação entre os resultados encontrados foi elevado. Logo, o percentual de recuperação de 103,11% não pode ser usado para atestar a exatidão do método, pois o percentual de recuperação em cada faixa de concentração determinada variou significativamente.

**Tabela 30: Teste de recuperação para cápsulas de enalapril por CLAE**

| <b>Concentração teórica inicial (Cápsulas) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>%médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V.%</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|--|--------------|
| 48   | 52   | 46,97                          | 90,33                   | 103,11 $\pm$<br>11,10                        | 10,76%       |
| 48   | 152  | 167,81                         | 110,40                  |  |              |

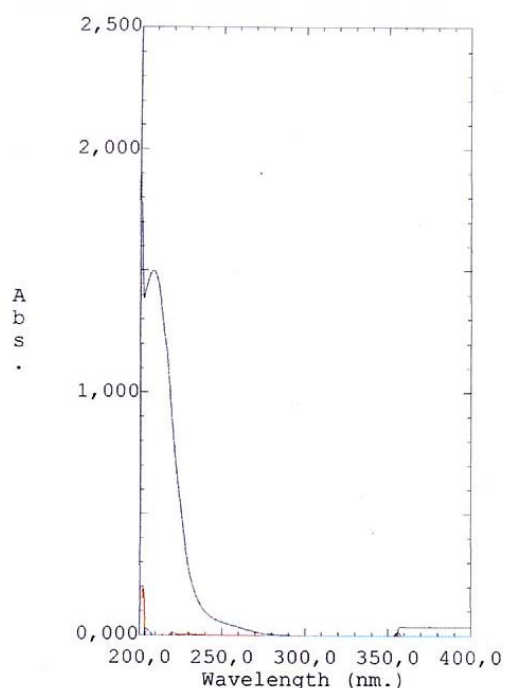


|    |     |        |        |  |  |
|----|-----|--------|--------|--|--|
| 48 | 252 | 273,69 | 108,61 |  |  |
|----|-----|--------|--------|--|--|

\* Cada valor é média de três determinações

### 6.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de enalapril

A curva derivada de primeira ordem do espectro obtido a partir de uma solução a 22 $\mu$ g/mL em água, o meio de dissolução especificado, mostrou um pico de absorção em 207,8 nm, conforme pode-se observar na figura 41 e tabela 30.



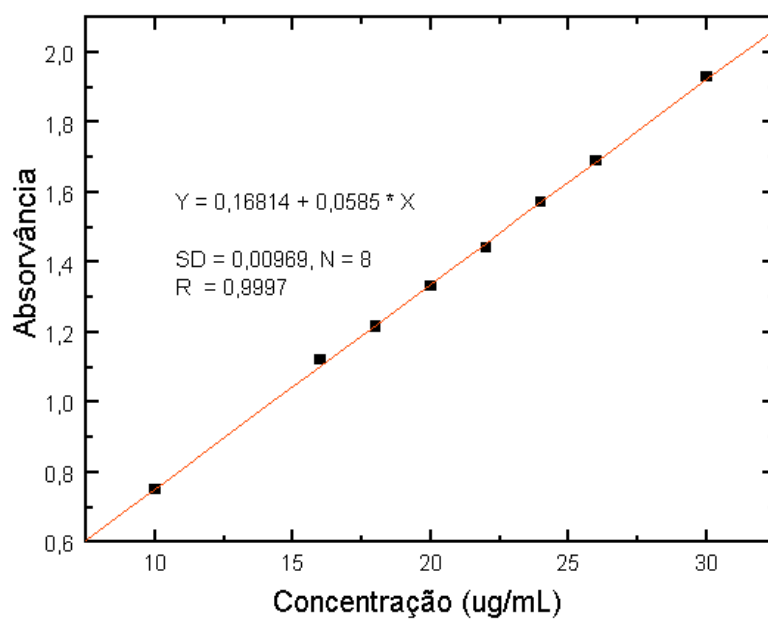
**Figura 41: Espectro de absorção (200-400nm) da solução teste de enalapril (em preto) com a respectiva curva derivada de 1ª ordem (em vermelho)**

**Tabela 31: Absorbâncias medidas em uma solução teste de enalapril**

| Comprimento de Onda (nm) | Absorvância |
|--------------------------|-------------|
| 375                      | 0,0361      |
| 207,8                    | 1,4984      |

Foi escolhido o comprimento de onda igual a 202nm, visto ser este o comprimento de onda para o método de doseamento ultravioleta validado.

A curva de calibração feita com enalapril, do mesmo lote de matéria-prima com que foram manipuladas as cápsulas, em água pode ser observada abaixo, com a respectiva equação da reta e coeficiente de correlação.



**Figura 42: Curva de calibração por espectrometria –UV de enalapril no meio de dissolução**

As porcentagens de dissolução obtidas após 30 minutos são apresentadas na tabela abaixo. Os teores foram calculados considerando-se 100% de dissolução a concentração teórica igual a 22µg/mL. O mínimo de dissolução especificado é 80%.

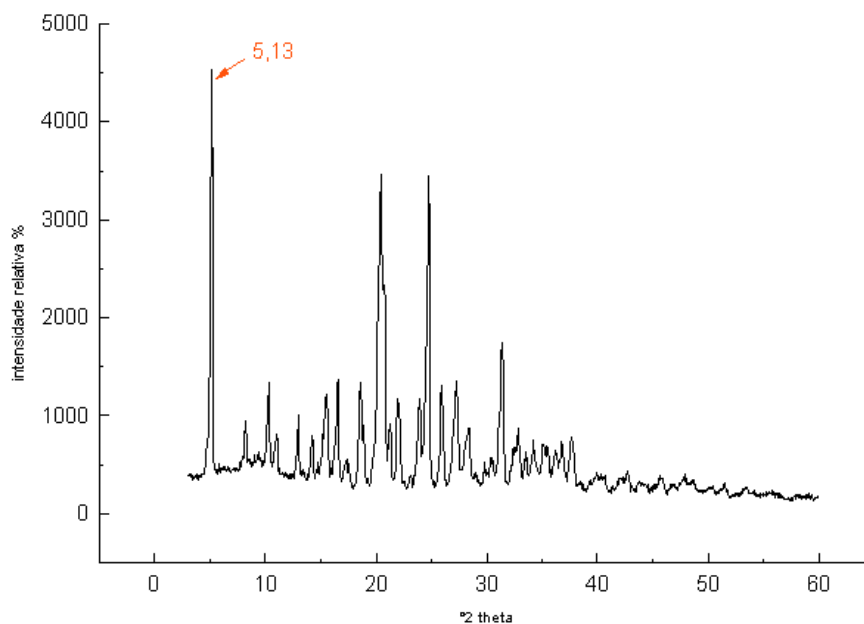
**Tabela 32: Porcentagem de dissolução de cápsulas de enalapril**

| <b>Teor (%)</b> | <b>Média</b>  |
|-----------------|---------------|
| 83,81           | 93,79% ± 6,35 |
| 101,64          |               |
| 90,81           |               |
| 89,55           |               |
| 100,77          |               |
| 96,14           |               |
|                 |               |

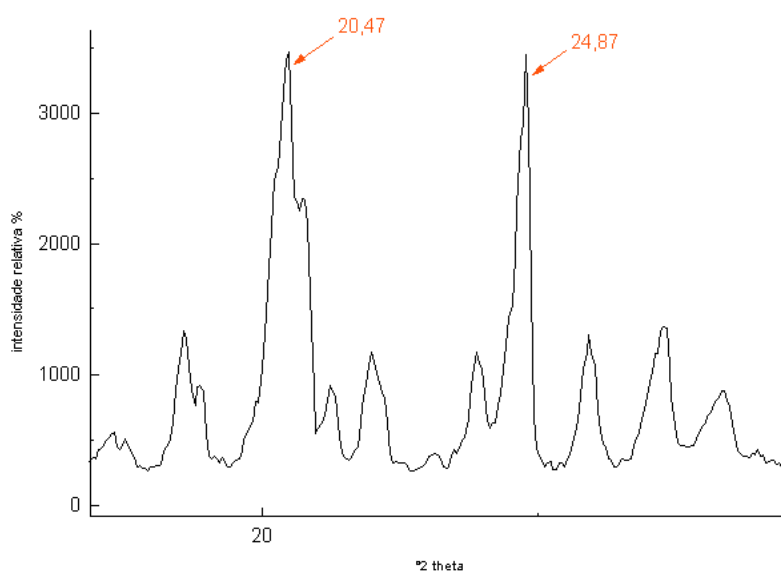
#### **6.2.2.4 Análise da interação de enalapril com excipientes pela técnica de Difração de raio-X**

O difratograma obtido para o fármaco enalapril é apresentado na fig 43.

A partir da figura 43, obteve-se a figura 44, a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 20 a 25 de 2θ.



**Figura 43 - Difratoograma obtido para o fármaco enalapril**

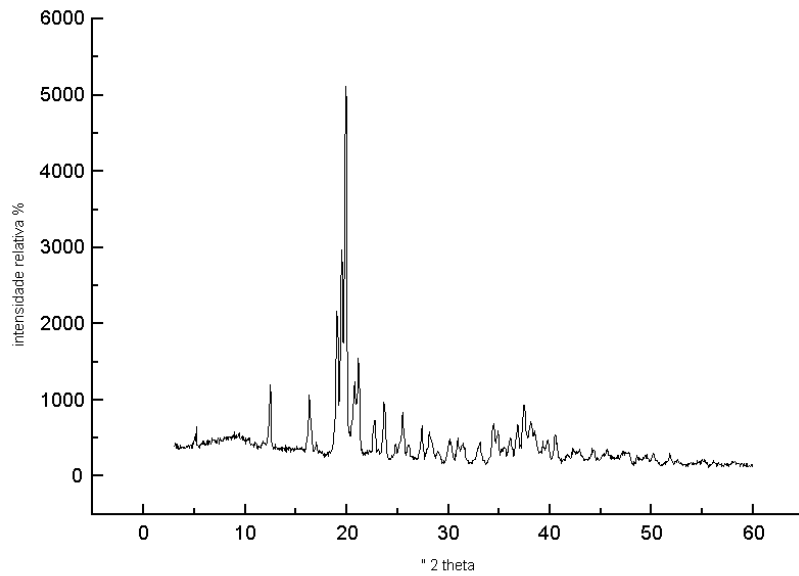


**Figura 44- Faixa de 20 a 25 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o fármaco enalapril**

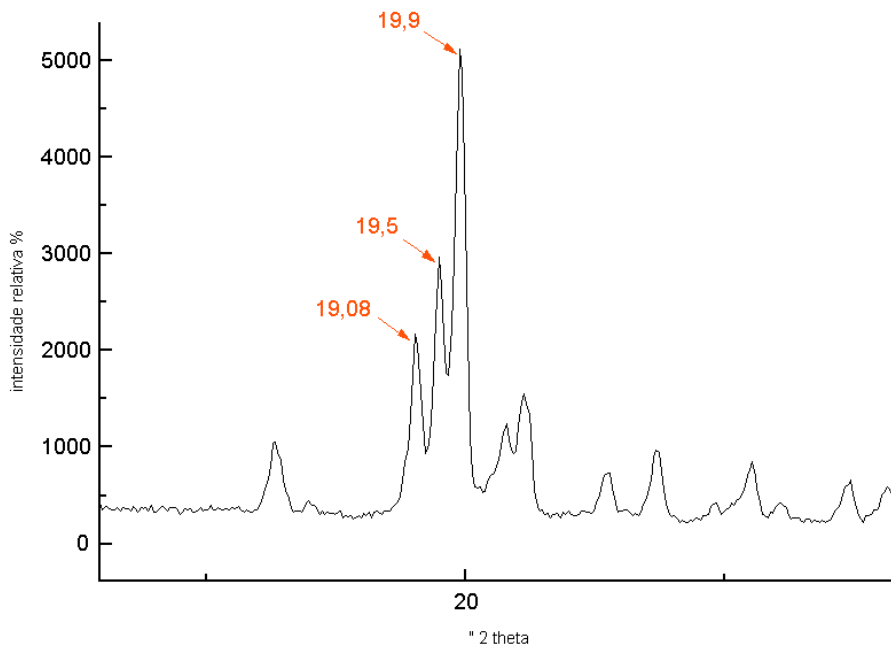
Assim, nas figuras 43 e 44 observa-se que os picos de maior intensidade obtidos para o fármaco enalapril correspondem a  $2\theta = 5,13$ ;  $20,47$  e  $24,87$ , conforme indicado nas respectivas figuras.

O difratograma obtido para as cápsulas manipuladas é apresentado na figura 45. A partir da figura 45 obtém-se a figura 46 a qual corresponde a ampliação da

região correspondente a 15 a 30 de  $2\theta$ . Nesta figura pode-se observar que os picos de maior intensidade correspondem a  $2\theta=19,08$ ;  $19,5$  e  $19,9$ .

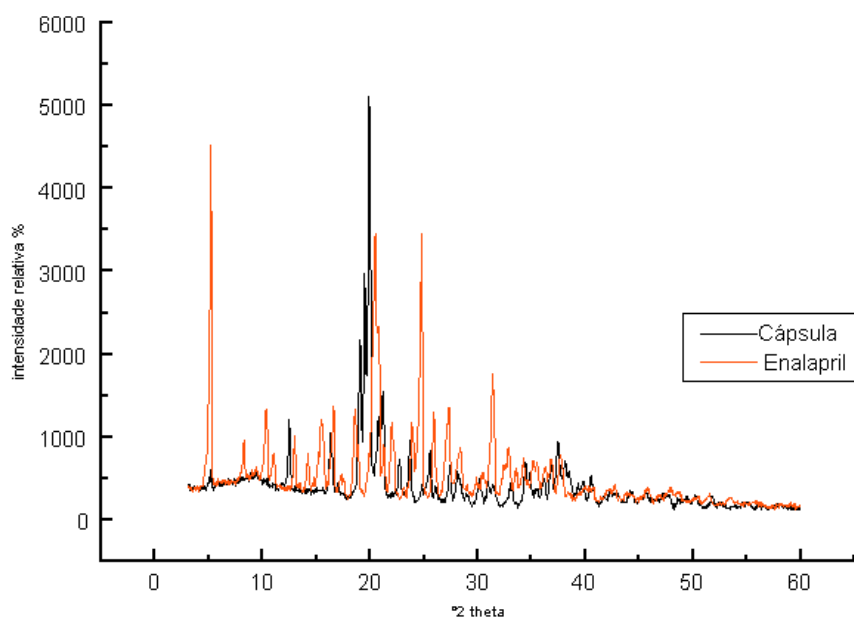


**Figura 45- Difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de enalapril**



**Figura 46- Faixa de 15 a 30 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas de enalapril**

A figura 47 apresenta os difratogramas da cápsula e do fármaco. Observa-se nesta figura que os mesmos não são sobreponíveis.

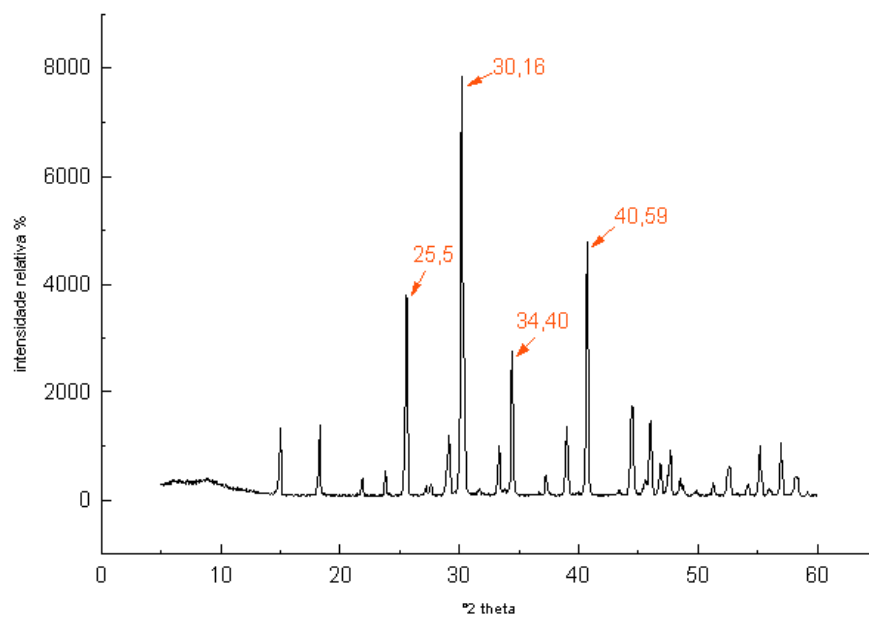


**Figura 47: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de enalapril e fármaco**

Foram obtidos os difratogramas para cada um dos excipientes utilizados na formulação: bicarbonato de sódio, aerosil, lauril sulfato de sódio, estearato de magnésio e lactose.

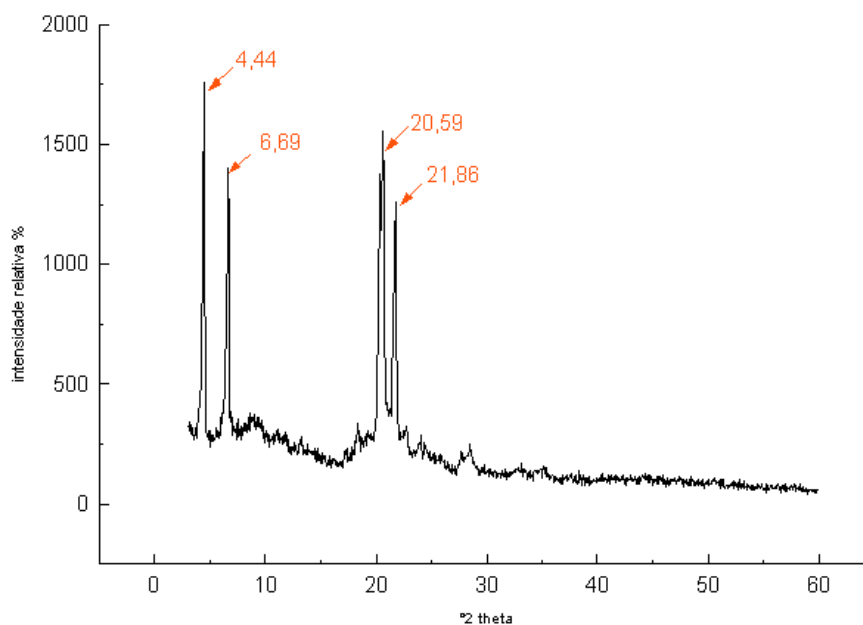
A fim de investigar alterações na estrutura cristalina do fármaco, determinou-se os picos significativos e verificou-se se os mesmos mantiveram-se nas mesmas posições nos difratogramas obtidos para a substância isolada e cápsula (mistura total).

Na figura 48 observa-se que os picos de maior intensidade obtidos para o bicarbonato de sódio correspondem a  $2\theta=25,5$ ;  $30,16$ ;  $34,40$  e  $40,59$ .



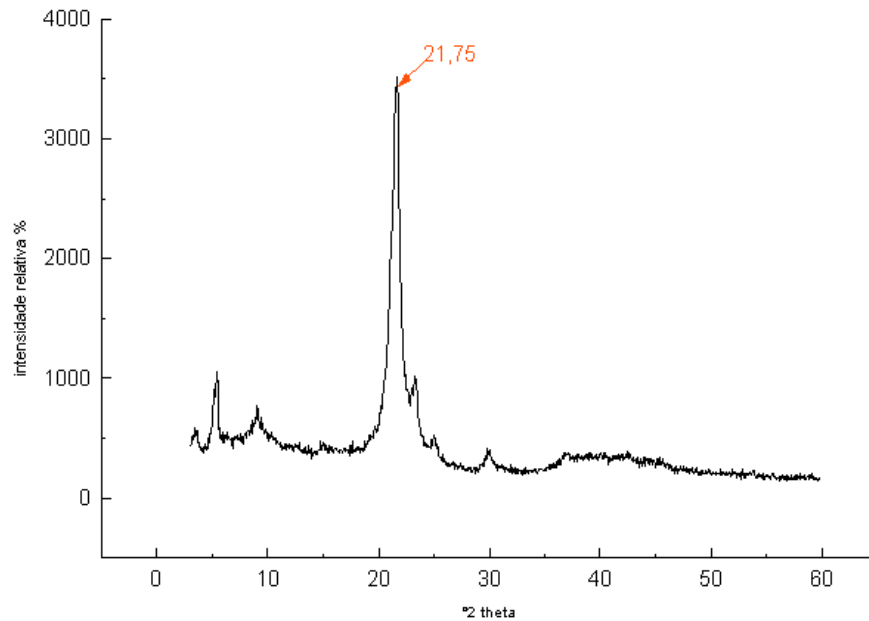
**Figura 48: Difratoograma obtido para o Bicarbonato de Sódio**

Na figura 49 observa-se que os picos de maior intensidade obtido para o Lauril Sulfato de sódio correspondem a  $2\theta=4,44$ ;  $6,69$ ;  $20,59$  e  $21,86$ .



### Figura 49: Difratoograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio

Na figura 50 observa-se que o pico de maior intensidade obtido para o estearato de Magnésio corresponde a  $2\theta=21,75$ .

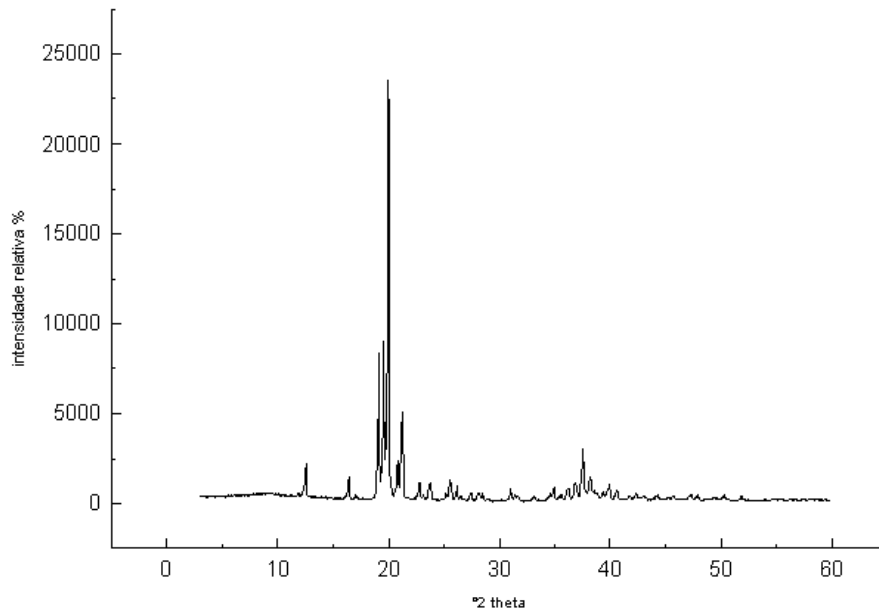


### Figura 50: Difratoograma obtido para o Estearato de Magnésio

O aerosil não apresenta estrutura cristalina, conforme discutido anteriormente no item 5.2.2.4.

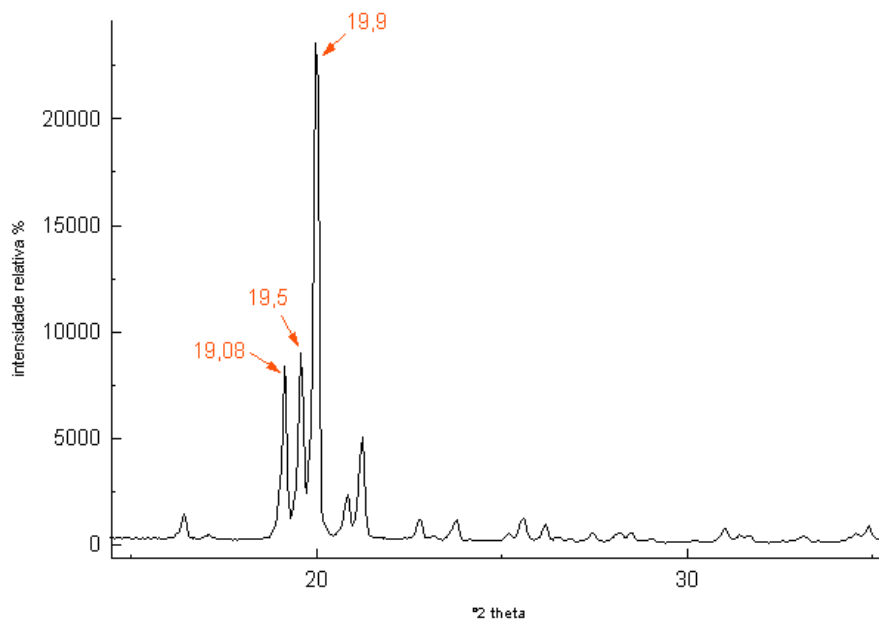
A figura 51 apresenta o difratograma obtido para a lactose





**Figura 51: Difratoograma obtido para a lactose**

A partir da figura 51 obtém-se a figura 52, a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 15 a 30 de  $2\theta$ . Nesta figura pode-se observar que os picos de maior intensidade correspondem a  $2\theta=19,08$ ;  $19,5$  e  $19,9$ .

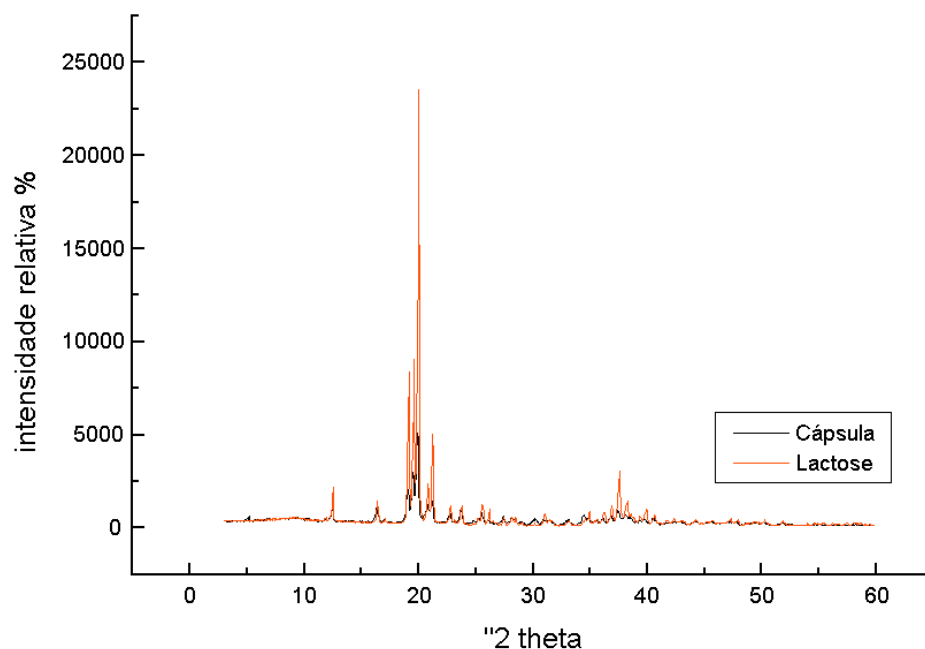


**Figura 52- Faixa de 15 a 30 de  $2\theta$  do difratoograma obtido para a lactose**

Observa-se que os picos mais significativos no difratograma obtido para a lactose, correspondem aos mesmos picos significativos obtidos para as cápsulas, conforme apresentado nas figuras 45 e 46.

Nas figuras 45 e 46, correspondentes à cápsula não detecta-se a presença dos picos dos demais componentes da formulação.

Os difratogramas obtidos para a cápsula e para a lactose estão sobreponíveis na figura 53, o que sugere que o difratograma da cápsula detectou apenas o excipiente lactose.



**Figura 53: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de enalapril e lactose**

A baixa detecção dos demais componentes ocorre devido a encontrarem-se em menor concentração na formulação. O fármaco enalapril corresponde a 10% em peso da formulação. As demais substâncias correspondem a concentrações iguais ou menores do que 5% da formulação.

As intensidades máximas do fármaco enalapril encontram-se próximas a próximos a  $2\theta = 20$ . Estes picos podem estar encobertos pelos picos da lactose que se encontram na mesma região, ou ainda não terem sido detectados.

Não se pode afirmar a ocorrência de alteração da estrutura cristalina do fármaco. Sugere-se, porém que não ocorre a mudança da estrutura visto que não evidencia-se a formação de novos compostos e portanto, pela ausência de deslocamento dos picos nos difratogramas apresentados

Os picos da lactose se encontram nas mesmas posições, provavelmente sobrepondo os picos do enalapril.

## **7. Parte experimental específica propranolol: Metodologias específicas, Resultados e discussão**

### **7.1 Metodologias para o propranolol**

#### **7.1.1 Metodologias de controle de qualidade de propranolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário**

A substância química de referência utilizada no presente trabalho foi adquirida do fornecedor All Chemistry®, pertencente ao lote 20000401 e teor declarado igual a 99,9%. Esta substância foi submetida aos testes de qualificação, conforme descrito no ítem 4.1.

A matéria prima utilizada para a manipulação das cápsulas foi adquirida do fornecedor Galena®, pertencente ao lote 1CSS007 e teor declarado igual a 99,6%. A matéria prima foi previamente analisada conforme descrito no ítem 4.1

##### **7.1.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.1.

#### **7.1.1.2 Análise da solubilidade de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.2.

#### **7.1.1.3 Determinação de pH de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.3.

#### **7.1.1.4 Determinação da faixa de fusão de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.4.

#### **7.1.1.5 Análise da densidade de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.5

#### **7.1.1.6 Determinação de umidade de propranolol**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.6

#### **7.1.1.7 Avaliação do Laudo de análise de propranolol fornecido pelo fabricante**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.7.

#### **7.1.1.8 Identificação de propranolol por espectrometria no Infra-vermelho**

As análises foram feitas segundo descrito nas metodologias gerais 4.1.8.

### **7.1.1.9 Doseamento de propranolol matéria-prima e substância química de referência.**

A determinação do teor da matéria-prima e da substância química de referência foi feita utilizando parâmetros que validam os métodos de análise empregados.

As metodologias utilizadas foram titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no UV e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

#### **7.1.1.9.1 Doseamento de propranolol por Titulação Potenciométrica**

A Farmacopéia Européia e a Britânica preconizam a titulação potenciométrica em etanol com hidróxido de sódio 0,1M (EP, 1997 ; BP, 2000).

A titulação potenciométrica em meio não aquoso com ácido perclórico 0,1N em solução acética é a técnica preconizada pela 3<sup>a</sup> edição da Farmacopéia Brasileira para o fármaco propranolol. A mesma técnica é descrita por Korolkovas. (FB, 1977, Korolkovas 1988).

Dissolvem-se 500mg de propranolol em 50 mL de ácido acético anidro R. Adiciona-se 10mL de acetato de mercúrio acético. Titula-se com ácido perclórico 0,1N. Adiciona-se 10mL de acetato de mercúrio acético para impedir a interferência do halogênio (Cl<sup>-</sup>), presente no sal. O ponto de equivalência é determinado por potenciometria. Cada mL de ácido perclórico utilizado corresponde a 29,58 mg de propranolol.

Esta técnica foi reproduzida e validada para o doseamento da matéria-prima bem como da substância química de referência.

#### **7.1.1.9.2 Doseamento de propranolol por Espectrometria de absorção no UV**

A espectrometria de absorção no UV a 290nm é a técnica preconizada na Farmacopéia Britânica para doseamento de comprimidos de propranolol (BP, 2000).

Validou-se um método de doseamento por espectrometria a 290nm para o fármaco propranolol, utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo lambda 10 UV/VIS.

A partir de uma solução estoque a 1mg/mL do fármaco em água foram feitas diluições em metanol para a construção de uma curva de calibração, com 13 pontos variando a concentração de 12 a 90 $\mu$ g/mL. Em virtude da hidrossolubilidade do fármaco e da solução de partida ser aquosa, foram adicionadas quantidades específicas de água para que cada diluição contenha a mesma proporção de água e metanol (450 $\mu$ L de água e 4550 $\mu$ L de metanol). A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata. A equação da reta foi determinada a partir da média das três leituras.

Esta curva de calibração feita com a substância química de referência foi usada para determinar o teor da matéria-prima.

As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise, e comparada com a curva de calibração da substância química de referência.



A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. A partir de uma solução estoque com 1mg/mL, foram feitas diluições em metanol e água a fim de atingir concentração final 20µg/mL. De uma solução 1mg/mL de SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 20µg/mL de matéria-prima, a fim de obter concentrações finais 30, 40 e 50µg/mL, dos quais 10, 20 e 30µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 20µg/mL é referente à matéria-prima em análise. As mesmas proporções de água-metanol adotados na construção da curva de calibração foram mantidas no ensaio de recuperação.

#### **7.1.1.9.3 Doseamento de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta eficiência.**

A Farmacopéia Americana adota para o doseamento tanto do fármaco quanto de comprimidos de propranolol, uma metodologia por CLAE (USP, 2000).

Validou-se um método de doseamento para o fármaco utilizando sistema CLAE SHIMADZU, constituído de bomba LC-10AD VP e detector UV-Vis SPD-10AV VP, gerenciado pelo controlador SCL-10AVP, acoplado a um computador Mega Corp, e operado pelo programa Class-VP. A fase estacionária utilizada foi uma coluna Lichrospher® RP-18 (5µm) de 125 x 4mm. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/tampão fosfato (30:70) com pH 3, fluxo isocrático de 2mL/min. A detecção foi em UV a 294nm.

Construiu-se uma curva de calibração com a substância química de referência, diluindo inicialmente 1mg/mL do fármaco na fase móvel. Esta solução foi diluída em uma para dez partes, a fim de obter 100µg/mL na fase móvel. Para preparar a curva, diferentes quantidades desta solução são diluídas na fase móvel,

para obter as concentrações de 2,5 a 25µg/mL de propranolol. Esta curva de calibração feita com a SQR foi utilizada para determinar o teor da matéria-prima.

As mesmas diluições foram empregadas para construção de uma curva de calibração com a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Foram feitas soluções estoque a 100µg/mL com a matéria-prima e com a SQR. Da solução contendo a matéria-prima, foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração final 5µg/mL. Da solução contendo SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 5µg/mL de matéria-prima, a fim de obter concentrações finais 7,5, 10 e 12,5 µg/mL, dos quais 2,5, 5 e 7,5µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 5µg/mL é referente à matéria-prima em análise.

### **7.1.2 Manipulação de cápsulas de propranolol**

Foram manipuladas 360 cápsulas com 80mg de propranolol. O método de encapsulação utilizado foi o de preenchimento manual e nivelamento descrito nas metodologias gerais no item 4.2.

Os excipientes utilizados na manipulação das cápsulas de propranolol são os sugeridos na literatura como excipiente padrão para cápsulas, conforme tabela abaixo (Ferreira, 2000).

**Tabela 33: Formulação de cápsulas de propranolol**

| <b>Substância</b>       | <b>Concentração</b> |
|-------------------------|---------------------|
| Propranolol             | 80mg                |
| Estearato de Magnésio   | 0,5%                |
| Aerosil                 | 1,0%                |
| Lauril Sulfato de Sódio | 1,0%                |
| Talco Farmacêutico      | 30%                 |
| Amido de milho          | qsp 1 cápsula       |

Todos os ensaios de controle de qualidade de cápsulas de propranolol foram realizados com este mesmo lote de cápsulas.

### **7.1.3 Controle de Qualidade das Cápsulas manipuladas de propranolol**

#### **7.1.3.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol**

A metodologia utilizada é a sugerida na Farmacopéia Brasileira, a qual esta descrita no item 4.3.1 das metodologias gerais (FB, 1988).

#### **7.1.3.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de propranolol**

A determinação da uniformidade de dose das cápsulas de propranolol realizou-se conforme descrito nas metodologias gerais item 4.3.2, doseando-se o conteúdo de dez cápsulas individualmente.

Não existe metodologia farmacopéica para doseamento de cápsulas de propranolol. As metodologias utilizadas no doseamento da matéria-prima foram adaptadas e validadas para a determinação do teor das cápsulas, as quais são: titulação potenciométrica, espectrometria de absorção no ultravioleta e Cromatografia Líquida de Alta eficiência.

#### **7.1.3.2.1 Doseamento das cápsulas de propranolol por titulação potenciométrica**

A técnica descrita no item 7.1.1.9.1, que é sugerida para doseamento do fármaco, foi adaptada e validada para o doseamento das cápsulas manipuladas.

A farmacopéia brasileira recomenda no caso de titulação, utilizar titulante mais diluído na determinação de uniformidade de conteúdo (FB, 1996).

A metodologia adaptada e validada constitui-se na diluição do conteúdo de uma cápsula, ou seja, 80mg teóricos em 25mL de ácido acético anidro R. Adiciona-se 10mL de acetato de mercúrio acético. A titulação é feita com ácido perclórico 0,025N. Cada mL gasto equivale a 7,395 mg de propranolol.

#### **7.1.3.2.2. Doseamento das cápsulas de propranolol por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A espectrometria a 290nm é a técnica preconizada na Farmacopéia Britânica 2000 para doseamento de comprimidos de propranolol.

Construiu-se uma curva de calibração com a matéria-prima, a partir de uma solução estoque a 1mg/mL do fármaco em água foram feitas diluições em metanol para a construção de uma curva de calibração, com 13 pontos variando a concentração de 12 a 90 $\mu$ g/mL. Em virtude da hidrossolubilidade do fármaco e da solução de partida ser aquosa, foram adicionadas quantidades específicas de água para que cada diluições contenha a mesma proporção de água e metanol (450 $\mu$ L de água e 4550 $\mu$ L de metanol). A absorbância de cada ponto foi medida em triplicata, e foram realizadas três curvas, em dias diferentes, sob as mesmas condições experimentais. A equação da reta foi determinada a partir da média das leituras determinadas nos três dias.

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas. Assim, cada cápsula foi diluída em 100mL de água, obtendo uma solução estoque com concentração teórica igual a 80 $\mu$ g/mL. Esta solução foi diluída a fim de obter solução com concentração teórica final igual a 40 $\mu$ g/mL. Em virtude da hidrossolubilidade do fármaco e da solução de partida ser aquosa, foram adicionadas quantidades específicas de água para que cada diluição contenha a mesma proporção de água e metanol (450 $\mu$ L de água e 4550 $\mu$ L de metanol). Estas diluições foram preparadas em triplicata, e medidas as absorbâncias a 290nm. Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Cada cápsula foi diluída em 100mL de água, formando uma solução de concentração teórica 80 $\mu$ g/mL. Foi feita também uma diluição da SQR à 1mg/mL. Foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração final 20 $\mu$ g/mL teóricos relativos ao fármaco contido nas cápsulas, e concentrações variáveis de SQR em 4 amostras. À primeira amostra não foi adicionada SQR, e foi diluída em água- metanol a fim de ter quantidade final de 450 $\mu$ L de água, 4550 $\mu$ L de metanol, e concentração teórica

igual a 20µg/mL. Esta mesma proporção água-metanol foi mantida nas demais diluições. Nestas, foram adicionadas alíquotas da solução estoque de SQR, a fim de obter concentrações finais iguais a 30, 40 e 50µg/mL, dos quais 10, 20 e 30µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 20µg/mL teóricos são referentes à cápsula em análise.

#### **7.1.3.2.3. Doseamento das cápsulas de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A metodologia utilizada para doseamento do fármaco citada no item 7.1.1.9.3 foi adaptada e utilizada para determinação do teor das cápsulas.

Cada cápsula foi diluída em 100mL de fase móvel, obtendo uma solução com concentração teórica igual a 800µg/mL. Esta solução foi diluída a fim de obter concentração teórica 100µg/mL. Foram tomadas alíquotas e diluídas para obter concentração teórica final igual a 10µg/mL. Estas diluições foram preparadas em triplicata, e injetadas no cromatógrafo sob as mesmas condições experimentais descritas no item 7.1.1.9.3.

Os resultados foram aplicados na equação da reta encontrada na curva de calibração feita com a matéria-prima de origem, e calculado o teor do fármaco em cada cápsula.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação. Diluíram-se 1 cápsula contendo 80mg teóricos para 100mL de fase móvel, obtendo assim uma solução de concentração teórica igual a 800µg/mL. Esta solução foi diluída a fim de obter concentração teórica de 100µg/mL. Foi feita também uma solução estoque com a SQR a 1mg/mL e da mesma forma, dilui-se esta para

100µg/mL. Da solução contendo a cápsula, foram feitas diluições em metanol a fim de atingir concentração teórica final 5µg/mL. Da solução de SQR foram tomadas alíquotas e adicionadas às diluições contendo 5µg/mL de cápsula, a fim de obter concentrações finais 7,5, 10 e 12,5 µg/mL, dos quais 2,5, 5 e 7,5µg/mL respectivamente são equivalentes à SQR adicionada e 5µg/mL é referente à cápsula em análise.

### **7.1.3.3 Determinação do tempo de dissolução das cápsulas de propranolol**

Não existe metodologia farmacopéica para a determinação do tempo de dissolução de cápsulas de propranolol.

O meio de dissolução utilizado é o especificado na Farmacopéia Britânica para comprimidos de propranolol, e constitui-se de ácido clorídrico R 0,1N. A determinação é por espectrometria ultravioleta a 290nm (BP, 2000).

Foi preparada uma curva de calibração a partir de uma solução com 1mg/mL de matéria-prima diluída em ácido clorídrico R 0,1N, com concentrações variando de 40 a 100 µg/mL. A absorbância de cada ponto no comprimento de onda determinado foi medida em triplicata.

O aparato utilizado é a cesta para agitação do meio de dissolução, descrita na Farmacopéia Brasileira (FB,1988).

Foram feitas seis determinações, tomando-se alíquotas do conteúdo da cuba após 30 minutos e diluídas a fim de se obter 80 µg/mL teóricos no caso de diluição total.

As amostras foram doseadas em espectrofotômetro e a curva de calibração da matéria-prima diluída em ácido clorídrico R 0,1N foi utilizada para determinar o teor encontrado na amostra. Foi determinada a porcentagem de dissolução considerando-se 80µg/mL como o valor de referência para 100% de dissolução.

#### **7.1.3.4 Análise da interação de propranolol com excipientes pela técnica de Difração de raio-X**

A metodologia utilizada está descrita nas metodologias gerais no item 4.3.4.

### **7.2 Resultados e discussão específicos do propranolol**

#### **7.2.1 Controle de qualidade de propranolol matéria-prima e qualificação de padrão Secundário**

As análises foram realizadas com a mesma matéria-prima usada para manipulação das cápsulas. Paralelamente, alguns dos ensaios foram realizados com amostras de outro lote de propranolol, com o intuito de qualificá-lo como substância química de referência (SQR), e comparação de resultados. Os ensaios escolhidos foram caracteres organolépticos, solubilidade, pH, faixa de fusão e doseamento.



### **7.2.1.1 Avaliação dos caracteres organolépticos de propranolol**

Tanto a matéria prima analisada quanto a SQR apresentam-se como pó branco inodoro, estando de acordo com as referências farmacopéicas (FB, 1977; EP, 1997; USP, 2000; BP, 2000; O'Neil, 2001).

### **7.2.1.2 Análise da solubilidade de propranolol**

O fármaco apresentou-se solúvel em água, etanol 96° e fracamente solúvel em clorofórmio. Os mesmos solventes foram testados para a SQR apresentando as mesmas solubilidades. Ambos estão em conformidade com as monografias consultadas para o fármaco (FB, 1977; EP, 1997; USP, 2000; BP, 2000; O'Neil, 2001).

### **7.2.1.3 Determinação de pH de propranolol**

O pH medido a 25°C, em triplicata de amostras com 1% de propranolol diluído em água foi 6,2. Não foram encontradas referências relacionadas.

A SQR apresentou pH 6,0 sob as mesmas condições.

#### **7.2.1.4 Determinação da faixa de fusão de propranolol**

A faixa de fusão encontrada foi 164,0 a 165,8 °C, estando de acordo com as referências farmacopéicas. A SQR também demonstrou conformidade, apresentando faixa de fusão entre 163,0 a 165,0 °C. Não foram encontradas diferenças significativas utilizando-se diferentes equipamentos de determinação de ponto de fusão (BP, 2000; USP, 2000).

#### **7.2.1.5 Análise da densidade de propranolol**

A densidade aparente encontrada para a matéria-prima foi 0,58 g/mL. Este é um ensaio de caráter informativo, relacionado ao lote específico de cada matéria-prima, o qual visa determinar a quantidade de excipiente necessária para nivelamento das cápsulas.

#### **7.2.1.6 Determinação de umidade de propranolol**

Houve uma perda de 0,22 % do peso de amostras de 1 g de propranolol em secagem em estufa a 105 °C até peso constante. O ensaio foi realizado em triplicata

e as amostras encontram-se dentro do limite de 0,5 % especificado na literatura (BP, 1997; USP2000).

#### **7.2.1.7 Avaliação do Laudo de análise de propranolol fornecido pelo fabricante**

Das análises realizadas, as características organolépticas, a solubilidade, o ponto de fusão, a perda por dessecação são citadas no laudo do fornecedor e os resultados são conformes tanto para a matéria prima quanto para a SQR. O teor também está em conformidade com o laudo, tanto da matéria-prima, quanto da SQR, conforme será visto nos resultados das análises de doseamento.

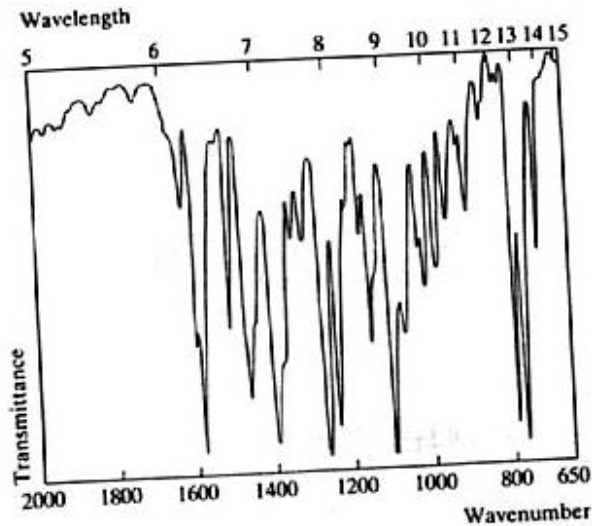
#### **7.2.1.8 Identificação de propranolol por espectrometria no Infra-vermelho**

O espectro IV obtido para o propranolol demonstrou sobreponibilidade ao apresentado na literatura adotada como referência (Moffat, 1986). Adicionalmente o espectro foi comparado ao obtido sob as mesmas condições para a substância química de referência adotada como padrão, demonstrando correspondência e atestando a identidade do fármaco.

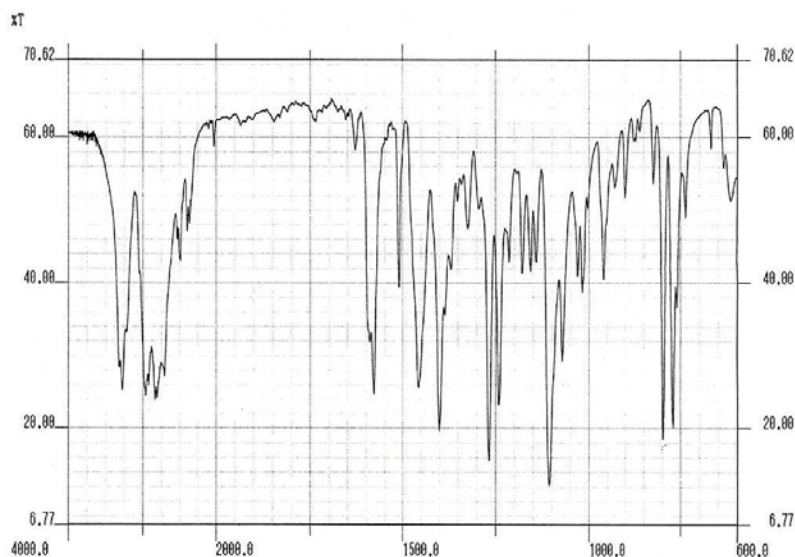
Entre 3250 e 3500  $\text{cm}^{-1}$  observa-se bandas referentes à presença de amina e da hidroxila. Abaixo de 3000  $\text{cm}^{-1}$  observa-se a presença das bandas referentes às

ligações Carbono-Hidrogênio alifáticas. Entre 1450 e 1600  $\text{cm}^{-1}$  observa-se bandas referentes aos anéis aromáticos presentes na fórmula (Silverstain, 2000).

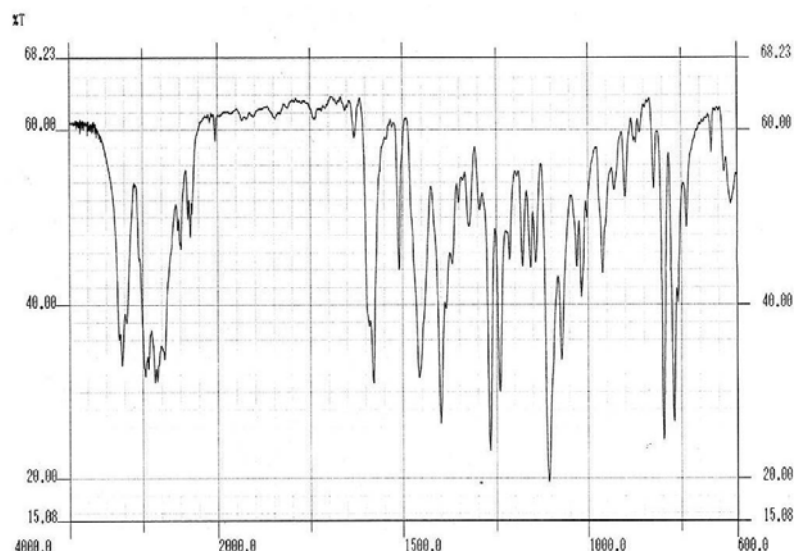
Os principais picos relacionados ao fármaco encontram-se nos comprimentos de onda 1103, 1270, 772, 1580, 795, 1240 (Moffat, 1986).



**Figura 54: Espectro IV obtido na literatura para propranolol (Moffat, 1986)**



**Figura 55: Espectro IV obtido para propranolol – SQR**



**Figura 56: Espectro IV obtido para propranolol matéria-prima**

### 7.2.1.9 Doseamento de propranolol

#### 7.2.1.9.1 Doseamento de propranolol por Titulação Potenciométrica

A primeira etapa foi o doseamento do padrão secundário, avaliando a precisão através do parâmetro da repetibilidade. O teor foi determinado em seis amostras e os resultados podem ser visualizados na tabela seguinte.

**Tabela 34: Determinação de teor de propranolol SQR por titulação**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) $\pm$ dp | C.V.% |
|---------|----------|--------------------|-------|
| 1       | 91,62    | 92,79 $\pm$ 3,49   | 3,76  |
| 2       | 90,47    |                    |       |
| 3       | 92,73    |                    |       |
| 4       | 99,73    |                    |       |
| 5       | 90,76    |                    |       |
| 6       | 91,43    |                    |       |

O método demonstrou precisão aceitável, pois coeficiente de variação se encontra dentro do limite de variação de 5%. No entanto, o método não demonstrou

exatidão apropriada, estando o teor determinado abaixo do limite de 98 a 101,5%, especificado pela Farmacopéia Americana, bem como das especificações das farmacopéias Britânica e Européia que é de 99 a 101% (USP, 2000; BP, 2000; EP, 2000).

O laudo do fabricante apresenta como teor do padrão 99,9%. O percentual de concordância em relação ao especificado no laudo do fornecedor é de 92,88%

O doseamento da matéria-prima foi realizado baseando-se em parâmetros que validam o método utilizado. Primeiramente analisou-se a precisão, através da repetibilidade obtida no doseamento de 6 amostras, conforme os resultados apresentados na tabela abaixo.

**Tabela 35: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) ±<br/>dp</b> | <b>C.V.(%)</b> |
|----------------|-----------------|---------------------------|----------------|
| 1              | 91,82           | 92,38 ± 0,47              | 0,51           |
| 2              | 92,429          |                           |                |
| 3              | 91,83           |                           |                |
| 4              | 92,64           |                           |                |
| 5              | 92,66           |                           |                |
| 6              | 92,96           |                           |                |

De forma similar ao determinado para a substância química de referência, o método demonstrou precisão aceitável, através do baixo coeficiente de variação determinado. No entanto, o método não demonstrou exatidão, estando o teor determinado abaixo do limite especificado pela Farmacopéia Americana que é de 98 a 101,5%, e pelas Farmacopéias Britânica e Européia que é de 99 a 101% (EP, 1997; USP, 2000; BP 2000)

O laudo do fabricante apresenta como teor do padrão 99,6%. O percentual de concordância em relação ao especificado no laudo do fornecedor é de 92,75%.

Os resultados obtidos, tanto para o doseamento da substância química de referência quanto para a matéria-prima, mantiveram-se abaixo dos limites especificados.

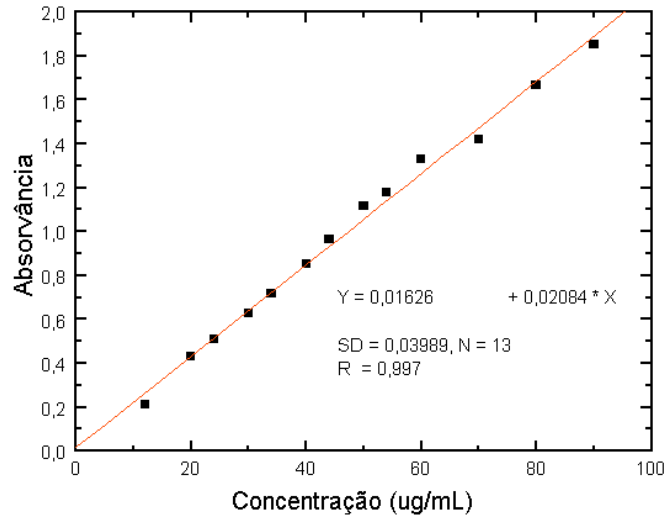
Sugere-se que o erro seja relativo ao método, pois o mesmo erro ocorreu com dois lotes diferentes do mesmo fármaco. Estudos posteriores são sugeridos para realizar novo processo de validação, testando a exatidão do método sob novas condições.

Os resultados aqui apresentados demonstram o quanto o método da titulação pode estar sujeito a erros, desde o preparo e padronização das soluções, ao equipamento, ao operador e à execução da técnica propriamente dita. Também salienta a importância de validar as técnicas antes de adotá-las na rotina de controle de qualidade, pois mesmo aquelas técnicas descritas na literatura podem não ser adequadamente reproduzidas.

O método não foi apropriado para o doseamento do fármaco.

#### **7.2.1.9.2 Doseamento de propranolol por Espectrometria Ultra-Violeta**

A curva de calibração determinada na faixa de 12 a 90 $\mu$ g/mL com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,997 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima.



**Figura 57 Curva de Calibração de propranolol SQR por espectrometria de absorção no ultravioleta**

O teor da matéria-prima foi determinado a partir da equação da reta obtida com o padrão, considerando-se que a substância química de referência possui 99,9% de teor. Fez-se seis diluições da matéria-prima com concentração teórica 40µg/mL. A média dos valores encontrados foi 100,64% de teor da matéria – prima calculado a partir da curva de calibração feita com a substância química de referência, considerando o seu teor. A precisão foi demonstrada pelo coeficiente de variação igual a 2,41%.

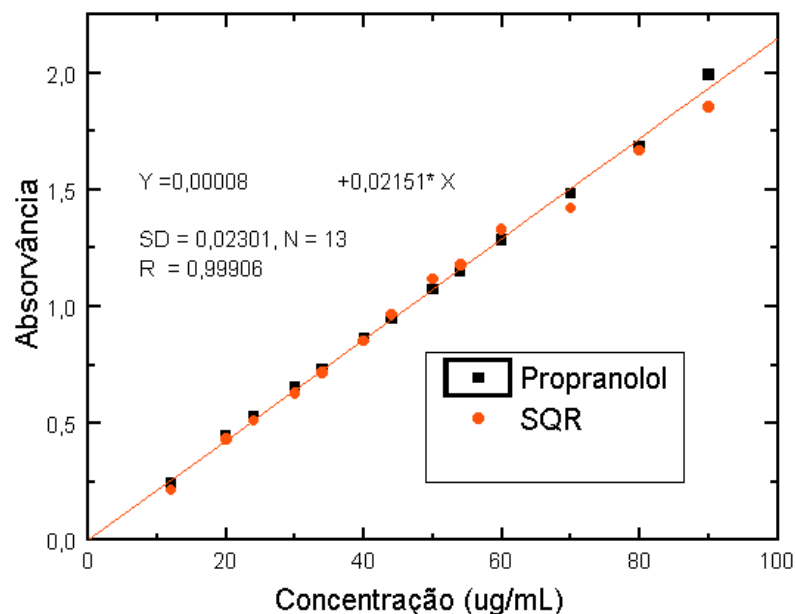
**Tabela 36: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por Espectrometria de absorção no ultravioleta**

| Amostra | Teor (%) | Média (%) ± dp | C.V.% |
|---------|----------|----------------|-------|
| 1       | 97,32    | 100,64 ± 2,43  | 2,41% |
| 2       | 103,86   |                |       |
| 3       | 100,59   |                |       |
| 4       | 101,34   |                |       |
| 5       | 98,43    |                |       |
| 6       | 102,30   |                |       |



O teor determinado de matéria-prima manteve-se dentro das especificações delineadas pela Farmacopéia Americana que é de 98 a 101,5%, e pela Farmacopéia Britânica e Farmacopéia Européia que é de 99 a 101% (BP, 1997; EP, 1997; USP, 2000).

As mesmas diluições empregadas na construção desta curva de calibração foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99906, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR e a exatidão do método.



**Figura 58: Comparação das curvas de calibração de propranolol SQR e matéria-prima por espectrometria-UV**

A exatidão do método foi verificada através do percentual médio de recuperação obtido igual a 101,79% e coeficiente de variação igual a 4,42%. Os resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela abaixo.

**Tabela 37: Teste de recuperação para propranolol por Espectrometria de absorção no ultravioleta**

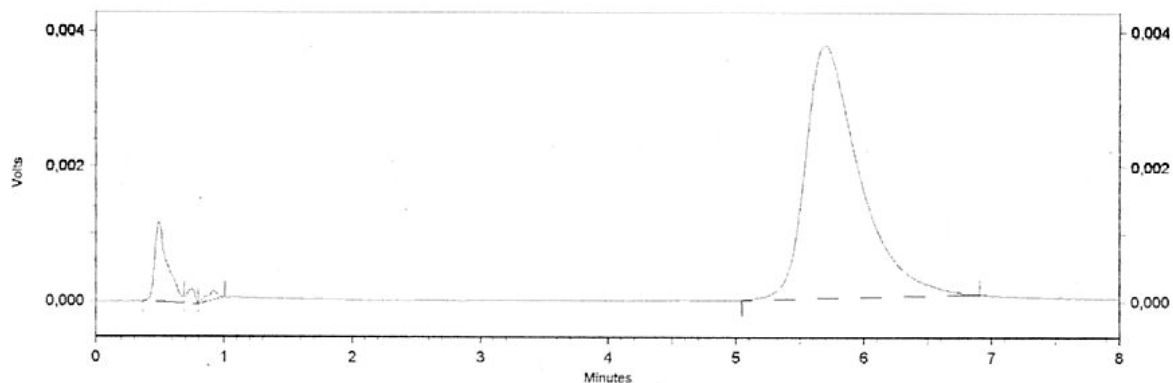
| <b>Concentração inicial (MP) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V.%</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|---|--------------|
| 20   | 30   | 9,84                           | 98,40                   | 101,79 $\pm$ 4,50                             | 4,42         |
| 20   | 40   | 21,38                          | 106,9                   |   |              |
| 20   | 50   | 30,02                          | 100,07                  |   |              |

\*Cada valor é média de três determinações.

### **7.2.1.9.3 Doseamento de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta eficiência**

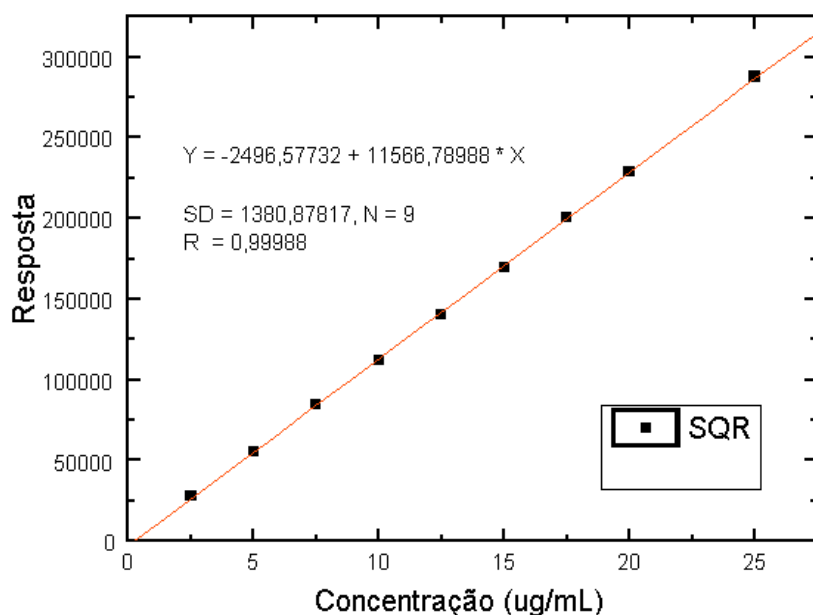
Amostras diluídas na faixa de 2,5 a 25 $\mu\text{g/mL}$  foram diluídas na fase móvel e injetadas no cromatógrafo sob as condições descritas em 7.1.1.9.3.

A injeção de uma solução contendo 10 $\mu\text{g/mL}$  de propranolol substância química de referência resultou no cromatograma abaixo.



**Figura 59: Cromatograma obtido para diluição de propranolol SQR a 10µg/mL**

A curva de calibração determinada na faixa de 2,5 a 25µg/mL com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99988 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a SQR será utilizada para determinar o teor da matéria-prima.



**Figura 60: Curva de Calibração de propranolol SQR por CLAE**

Esta curva de calibração foi usada para calcular o teor da matéria-prima, sabendo-se que a substância química de referência possui 99,9% de teor. Fez-se seis diluições da matéria-prima com 10µg/mL de concentração teórica. A média dos valores encontrados foi 102,12% calculado a partir da curva de calibração feita com

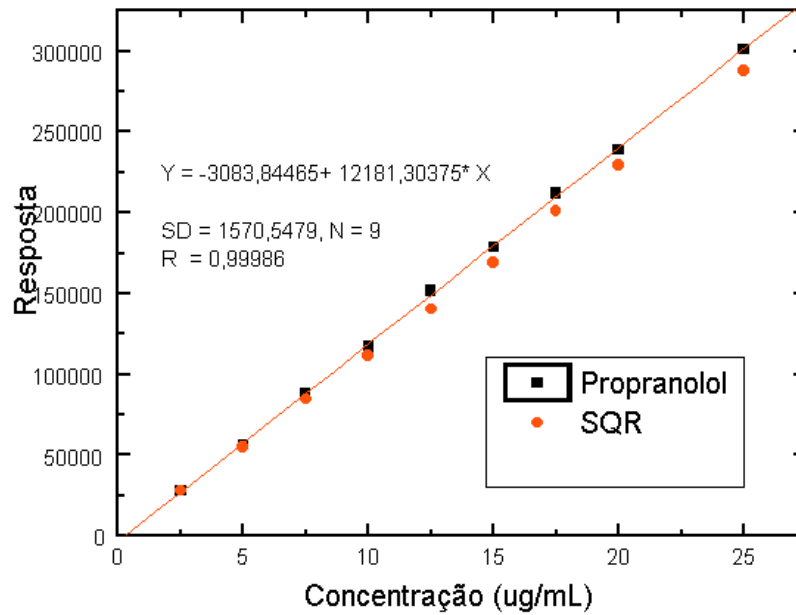
a substância química de referência. A precisão foi demonstrada pelo coeficiente de variação 2,58%.

Tabela 38: Determinação de teor de matéria-prima propranolol por CLAE

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) ±<br/>dp</b> | <b>C.V.%</b> |
|----------------|-----------------|---------------------------|--------------|
| 1              | 97,99398        | 102,12 ± 2,64             | 2,58%        |
| 2              | 99,66514        |                           |              |
| 3              | 104,0458        |                           |              |
| 4              | 102,889         |                           |              |
| 5              | 104,0864        |                           |              |
| 6              | 104,0354        |                           |              |

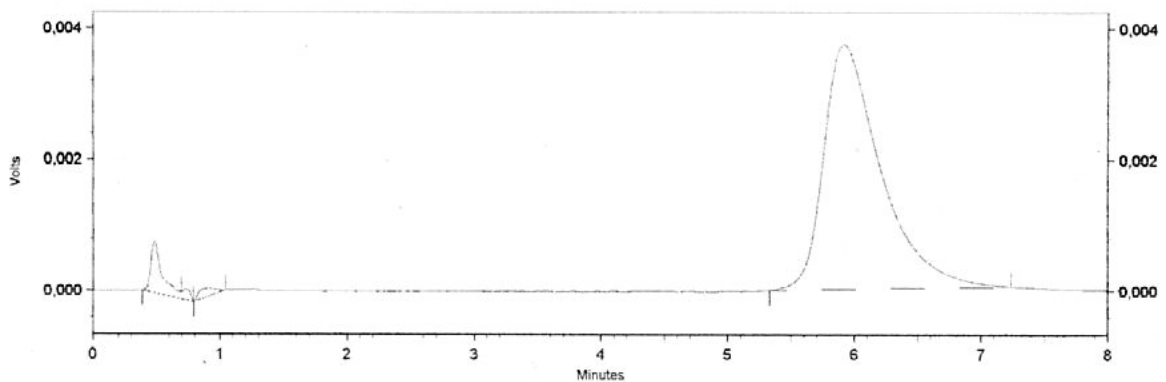
Embora os resultados tenham sido precisos apresentando baixo coeficiente de variação percentual, e exatos numa margem de variação menor do que 5%, o teor determinado de matéria-prima através da metodologia empregada não se manteve dentro das especificações delineadas pela farmacopéia Americana que é de 98 a 101,5%, e pela Farmacopéia Britânica e Européia que é de 99 a 101%.

As mesmas diluições empregadas na construção desta curva de calibração foram feitas para a matéria prima em análise. As curvas foram feitas em triplicata. A curva de calibração da matéria-prima foi sobreposta à curva do padrão. O coeficiente de correlação encontrado foi 0,99988, mostrando a correspondência entre matéria-prima e SQR bem como a exatidão do método. A curva de calibração da matéria-prima será usada para doseamento das cápsulas manipuladas.



**Figura 61: Comparação das curvas de calibração de propranolol SQR e matéria-prima por CLAE**

A injeção de uma diluição contendo 10µg/mL de propranolol matéria-prima resultou no cromatograma seguinte.



**Figura 62: Cromatograma obtido para diluição de propranolol matéria-prima a 10µg/mL**

A exatidão do método não pode ser verificada através do percentual médio de recuperação obtido igual a 104,64% , devido ao elevado coeficiente de variação. Os resultados obtidos para o teste de recuperação podem ser verificados na tabela abaixo. Observa-se que na adição de 2,5 µg/mL de SQR, ocorre a extrapolação da porcentagem de recuperação em 19%, indicando alguma interferência e erro do teste nesta faixa de concentração. No entanto, observa-se que nas demais faixas de concentrações adicionadas, o percentual de recuperação manteve-se próximo a 100%, dentro de uma faixa de variação de  $\pm 5\%$ , demonstrando a exatidão do método nesta faixa de concentração.

**Tabela 39: Teste de recuperação para propranolol CLAE**

| <b>Concentração inicial (MP) (µg/mL)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (µg/mL)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. %</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|---|---------------|
| 5  | 2,5                                      | 3,15                           | 119,09                  | 104,64 $\pm$                                  | 12,06         |
| 5  | 5  | 5,24                           | 99,05                   | 12,62   |               |
| 5  | 7,5                                      | 7,6                            | 95,77                   |   |               |

\*Cada valor é média de três determinações.

## **7.2.2 Controle de Qualidade das Cápsulas de propranolol manipuladas**

### **7.2.2.1 Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol**

O peso médio determinado em 20 unidades foi igual a 0,206. Das vinte unidades analisadas todas se encontram dentro dos limites especificados na Farmacopéia Brasileira para cápsulas de até 80 mg é igual a 10% de variação (FB, 1988).

Os pesos individuais das cápsulas podem ser vistos na tabela abaixo.

**Tabela 40: Variação de peso e peso médio das cápsulas de propranolol**

|   |       |                                |       |
|---|-------|--------------------------------|-------|
| 0,192                                   | 0,200 | 0,208                          | 0,206 |
| 0,208                                   | 0,202 | 0,208                          | 0,198 |
| 0,211                                   | 0,205 | 0,203                          | 0,214 |
| 0,213                                   | 0,217 | 0,209                          | 0,200 |
| 0,208                                   | 0,204 | 0,211                          | 0,204 |
| Média: 0,20605g Desvio padrão: 0,005809 |       |                                |       |
| Limites de variação                     |       | +10% = 0,2266<br>- 10%= 0,1854 |       |

#### **7.2.2.2 Avaliação da uniformidade de conteúdo das cápsulas de propranolol**

##### **7.2.2.2.1 Doseamento de cápsulas de propranolol por Titulação Potenciométrica**

As cápsulas manipuladas foram analisadas individualmente por titulação

potenciométrica, e os resultados mantiveram-se dentro dos limites especificados para comprimidos de propranolol na Farmacopéia Americana o qual é de 90 a 110%

do teor declarado; e dentro dos limites da Farmacopéia Britânica que é 92,5 a 107,5% conforme pode-se observar na tabela seguinte (BP, 2000; USP, 2000).

**Tabela 41: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por titulação**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V. (%)</b> |
|----------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| 1              | 101,87          | 98,60 $\pm$ 2,34                     | 2,37%           |
| 2              | 102,79          |                                      |                 |
| 3              | 95,42           |                                      |                 |
| 4              | 98,18           |                                      |                 |
| 5              | 98,65           |                                      |                 |
| 6              | 98,18           |                                      |                 |
| 7              | 95,42           |                                      |                 |
| 8              | 98,18           |                                      |                 |
| 9              | 99,11           |                                      |                 |
| 10             | 98,19           |                                      |                 |

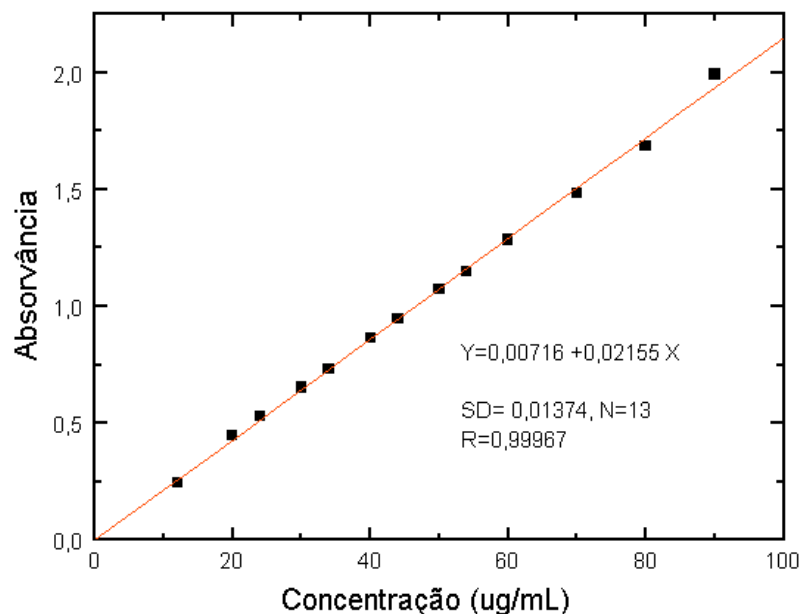
A exatidão e a especificidade podem ser demonstradas pela concordância dos resultados com os apresentados pelas outras metodologias. Os percentuais de concordância obtidos para o doseamento das cápsulas por espectrometria-UV e CLAE são 100,90% e 97,23%, respectivamente.

#### **7.2.2.2.2 Doseamento de cápsulas de propranolol por Espectrometria-UV**



A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

A curva de calibração determinada na faixa de 12 a 90µg/mL com a respectiva regressão linear é apresentada abaixo. O coeficiente de correlação igual a 0,99967 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a fidedignidade dos resultados.



**Figura 63: Curva de Calibração de propranolol- matéria-prima por espectrometria de absorção no ultravioleta**

A precisão do método foi avaliada através do parâmetro repetibilidade. A uniformidade de conteúdo foi demonstrada pelo do coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento de 10 cápsulas, individualmente. Os

resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela seguinte, considerando 100% de teor a concentração igual a 40µg/mL que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 42: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por espectrometria de absorção UV**

| <b>Amostra</b> | <b>Teor (%)</b> | <b>Média (%) ± dp</b> | <b>C.V. (%)</b> |
|----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| 1              | 93,03           | 97,72 ± 3,51          | 3,59            |
| 2              | 96,33           |                       |                 |
| 3              | 98,125          |                       |                 |
| 4              | 96,4            |                       |                 |
| 5              | 104,22          |                       |                 |
| 6              | 100,125         |                       |                 |
| 7              | 92,775          |                       |                 |
| 8              | 98,8            |                       |                 |
| 9              | 100,875         |                       |                 |
| 10             | 96,52           |                       |                 |

Os resultados da determinação dos teores individuais de cada cápsula mantiveram-se dentro dos limites especificados pela Farmacopéia Americana para comprimidos de propranolol o qual é de 90 a 110% do teor declarado e dos limites da Farmacopéia Britânica os quais são 92,5 a 107,5% (USP,2000, BP, 2000).

A exatidão e a especificidade podem ser demonstradas pela concordância dos resultados com os apresentados pelas outras metodologias. O percentual de concordância obtido para o doseamento das cápsulas por CLAE é 96,36%.

A exatidão foi avaliada através do percentual de recuperação encontrado igual a 98,32% e coeficiente de variação menor do que 5%.

**Tabela 43: Teste de recuperação para cápsulas de propranolol por espectrometria-UV**

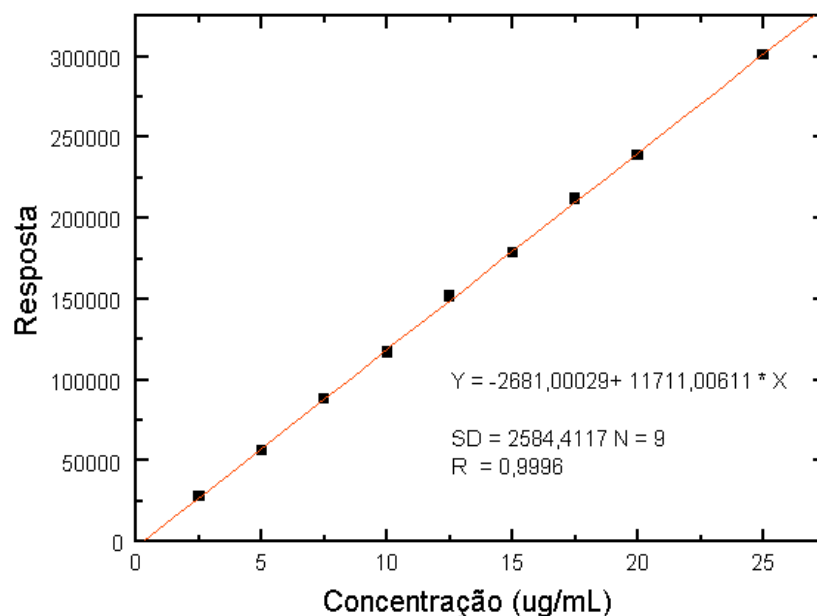
| <b>Concentração inicial (MP) (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade SQR adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b> | <b>Quantidade recuperada *</b> | <b>% de recuperação</b> | <b>% médio recuperado <math>\pm</math> dp</b> | <b>C.V.%</b> |
|--|--|--------------------------------|-------------------------|---|--------------|
| 20   | 10   | 9,35                           | 93,5                    | 98,32 $\pm$<br>4,29                           | 4,36         |
| 20   | 20   | 20,34                          | 101,7                   |   |              |
| 20   | 30   | 29,93                          | 99,77                   |   |              |

\*Cada valor é média de três determinações.

#### **7.2.2.2.3 Doseamento de cápsulas de propranolol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

A equação da reta obtida na curva de calibração construída para a matéria-prima foi utilizada para o doseamento de dez cápsulas individualmente, para teste da uniformidade de conteúdo.

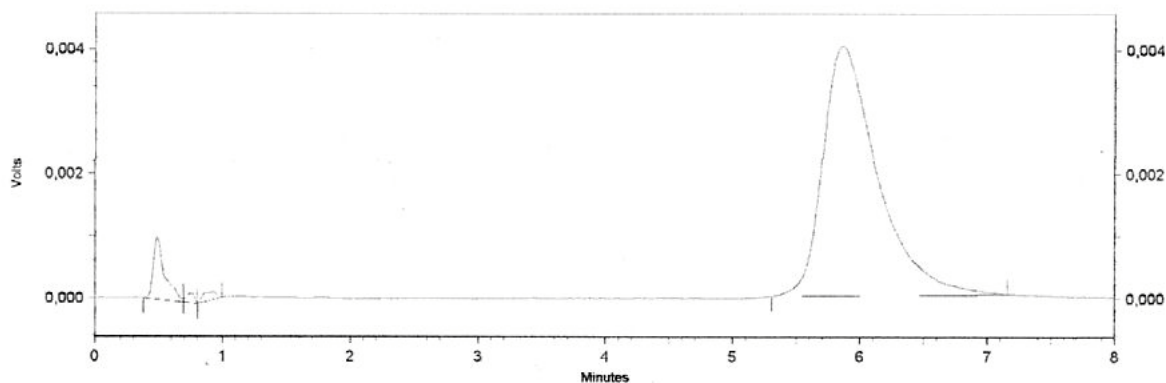
A curva de calibração determinada na faixa de 2,5 a 25µg/mL com a respectiva regressão linear é apresentada a seguir. O coeficiente de correlação igual a 0,9996 demonstra a linearidade do método. A equação da reta de regressão linear construída com a própria matéria-prima utilizada na manipulação das cápsulas será usada para o doseamento das cápsulas, aumentando a fidedignidade dos resultados.



**Figura 64: Curva de Calibração de propranolol- matéria-prima por CLAE**

A precisão do método através do parâmetro repetibilidade, bem como a uniformidade de conteúdo foram demonstradas pelo coeficiente de variação percentual encontrado no doseamento de 10 cápsulas, individualmente.

O cromatograma obtido pela análise de uma solução contendo 10µg/mL teóricos de propranolol provenientes da diluição de uma das dez cápsulas analisadas é mostrado abaixo.



**Figura 65: Cromatograma obtido para diluição de cápsulas de propranolol analisada**

Os resultados do doseamento de cada cápsula são apresentados na tabela abaixo, considerando 100% de teor a concentração igual a 10µg/mL que corresponde a concentração teórica da solução diluída.

**Tabela 44: Determinação de Uniformidade de Conteúdo de cápsulas de propranolol por CLAE**

| Cápsula | Teor (%) | Média (%) $\pm$ dp | C.V. % |
|---------|----------|--------------------|--------|
| 1       | 94,6041  | 101,41 $\pm$ 4,41  | 4,35   |
| 2       | 97,5432  |                    |        |
| 3       | 100,8412 |                    |        |
| 4       | 106,4672 |                    |        |
| 5       | 97,4171  |                    |        |
| 6       | 109,61   |                    |        |
| 7       | 101,9082 |                    |        |

|    |          |  |  |
|----|----------|--|--|
| 8  | 102,238  |  |  |
| 9  | 100,3562 |  |  |
| 10 | 103,0722 |  |  |

As cápsulas analisadas encontram-se de acordo com as especificações da Farmacopéia Americana para comprimidos de propranolol, que é 90 a 110%. No entanto, se forem consideradas as especificações da Farmacopéia Britânica, uma unidade encontra-se fora dos limites de 92,5 a 107,5% (BP, 2000; USP, 2000).

Mais uma vez, pode-se notar a importância da análise individual de cápsulas, como representativo da homogeneidade. A análise individual de cápsulas permitiu a detecção de uma unidade acima do limite especificado pela Farmacopéia Britânica. Provavelmente, esta inconformidade não teria sido detectada, se o conteúdo das 10 cápsulas tivesse sido misturado e tomadas alíquotas desta mistura para a realização do doseamento, conforme indicam muitas monografias.

As cápsulas de menor teor compensariam o excesso determinado na unidade fora das especificações, ou ainda, a mistura do conteúdo das 10 cápsulas, poderia mascarar uma homogeneização inadequada no momento de manipulação das cápsulas.

Visto que o doseamento da matéria-prima obteve valores acima das especificações através da técnica utilizada, é esperado que o doseamento das cápsulas, pela mesma técnica também sofra interferência positiva.

Pode-se verificar a homogeneidade da mistura do conteúdo das cápsulas, pelo coeficiente de variação determinado em 4,35%, encontrando-se, portanto, dentro de uma faixa de variação de 5%.

A exatidão do método foi verificada através do teste de recuperação, cujos resultados são mostrados abaixo. O percentual de recuperação médio encontrado e o baixo coeficiente de variação demonstram a exatidão do método.

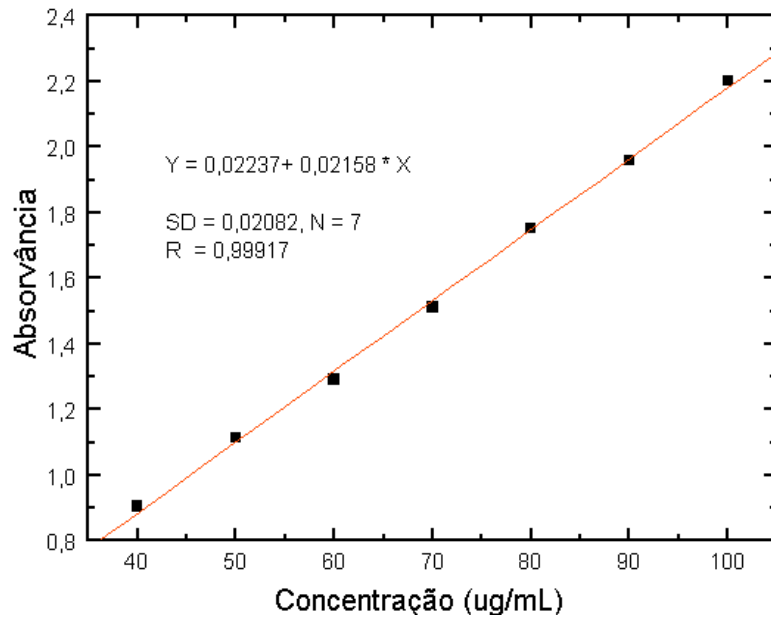
**Tabela 45: Teste de recuperação para cápsulas de propranolol por CLAE**

| Concentração teórica inicial (Cápsulas) ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade SQR adicionada ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Quantidade recuperada * | % de recuperação | % médio recuperado $\pm$ dp | C.V. (%) |
|--|--|-------------------------|------------------|-----------------------------|----------|
| 5  | 2,5  | 2,66                    | 100,57           | 99,16 $\pm$                 | 1,23     |
| 5  | 5  | 5,21                    | 98,49            | 1,22                        |          |
| 5  | 7,5  | 7,81                    | 98,42            |                             |          |

\*Cada valor é média de três determinações

### 7.2.2.3 Determinação do tempo de dissolução de cápsulas de propranolol

A curva de calibração feita com o propranolol do mesmo lote de matéria-prima com que foram manipuladas as cápsulas, em água, pode ser observada abaixo, com a respectiva equação da reta e coeficiente de correlação.



**Figura 66: Curva de calibração por espectrometria de absorção no ultravioleta de propranolol no meio de dissolução**

As porcentagens de dissolução obtidas após 30 minutos são apresentadas na tabela abaixo. Os teores foram calculados considerando-se 100% de dissolução a concentração teórica igual a 80µg/mL.

**Tabela 46: Porcentagem de dissolução de cápsulas de propranolol**

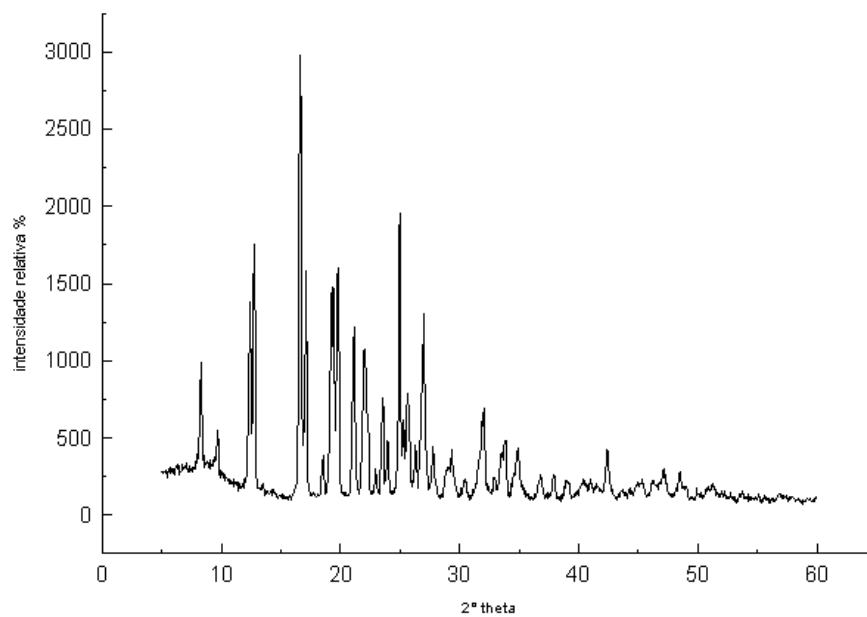
| Teor (%) | Média  |
|----------|--------|
| 94,45    | 92,97% |
| 93,81    |        |
| 92,49    |        |
| 91,72    |        |
| 93,64    |        |
| 91,72    |        |

As concentrações obtidas vão ao encontro da tolerância especificada pela Farmacopéia Britânica que é de no mínimo 75% de dissolução após 30 minutos sob as condições especificadas (BP, 2000).

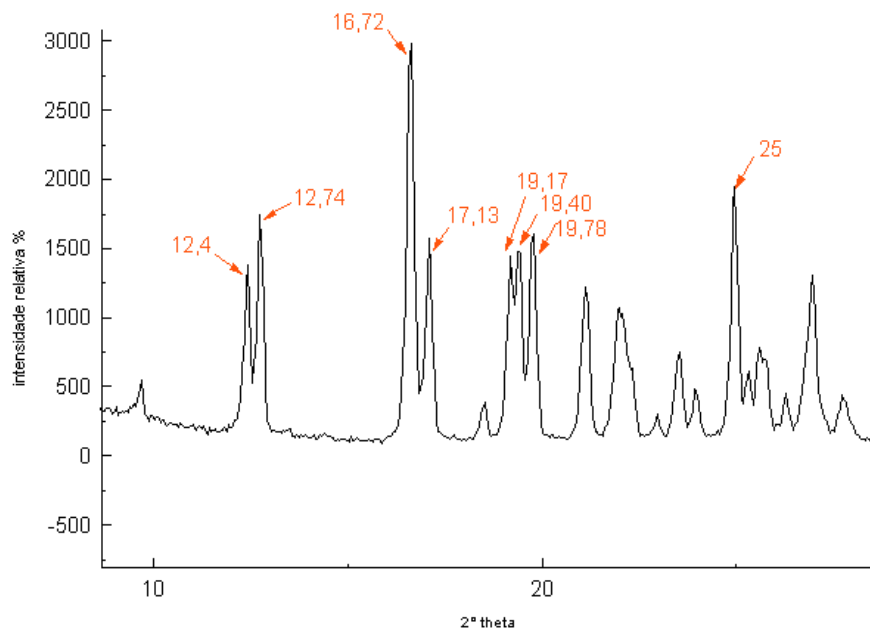


#### 7.2.2.4 Análise da interação de propranolol com excipientes pela técnica de Difração de raio-X

O difratograma obtido para o fármaco propranolol é apresentado na figura 67. A partir da figura 67, obteve-se a figura 68, a qual corresponde a ampliação da região correspondente à faixa de 10 a 30 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o propranolol.



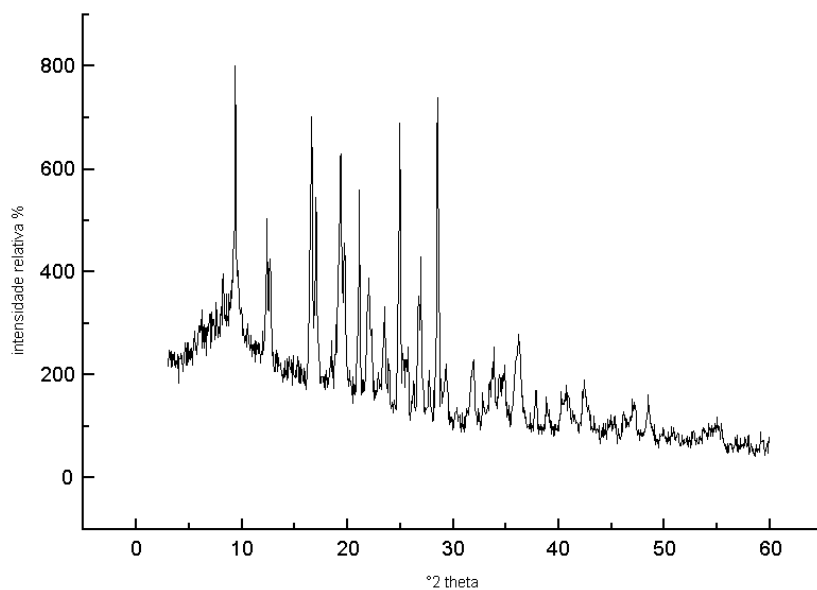
**Figura 67: Difratograma obtido para o fármaco Propranolol**



**Figura 68: Faixa de 10 a 30 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o fármaco propranolol**

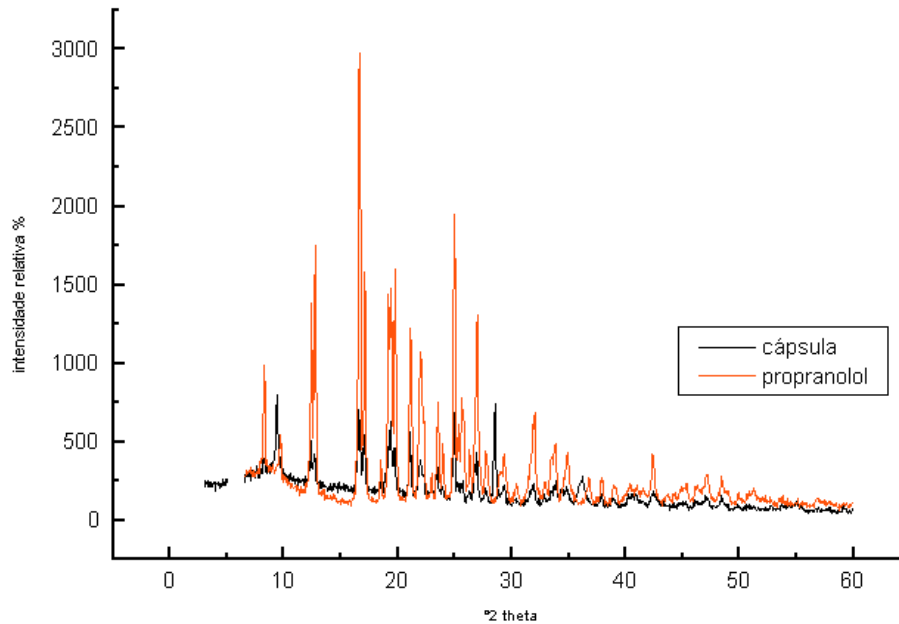
Na figura 68 observa-se a presença de picos sobrepostos. Os picos de maior intensidade obtidos para o fármaco propranolol correspondem a dois picos sobrepostos em  $2\theta = 12,4$  e  $12,74$ , outros dois em  $2\theta = 16,72$  e  $17,13$ ; além de três picos sobrepostos em  $2\theta = 19,17$ ;  $19,40$  e  $19,78$  e em  $2\theta = 25$ .

O padrão obtido para cápsulas manipuladas é apresentado na figura 69.



### Figura 69: Difratoograma obtido para o conteúdo das cápsulas de propranolol

A figura 70 apresenta os difratogramas da cápsula e do fármaco. Observa-se nesta figura a sobreponibilidade dos mesmos.



### Figura 70: Comparação entre difratogramas obtidos para o conteúdo das cápsulas de propranolol e fármaco

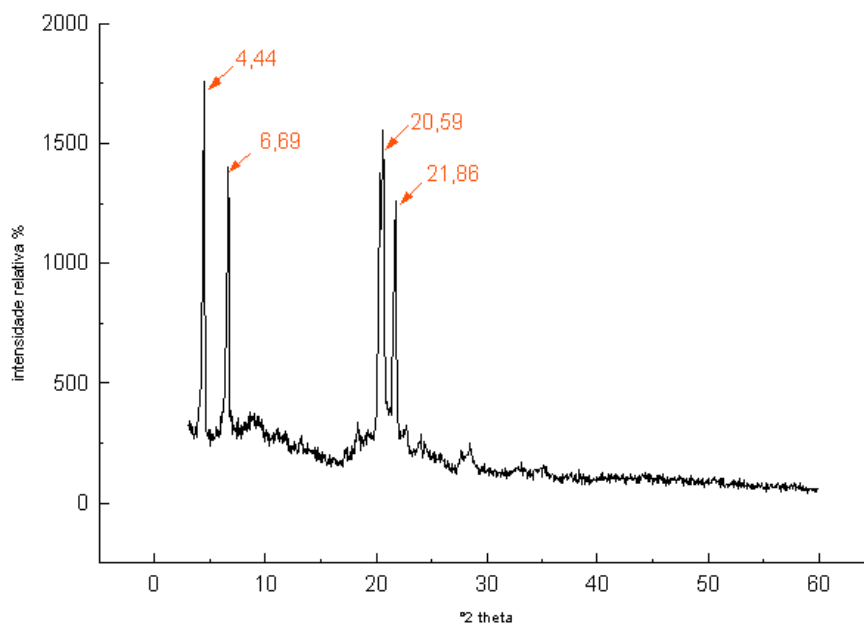
Foram obtidos os difratogramas para cada um dos excipientes utilizados na formulação: aerosil, amido, lauril sulfato de sódio, estearato de magnésio e talco.

A fim de investigar alterações na estrutura cristalina do fármaco, determinou-se os picos significativos e fez-se a verificação se os mesmos mantiveram-se nas mesmas posições nos difratogramas obtidos para a substância isolada e cápsula (mistura total).

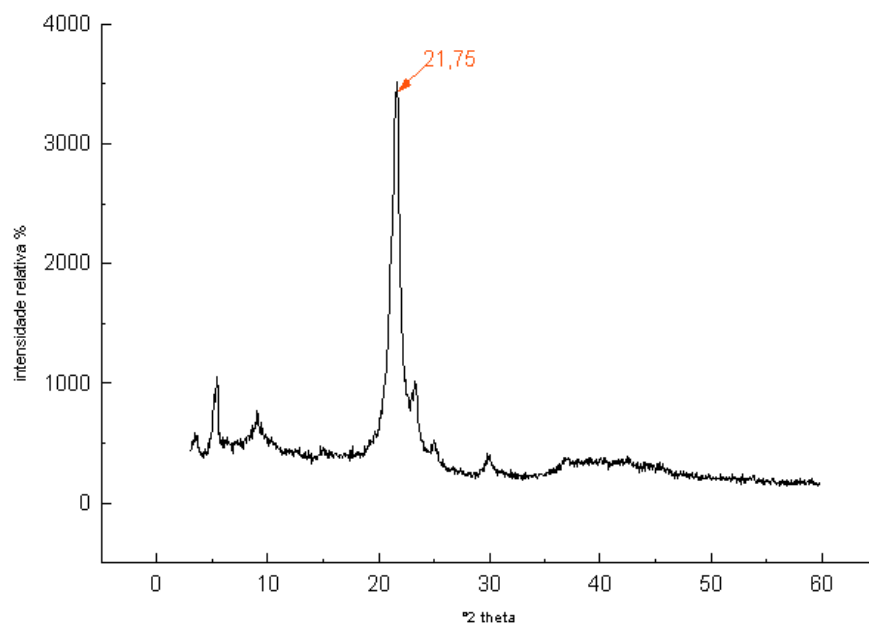
O aerosil conforme anteriormente discutido e apresentada a figura ilustrativa do perfil de difração de raio-X no item 5.2.2.4 apresenta difratograma típico de estruturas não cristalinas e está presente em baixa concentração na formulação.

O amido conforme anteriormente discutida e apresentada a figura ilustrativa do perfil de difração de raio-X no item 5.2.2.4 embora presente em quantidade significativa na formulação, apresenta difratograma típico de estruturas não cristalinas.

O Lauril Sulfato de Sódio (figura 71) e o Estearato de magnésio (figura 72) estão presentes em concentrações iguais a 1 e 0,5% respectivamente. Concentrações menores do que 5% não interferem significativamente na análise.

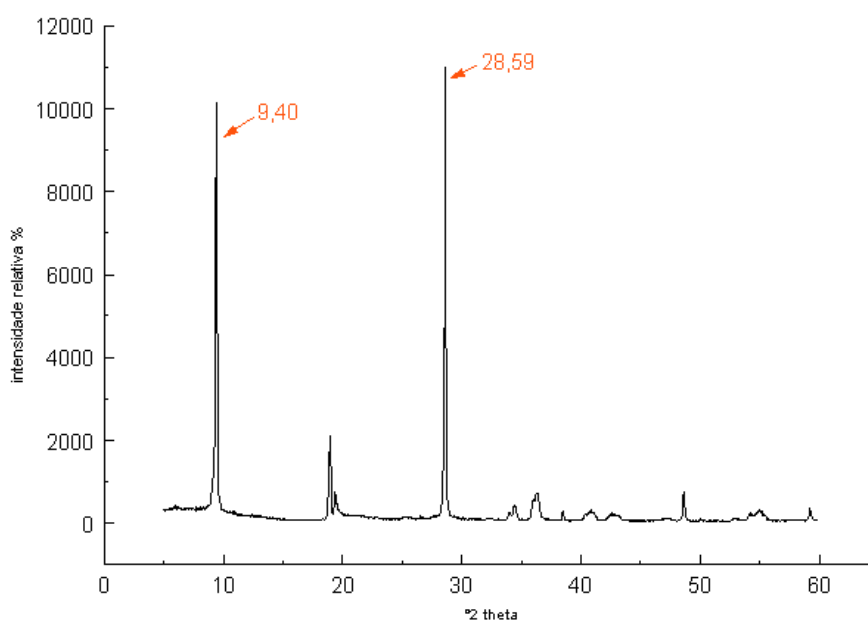


**Figura 71: Difratograma obtido para o Lauril Sulfato de Sódio**



**Figura 72: Difratograma obtido para o Estearato de Magnésio**

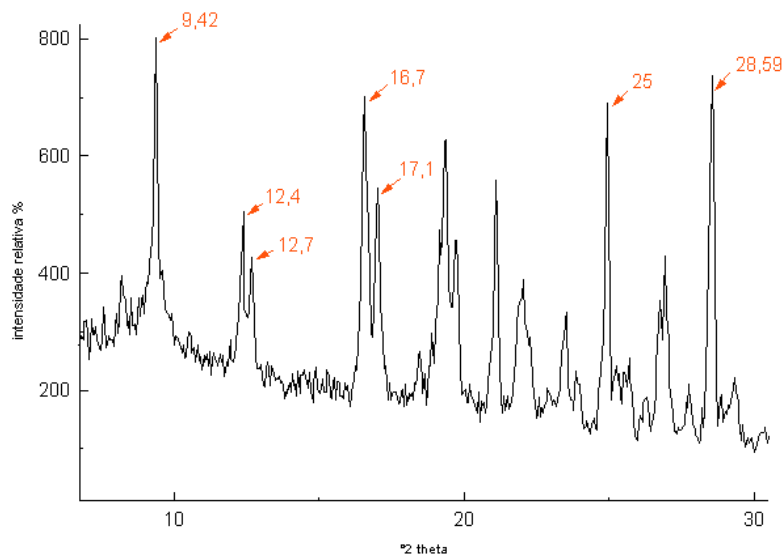
O talco (figura 73) é um excipiente que apresenta difratograma típico de estrutura cristalina, e está presente em quantidade significativa na formulação. Assim, determinou-se os picos mais significativos correspondentes a  $2\theta=9,40$  e  $28,59$ .



**Figura 73: Difratoograma obtido para o talco**

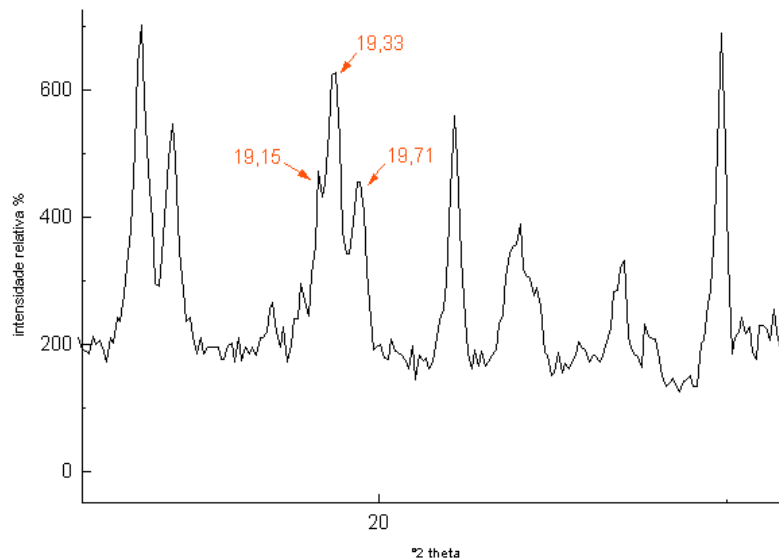
A partir da figura 69, obtiveram-se a figura 74, a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 9 a 30 de  $2\theta$  do difratograma obtido para as cápsulas.

Na figura 74 pode-se observar em  $2\theta=9,42$  um pico provavelmente relacionado ao talco. Em  $2\theta=12,4$  e  $12,7$  observa-se a presença de um pico sobreposto semelhante e nas mesmas posições dos picos observados no difratograma obtido para o propranolol. O mesmo ocorre em  $2\theta=16,7$  e  $17,1$ . Em  $2\theta=25$  detecta-se a presença de um pico semelhante ao encontrado na mesma posição no difratograma do fármaco, e em  $2\theta=28,59$  um pico isolado referente ao talco.



**Figura 74: Faixa de 9 a 30 de  $2\theta$  do difratograma obtido para o conteúdo das cápsulas**

Também a partir da figura 69 obtiveram-se a figura 75, a qual corresponde a ampliação da região correspondente a faixa de 18 a 24 de  $2\theta$  do difratograma obtido para as cápsulas. Nesta figura pode-se observar a presença de três picos sobrepostos, nas mesmas posições em que ocorrem picos sobrepostos no difratograma obtido para o propranolol, em  $2\theta=19,15$ ;  $19,33$ ;  $19,71$ .



**Figura 75:Faixa de 18 a 24 de  $2\theta$  do difratograma para o conteúdo das cápsulas**

Assim, pode-se constatar que não houve alteração do perfil de difração de raios-X na formulação da cápsula em comparação com o difratograma obtido para o fármaco isoladamente. Pode-se verificar no difratograma obtido para as cápsulas, picos significativos nas mesmas posições relativas, relacionados ao talco e ao propranolol, que são os componentes que apresentam estrutura cristalina e constituem quantidade significativa na formulação.

Desta forma, sugere-se que não ocorre alteração da estrutura cristalina do fármaco na presença dos excipientes.

## **8. Discussão Geral**



O presente trabalho apresentou metodologias de avaliação dos parâmetros de qualidade de cápsulas de antihipertensivos. Além dos testes mínimos exigidos na RDC 33, foram efetuadas análises complementares seguindo outras monografias oficiais visando à garantia da qualidade de produtos manipulados.

Para a validação das metodologias e comparação de resultados, é necessário utilizar um padrão de referência, o qual corresponde a um composto de alta pureza que está bem caracterizado. De acordo com o *Food and Drug Administration* (FDA), há duas categorias de padrões de referência químicos: padrões de referência USP, os quais não necessitam de caracterização, e padrões de referência não compendiais que devem ser caracterizados para garantir sua identidade, teor, qualidade e pureza (FDA, 1994).

Em virtude da restrição orçamentária que compete às universidades públicas no Brasil, não foi possível adquirir padrão de referência USP para os três fármacos. Foram então utilizadas matérias-primas de lotes diferentes aos utilizados na manipulação das cápsulas.

Das técnicas preliminares de controle de qualidade da matéria-prima exigidas pela legislação: caracteres organolépticos, determinação da solubilidade, pH, faixa de fusão, densidade, perda por secagem, todos os resultados apresentaram conformidade com as especificações.

As informações referentes aos caracteres organolépticos de uma substância são genéricas e se destinam à avaliação preliminar da integridade da mesma. A descrição, por si, não é indicativa da pureza, devendo ser associada a outros testes farmacopéicos para assegurar que a substância esteja de acordo com a monografia (FB, 1988).

A análise das matérias primas por espectrometria no infra-vermelho atestou sua identidade. A espectrometria no infravermelho é ensaio de identificação por excelência, capaz de diferenciar substâncias por menores que sejam as diferenças. Algumas monografias especificam a execução dos espectros para a comparação

com espectros de referência. Como opção, havendo padrão de referência, pode-se efetuar os dois espectros simultaneamente (padrão e amostra) para a comparação por sobreposição (FB, 1988).

Há diferentes técnicas para efetuar-se determinações quantitativas de fármacos. A escolha deve basear-se na natureza da informação que se procura: pode haver a exigência de dados muito detalhados, ou em vez disso, resultados de um caráter geral podem ser suficientes. Deve-se considerar também a finalidade do dado analítico: controle de matérias primas ou de produtos acabados para a verificação da conformidade com especificações, ou como acompanhamento das etapas de um processo de manufatura. Para esta espécie de determinação podem ser empregados métodos rápidos e prontamente adaptáveis ao trabalho de rotina (Basset, 1981).

A determinação do teor do fármaco não é exigida pela legislação em vigor para as farmácias de manipulação na etapa de controle de qualidade da matéria-prima. Ela é exigida apenas no controle das preparações manipuladas. O presente estudo pode sugerir uma adequação da legislação vigente, uma vez que a determinação de teor do fármaco demonstrou interferir na qualidade das cápsulas manipuladas.

É facultado às farmácias de manipulação terceirizar o controle de qualidade para a realização da análise do teor, em laboratórios tecnicamente habilitados para este fim. A rota de validação aqui sugerida pode ser utilizada para capacitar tecnicamente a farmácia para a realização da análise de teor por técnicas acessíveis, como a titulação potenciométrica. A espectrometria na região do ultravioleta é também uma técnica que pode ser adotada por farmácias de grande porte, nas quais o volume de preparações justifique o investimento.

A titulação potenciométrica é descrita na literatura para doseamento dos fármacos. O método sugerido para o atenolol mostrou-se exato e preciso para o seu doseamento, porém, os resultados obtidos para enalapril e propranolol embora precisos, não foram exatos. O erro observado na titulação potenciométrica do

maleato de enalapril, provavelmente se deve à presença de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono).

Os métodos de titulação potenciométrica foram adaptados para o doseamento das cápsulas. Para as cápsulas de atenolol, os resultados demonstraram exatidão, precisão e especificidade. Para doseamento das cápsulas de enalapril, o método de titulação potenciométrica sugerido não se mostrou apropriado na presença dos excipientes usados na formulação. A técnica demonstrou exatidão e precisão para doseamento das cápsulas de propranolol, porém o método não foi validado em função dos resultados obtidos para o doseamento do fármaco.

Assim, o método de doseamento por titulação potenciométrica foi validado apenas para matéria-prima e cápsulas de atenolol.

A espectrometria-UV é um método farmacopéico sugerido para doseamento de cápsulas de atenolol e propranolol. O método foi validado para doseamento de fármacos.

O doseamento de atenolol, enalapril e propranolol por espectrometria-UV mostrou linearidade na faixa determinada, bem como exatidão, precisão e especificidade. Não foram encontradas na literatura técnicas de doseamento de enalapril por espectrometria-ultravioleta direta sem a utilização de complexos colorimétricos. Assim, a validação desta técnica para o enalapril realizada no presente trabalho é uma inovação e aprimoramento das técnicas de doseamento para o fármaco.

Na determinação de cápsulas de atenolol por espectrometria UV supõe-se que ocorre a interferência dos excipientes, aumentando os valores determinados. No entanto, os teores obtidos, ainda assim, mantiveram-se dentro da faixa aceitável. A especificidade não foi demonstrada, pois o coeficiente de variação percentual obtido no teste de recuperação da matéria-prima foi elevado.

As metodologias por espectrometria UV demonstraram precisão, exatidão e especificidade para doseamento das cápsulas de enalapril e propranolol.

As técnicas de doseamento por espectrometria-UV foram validadas para os fármacos atenolol, enalapril e propranolol; e para cápsulas de enalapril e propranolol.

A CLAE demonstrou precisão, exatidão e especificidade para doseamento de atenolol. As metodologias por CLAE para os fármacos enalapril e propranolol não demonstraram exatidão, nem especificidade, tendo em vista que a variação nos percentuais de recuperação obtidos foi elevada, conquanto pequena no doseamento.

O doseamento de cápsulas por CLAE demonstrou exatidão, precisão e especificidade para as manipuladas com os fármacos atenolol e propranolol. Para cápsulas de enalapril o método sugerido foi exato, porém o coeficiente de variação do teste de recuperação, foi muito alto demonstrando a falta de especificidade em alguns níveis de concentração.

Assim, as técnicas de doseamento por CLAE foram validadas para o fármaco atenolol; e para cápsulas de atenolol e propranolol.

A determinação de peso médio pode ser utilizada para estimar o conteúdo de substância ativa das cápsulas somente se existir a garantia de que o fármaco se encontra homogeneamente disperso no excipiente empregado para o enchimento da mesma (Villa-Jato, 1997).

As divergências de peso do conteúdo são determinadas a partir da quantidade nominal de enchimento. Deste modo obtêm-se informações sobre a homogeneidade do envase (FB, 1996).

Assim, este ensaio, fornece informações sobre a homogeneidade de encapsulação, ou seja, da quantidade em peso do material de enchimento. Porém

não traz informações sobre a homogeneidade de teor de fármaco nas cápsulas. Desse modo, uma distribuição homogênea de peso não significa necessariamente uma homogeneidade de dose. Para uma análise mais acurada, deve ser feita a determinação da uniformidade de doses unitárias.

A uniformidade das doses unitárias de formas farmacêuticas pode ser determinada por dois métodos: variação de peso e uniformidade de conteúdo. A metodologia empregada para a avaliação da uniformidade de dosagem nas cápsulas manipuladas foi a determinação da uniformidade de conteúdo. Esta trata de valorar a quantidade de princípio ativo medicamentoso existente em cada cápsula.

O presente trabalho demonstra a importância da determinação da uniformidade de conteúdo pela análise individual das cápsulas, apresentando uma forma mais criteriosa para avaliar a homogeneização de fármaco com excipientes.

Os resultados obtidos com a utilização desta técnica fornecem resultados mais representativos da uniformidade de dose do fármaco nas cápsulas. Determina-se, desta forma, rigorosamente a homogeneidade, não incorrendo no risco de fazer extrapolações errôneas, as quais poderiam ocorrer ao valorar o conteúdo de 10 unidades conjuntamente considerando distribuição homogênea do fármaco, sem comprovação da mesma.

É requerimento farmacopéico que o conteúdo de substância ativa em cada unidade posológica coincida com o especificado. Assim, o doseamento do fármaco nas cápsulas é uma análise fundamental indicativa da qualidade (Trillo, 1993; Vila-Jato, 1997).

Sugere-se a adoção da análise da uniformidade de conteúdo para validar o processo de manipulação nas farmácias individualmente, para cada fármaco. Desse modo, os procedimentos operacionais padrão de manipulação dos fármacos podem ser validados através da análise de cápsulas individualmente. Uma vez validados os procedimentos de manipulação, pode-se controlar o processo de homogeneização e encapsulação segundo os procedimentos de manipulação estabelecidos.

Desta forma, sugere-se que sejam validadas metodologias de determinação de teor tanto de matéria-prima quanto de cápsulas nas farmácias de manipulação. A rota de validação aqui sugerida pode ser utilizada para a validação das metodologias.

Salienta-se, ainda, a importância de seguir rigorosamente os critérios de validação, antes da adoção das metodologias na rotina de controle de qualidade. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que mesmo métodos farmacopéicos, estão sujeitos a erros de diferentes origens, podendo não reproduzir resultados confiáveis. Assim, as metodologias de análise devem ser validadas sob as condições específicas de cada laboratório.

O método de manipulação descrito e adotado para a manipulação de cápsulas neste trabalho, demonstrou produzir cápsulas com razoável uniformidade de conteúdo. Para aperfeiçoamento do processo, sugere-se a determinação de teor da matéria-prima e a adoção de fatores de correção de teor do fármaco, no caso de teores determinados diferentes de 100%, desde que dentro dos limites farmacopéicos. As matérias-primas com teor determinado fora das especificações devem ser descartadas.

Os testes de dissolução são especificados nas monografias dos três fármacos ao invés de testes de desintegração. A determinação do tempo de dissolução é um teste quantitativo, sendo desta forma um indicativo mais preciso de parâmetros de qualidade do que a demonstração apenas da ocorrência de desintegração das cápsulas.

O teste de dissolução determina a porcentagem de princípio ativo liberado no meio de dissolução, dentro do período de tempo especificado, quando o mesmo é submetido à ação de aparelhagem específica, sob as condições experimentais descritas. O teste visa a demonstrar se o produto atende às exigências constantes na monografia de cada medicamento (FB, 1988).

Os tempos de dissolução determinados para as cápsulas dos três fármacos mantiveram-se dentro das especificações farmacopéicas delineadas para comprimidos dos mesmos fármacos, visto não haver monografia das cápsulas estudadas.

Não foram detectadas interações dos fármacos com os excipientes sugeridos na literatura, através da técnica de difração de raios-X. Esta análise é relevante, em virtude de muitos compostos serem capazes de cristalizar em mais de uma forma cristalina. Em algumas temperaturas e pressões particulares, apenas uma forma cristalina (polimorfo) é termodinamicamente estável. Uma vez que a taxa de transformação de fase de um polimorfo metaestável para um estável pode ser consideravelmente lenta, não é incomum encontrar diferentes polimorfos de um composto farmacêutico cristalino existente sob condições normais de manipulação.

Além de exibir polimorfismo, muitos compostos formam solvatos cristalinos nos quais a molécula do solvente é parte integrante da estrutura cristalina. Da mesma forma que todo polimorfo tem seu próprio perfil de difração de Raios-X assim também em algumas instâncias, os polimorfos e ou solvatos apresentam taxas de dissolução diferentes. Assim, na escala de tempo de biodisponibilidade farmacêutica, diferentes conteúdos totais de medicamento são dissolvidos, resultando em uma potencial bioinequivalência das diferentes formas do medicamento (USP, 2000).

Visto que todo material cristalino provê um único padrão de difração de raios-X, o estudo de padrões de difração de fases desconhecidas oferece um poderoso meio de identificação qualitativa. Diferentes fases em uma mistura podem ser identificados por meio de seus padrões de difração de raios-X. Os espaçamentos entre os máximos difratados e suas intensidades relativas podem ser usados para análise qualitativa e quantitativa de um material cristalino (Jenkins, 1995; USP, 2000).

Os resultados obtidos com este trabalho demonstram que as farmácias de manipulação podem produzir cápsulas com bom perfil de qualidade. Porém,

demonstram também a necessidade do controle da qualidade em todas as etapas do processo, desde a matéria prima, o procedimento de manipulação e o controle de produto acabado, pois assim como podem ser produzidas cápsulas de boa qualidade, também podem ser obtidas cápsulas que não atendem às especificações farmacopéicas se os parâmetros indicativos da qualidade não forem controlados.

À medida que a classe farmacêutica toma consciência do estreito limiar existente entre a qualidade e a ausência dela, buscando a garantia da qualidade dos produtos manipulados, aumenta a segurança e eficácia dos tratamentos farmacológicos, aumentando a confiança da população, da classe médica, estimulando e justificando o controle da qualidade em todo o processo.

A busca da qualidade é um processo evolutivo de aprendizagem. Mesmo processos e metodologias já validados devem ser continuamente monitorados e revalidados, buscando sempre melhoria no perfil de qualidade e um aprimoramento constante. Este aprimoramento implica necessariamente numa mudança comportamental. Não há aprendizagem se não há mudança de comportamento.

“A ciência aproxima-se da verdade, mas não chega a ela jamais: a revelação é impossível.” (*Carlos Vogt*)



## **9 Conclusões**

- O método de manipulação de cápsulas por nivelamento descrito neste trabalho, e adotado para a manipulação das cápsulas, demonstrou produzir cápsulas com razoável uniformidade de conteúdo. Para aperfeiçoamento do processo de manipulação, sugere-se a determinação do teor da matéria-prima nas farmácias, para que possam ser descartadas as matérias-primas com teor fora das especificações farmacopéicas.

- O conjunto das análises aplicadas aos fármacos, mostrou-se adequado para avaliação da matéria-prima: caracteres organolépticos, determinação da solubilidade, pH, faixa de fusão, densidade, perda por secagem, identificação por espectrometria no infravermelho e doseamento. Da mesma forma, a seqüência de técnicas apresentadas demonstrou-se apropriada para a avaliação da qualidade de cápsulas dos fármacos: peso médio, uniformidade de conteúdo, doseamento, dissolução, análise de interação com excipientes pela técnica de difração de raios X.

- Em relação à validação das metodologias analíticas desenvolvidas para o doseamento dos fármacos, a titulação potenciométrica foi validada para doseamento do fármaco e cápsulas de atenolol; a espectrometria de absorção no ultravioleta foi validada para doseamento dos fármacos atenolol, enalapril e propranolol e para as cápsulas de enalapril e propranolol enquanto que a CLAE foi validada para o doseamento do fármaco atenolol e das cápsulas de atenolol e propranolol.

- O presente trabalho permitiu a comparação do uso de diferentes metodologias analíticas para o doseamento do fármaco e de cápsulas de atenolol, propranolol e enalapril.

- As técnicas de avaliação da qualidade apresentadas podem ser implementadas por farmácias de manipulação, com exceção das técnicas instrumentais que não são economicamente viáveis: Cromatografia líquida de alta eficiência, difração de raios-X, espectrometria no infra-vermelho e dissolução. As técnicas de doseamento de fármacos podem ser aplicadas nas farmácias magistrais, através do uso da titulometria ou espectrometria no ultravioleta, desde que mediante processo de validação, como o sugerido neste trabalho.



## 10 Referências bibliográficas

ABDEL-HAMID, M. E. **Comparative LC-MS and HPLC analyses of selected antiepileptics and beta-blocking drugs.** II Farmaco, 55, p.136-145, 2000.

ALLEN JR. L. V.; ERICKSON, M. A. **Stability of alprazolam, chloroquine phosphate, cisapride, enalapril maleate, and hydralazine hydrochloride in extemporaneously compounded oral liquids.** American Journal of Health-System Pharmacy: AJHP: Official Journal of the American Society of Health- Pharmacists, Volume 55, Issue 18, p.1915-1920, September, 1998.

ALLEN, L. V. **Enchimento de cápsulas.** International Journal Pharmaceutical compounding. (Edição Brasileira). Vol 2 no.1 Rx Editora & Publicidade. Janeiro/Fevereiro, 2000.

ANZENBACHEROVÁ, E.; ANZENBACHER, P.; MACCK, K.; KVETINA, J. **Determination of enzyme (angiotensin convertase) inhibitors based on enzymatic reaction followed by HPLC.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 24, p. 1151-1156, 2001.

ARGEKAR, A. P.; POWAR, S. G. **Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 21, p. 1137-1142, 2000.

AYAD, M. M.; Shalaby, A. A., Abdellatef, A. E., Hosny, M. M. **Spectrophotometric and AAS determination of ramipril and enalapril through ternary complex formation.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 28, p.311-321, 2002.

BASCI, N. E.; TEMIZER, A.; BOZKURT, A.; ISIMER, A. **Otimization of mobile phase in the separation of  $\beta$ -blockers by HPLC.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 18, p. 745-750, 1998.

BASSET, J.; DENNEY, R. C.; JEFFERY, G. H.; MENDHAM, J. **Vogel- Análise Inorgânica Quantitativa.** Editora Guanabara Dois, 4<sup>a</sup>ed, Rio de Janeiro, 1981.

BRASIL, Secretaria de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, **Portaria nº 116 de 22 de novembro de 1995.** Diário Oficial da União de 23 de novembro de 1995.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVS- **RDC n.33/2000 de 19 de abril de 2000.**

**British Pharmacopoeia.** London: The Stationery Office, 2000.

BRITTAI, H.G. **Validação de métodos analíticos não cromatográficos.** Pharmaceutical Technology, junho, 1998.

CHALMERS J. et al. **WHO-ISH Hypertension Guidelines Committee. 1999 World Health Organization -International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension.** Journal of Hypertension, 17, p.151-185, 1999.

EL RIES, M. A.; ABOUT ATTIA, F. M.; IBRAHIM, S. A. **AAS and spectrophotometric determination of propranolol HCl and metoprolol tartrate.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 24, p.179-187, 2000.

EL WALILY, A. F. M.; BELAL, S. F.; HEABA E. A.; EL KERSH, A. **Simultaneous determination of enalapril maleate and hydrochlorothiazide by first-derivative ultravioleta spectrophotometry and high-perforamnce liquid chromatography.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 13, p. 851-856, 1995.

**European Pharmacopoeia Supplement**, 3<sup>a</sup>ed, Strasbourg: Council of Europe, 2001.

**European Pharmacopoeia**, 3<sup>a</sup>ed, Strasbourg: Council of Europe, 1997.

**Farmacopéia Brasileira**. 3<sup>a</sup> edição. São Paulo:Organização Andrei Editora, 1977.

**Farmacopéia Brasileira**. 4<sup>a</sup> edição: Parte I. Atheneu Editora São Paulo LTDA. São Paulo, 1988.

**Farmacopéia Brasileira**. 4<sup>a</sup> edição: Parte II. Atheneu Editora São Paulo LTDA. São Paulo, 1996.

FDA- Center for drug evaluation and research (CDER). **Reviewer Guidance- Validation of Chromatographic Methods**. 1994.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. Juiz de Fora, 2000.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. Edição revisada. Juiz de Fora, 2001.

GENNARO, A. R. (Ed). Remington **The Science and practice of pharmacy**. 19<sup>ed</sup> Vol II Med Easton: Mack Publishing Company, 1995.

HACKMANN, E. C.; Beneton, S. A.; Santoro, M. I. R. M. **Espectrometria derivada na análise de fármacos em medicamentos**. Rev. Port. Farm., Vol XLI, nº1, 1991.

HARDMAN, J. E.; Limbird, L. E.; Molinoff, P. B.; Ruddon, R. W.; Gilman, A. G. **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 1996.

ICH-Q2A, **Text on Validadation of analytical procedures- Guideline for industry**, 1995.

IRIARTE, M. M.; CASO, R.; MURGA, N.; LOPEZ DE ARGUMEDO, M.; SAGASTAGOITIA, D. **Microvascular angina in systemic hypertension: diagnosis and tretment with enalapril**. University of the Basque Country Institue of Cardiology, Bilbao (Bizkaia), Spain. Am J Cardiol (UNITED STATES), 76 (13), p.31-34, Nov, 1995.

IWAI T.; TANONAKA K.; KASAHARA S.; INOUE R.; TAKEO S. **Protective effect of propranolol on mitochondrial function in the ischaemic heart**. British journal of pharmacology 136 (3), p. 472-480, Jun, 2002.

JENKINS R.; de VRIES J.L. **An Introductioen to X-ray powder diffractometry**. Copyright N.V. Philips Gloeilampenfabrieken – Eindhoven – Holland, 1995.

KONSTAM, M. A. **Angiotensin converting enzyme inhibition in asymptomatic left ventricular systolic dysfunction and early heart failure.** Department of Medicine, new England Medical center, Boston, Massachusetts 02111, USA. Eur Heart J (ENGLAND) p.59-64, Dec, 1995.

KOROLKOVAS, A. **Análise farmacêutica.** Editora Guanabara, 1988.

\_\_\_\_\_. *et al.* **Dicionário Terapêutico Guanabara** Editora Guanabara Koogan S. A, 2000.

LAW, B.; APPLEBY, J. R. G. **The application of strong cation exchange high-performamnce liquid chromatography in drug analysis.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 17, p. 1199-1203, 1998.

\_\_\_\_\_; HOUGHTON, S. J.; BALLARD, P. **An approache to evaluation and comparison of reversed-phases high performamnce liquid chromatography stationary phases.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 17 p. 443-453, 1998.

\_\_\_\_\_; TEMESI, D. **Factors to consider in the development of generic bioanalytical high-performamnce liquid chromatographic-mass spectrometric methods to support drug discovery.** Journal of Chromatography B 748, p.21-30, 2000.

LE HIR, A. **Farmácia galênica.** Barcelona: Masson, S.A.1995.



McEVOY, G.K. **AHFS Drug information 1999**. 40th Edition Revised American Society of Health-System Pharmacists, February, 1999.

McPHEE, S.J. Lingappa, V.R. Ganong, W.F. Lange, J.D. **Pathophysiology of Disease**, Appleton and Lange, 2 ed. p.269-274, 1997.

**Ministério da Saúde/SE/ Datasus - Sistema de Informações Hospitalares do SUS - SIH/SUS, 1999**. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>>. Acesso em: janeiro 2001.

MODAMIO, P.; LASTRA C. F.; MONTEJO, O.; MARIÑO, E. L. **Development and validation of liquid chromatography methods for the quantitation of propranolol, metoprolol, atenolol and bisoprolol: application in solution stability studies**. International journal of pharmaceutics, 130, p.137-140, 1996.

MOFFAT A. C. (editor), **Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem material**. 2a ed. London, The pharmaceutical press, 1986.

MUNSON, P. L. **Principles of Pharmacology – Basic concepts & Clinical Applications**. Chapman & Hall, New York, 1996.

NEEDHAM, S. R.; BROWN, P. R.; DUFF, K. BELL, D. **Optimized stationary phase for the high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometric analysis of basic pharmaceuticals**. Journal of Chromatography A 869, p. 159-170, 2000.

ONEIL, M. J. *et al*, **The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals**. 30<sup>a</sup> ed. Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA, 2001.

PATEL, Y. P.; PATIL, S.; BHOIR, I. C.; SUNDARESAN, M. **Isocratic, simultaneous reversed-phase high-performamnce liquid chromatographic estimation of six drugs for combined hypertension therapy**. Journal of Chromatography A, 828, p. 283-286, 1998.

PAWLAK, Z.; CLARK, B. J. **The assay and resolution of the beta-blocker atenolol from its related impurities in a tablet pharmaceutical dosage form**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Vol 10, Issue 5, p. 329-334, May, 1992.

QIN, X.; DEMARCO, J.; DOMINIC P. IP.; **Simultaneous determination of enalapril, felodipina and their degradation products in the dosage formulation by reversed-phase high-performamnce liquid chromatography using a Spherisorb C<sub>8</sub> column**. Journal of Chromatography A, 707, p. 245-254, 1995.

RECH, N. **Controle de qualidade e estudo da estabilidade do maleato de enalapril**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1993.

REYNOLDS, J. E. F. **Martindale – The Extra Pharmacopoeia**. Royal Pharmaceutical Society. 31<sup>a</sup> ed. London, 1996.

ROUGE, N. ; ALLÉMANN, E.; GEX-FABBRY, M.; BALANT, L.; COLE, E. T., BURI, P.; DOELKER, E. **Comparative pharmacokinetic study of a floating multiple-unit capsule, a high-density multiple-unit capsule and an immediate-release tablet containing 25mg atenolol** . Pharmaceutica Abta Helvetiae,73, p.81-87, 1998.

SATO T. **Other antiarrhythmic agents.** 2<sup>nd</sup> Department of Internal Medicine, Teikyo University School of Medicine. Nippon Rinsho (JAPAN) 54 (8) p. 2138-2143, Aug, 1996.

SIGURDSSON, A.; Swedberg K. **Neurohormonal activation and congestive heart failure: today's experience with ACE inhibitors and rationale for their use.** Department of Medicine, Ostra University Hospital, Goteborg, Sweden. Eur Heart J (ENGLAND) p. 65-72, Dec, 1995.

SILVERSTAIN, R. M.; WEBSTER F. X. **Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos.** LTC, Livros técnicos e científicos Editora S.A. 6<sup>a</sup>ed. 2000.

TAJERZADEH, H.; HAMIDI, M. **A simple HPLC method for quantification of enalaprilat.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 24, p.675-680, 2001.

**The United States Pharmacopeia USP 24, The National Formulary NF 19.** United States Pharmacopeial Convention, INC. Rockville, 1999 – Official from January, 2000.

TODD, P. A.; GOA, K. L. **Enalapril – A Reappraisal of its Pharmacology and Therapeutic Use in Hypertension.** Drugs 43 (3), p.346-381, 1992.

TRILLO, F.I. *et al.* **Tratado de Farmacia Galénica.** Madrid - España: Luzan S. S. A. de Ediciones, 1993.

USP – DI – **The information for the health care professional.** 19<sup>th</sup>. Ed. Rockville, USA, The United States Pharmacopoeia Convention Inc., 2000.

VILA-JATO, J. L. **Tecnologia farmacêutica. Formas Farmacêuticas.** Vol I e II. Madrid. Sintesis, 1997.

VIVO-TRUYOLS, G.; TORRES-LAPASIÓ, J. R.; GARCÍA-ALVAREZ-COQUE, M. C. **Complementary mobile-phase optimization for resolution enhancement in high performance liquid chromatography.** Journal of chromatography A, 876, p.17-35, 2000.

WADWORTH, A. N.; MURDOCH, D.; BROGDEN R. N. **Atenolol – A Reappraisal of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Cardiovascular Disorders.** Drugs 42 (3), p. 468-510, 1991.

## 10. ANEXOS

### Anexo A

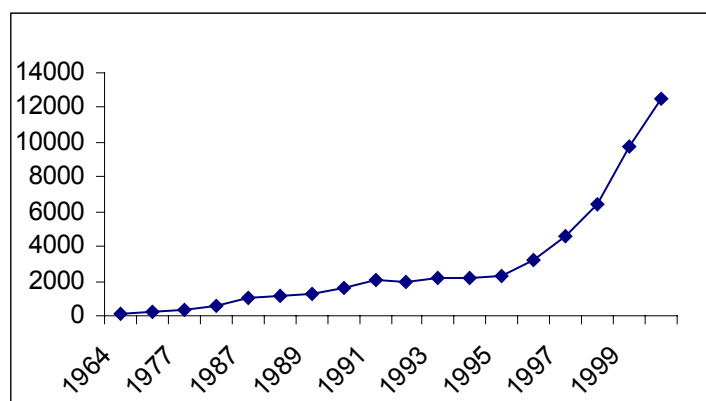
#### Demonstrativo do crescimento de farmácias de manipulação em Santa Catarina de 1964 a 2001

| Ano  | Farmácias estabelecidas no ano | Farmácias que fecharam no ano | Crescimento (%) em relação ao ano anterior |
|------|--------------------------------|-------------------------------|--|
| 1964 | 1                              |                               |  |
| 1973 | 1                              |                               | 100  |
| 1977 | 1                              |                               | 50   |
| 1985 | 2                              |                               | 66,66666667                                |
| 1987 | 2                              |                               | 40   |
| 1988 | 4                              |                               | 57,14285714                                |
| 1989 | 2                              | 1                             | 9,090909091                                |
| 1990 | 1                              |                               | 8,333333333                                |
| 1991 | 5                              | 1                             | 30,76923077                                |
| 1992 | 6                              | 1                             | 29,41176471                                |
| 1993 | 2                              | 3                             | -4,545454545                               |
| 1994 | 6                              | 4                             | 9,523809524                                |
| 1995 | 3                              | 3                             | 0  |
| 1996 | 3                              | 2                             | 4,347826087                                |
| 1997 | 10                             | 1                             | 37,5                                       |
| 1998 | 15                             | 1                             | 42,42424242                                |
| 1999 | 20                             | 2                             | 38,29787234                                |
| 2000 | 34                             |                               | 52,30769231                                |
| 2001 | 27                             |                               | 27,27272727                                |

(Tabela construída a partir dos dados Fornecidos pelo Conselho Regional de Farmácia de Santa Catarina CRF-SC)

## ANEXO B

### Representação gráfica do crescimento de farmácias de manipulação em Santa Catarina de 1964 a 2001



(Gráfico construído a partir dos dados Fornecidos pelo Conselho Regional de Farmácia de Santa Catarina CRF-SC)

