

**FREDERICO GUIMARÃES PERES**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA CÁPSULAS  
MAGISTRAIS E ESTUDO DE EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA DO  
CLORIDRATO DE METFORMINA 850MG REFERÊNCIA, GENÉRICO E SIMILAR**

**BRASÍLIA, 2013**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**FREDERICO GUIMARÃES PERES**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA CÁPSULAS  
MAGISTRAIS E ESTUDO DE EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA DO  
CLORIDRATO DE METFORMINA 850MG REFERÊNCIA, GENÉRICO E SIMILAR**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Ciências da  
Saúde pelo programa de Pós-Graduação em  
Ciências Saúde da Universidade de Brasília

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mônica Valero da Silva

Brasília

2013

**FREDERICO GUIMARÃES PERES**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA CÁPSULAS  
MAGISTRAIS E ESTUDO DE EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA DO  
CLORIDRATO DE METFORMINA 850MG REFERÊNCIA, GENÉRICO E SIMILAR**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Ciências da  
Saúde pelo programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Aprovado em 25 de fevereiro, 2013

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mônica Valero da Silva

Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dr. Prof. Dr. Guilherme M. Gelfuso

Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dra. Silvia Keli de B. Alcanfor

Universidade Católica de Brasília (UCB)

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, minha mãe Margareth Guimarães Peres e meu pai Virgílio de Melo Peres, responsáveis por todas as minhas vitórias e conquistas. A minha namorada Andressa, irmãos, familiares e amigos, pelo apoio e compreensão.

Obrigada por tudo. Amo vocês!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus

A toda a minha família em especial aos meus pais, pelo constante amor e apoio o que tornou possível todos os meus sonhos.

À Andressa Bezerra por todo amor, paciência, apoio, dedicação e companhia em todos os momentos.

Aos meus irmão pela amizade.

A minha orientadora, Professora Dra. Mônica Valero, pela oportunidade, orientação e apoio.

À professora Msc. Eloá Medeiros pela abertura das portas da Universidade Católica de Brasília para execução do estudo e por todo apoio e estímulo.

À professora Dra. Silvia Kelly B. Alcanfor um agradecimento especial pela dedicação, apoio, orientações e ensinamentos.

Aos amigos da Pós-graduação da Universidade de Brasília, em especial a Beatriz por toda a ajuda e apoio.

Ao prof. Dr. Guilherme Gelfuso por me receber tão bem quando o procurei, por toda a ajuda, apoio e por ter aceitado o convite para participar da banca examinadora.

À professora Dra. Janeth Naves pelo apoio e por aceitar participar da banca examinadora.

Aos colegas, técnicos e professores da Universidade Católica de Brasília, pela amizade, carinho, apoio e boas conversas.

Aos amigos da União Química Farmacêutica Nacional pelo apoio e estímulo.

À União Química Farmacêutica Nacional e à Farmacêutica Leandra de Sá pelo apoio no estudo.

Aos colegas de trabalho da Villas Boas Radiofármaco pelo apoio.

À todos que direta ou indiretamente participaram dessa difícil etapa da minha vida, fazendo esse sonho se tornar realidade.

A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.

*Albert Einstein*

## RESUMO

O cloridrato de metformina é um fármaco anti-hiperglicêmico indicado para tratamento da diabetes mellitus tipo 2, disponível sob as formas de comprimidos e cápsulas farmacêutica magistral. O setor magistral no Brasil vem se desenvolvendo a cada ano, representando um dos maiores mercados mundiais de medicamentos manipulados. Esse fato gera a crescente necessidade de monitorização da qualidade destes produtos, uma vez que ensaios de teor e de dissolução para a forma farmacêutica cápsulas não são contemplados em compêndios oficiais. Partindo do ponto que no Mercado Farmacêutico Brasileiro existe essa apresentação do cloridrato de metformina sendo dispensada em farmácias de manipulação, houve a necessidade de validar o método de análise e de dissolução para cápsulas do cloridrato de metformina 850 mg, sendo essa a dosagem mais prescrita na clínica médica. Considerando que não existe a apresentação de cápsulas industrializada do cloridrato de metformina, decidiu-se por ampliar a pesquisa realizando um estudo comparativo entre as formulações referência, genérico e similar disponíveis comercialmente, para verificar a bioequivalência entre eles, considerando que são fabricados por diferentes laboratórios. Os resultados mostraram que os métodos de análises e dissolução foram adequados para avaliação das cápsulas magistrais de cloridrato de metformina de 850 mg atendendo aos critérios de linearidade, especificidade, precisão, exatidão e robustez preconizada em normas e compêndios oficiais vigentes, logo podendo ser utilizados de modo seguro e confiável para controle de qualidade na rotina de farmácias de manipulação, assim como em indústrias farmacêuticas que possa a vir produzir essa apresentação do cloridrato de metformina. As condições selecionadas para o teste de dissolução foram 900 mL de tampão fosfato de potássio pH 6,8 como meio, utilizando o aparato 1, cesto de aço inoxidável, com velocidade de rotação de 100 rpm. Outro aspecto que foi avaliado foram os testes físicos e físico-químicos de identificação, determinação de peso, desintegração, dureza, friabilidade, teor e uniformidade de conteúdo nas formas farmacêuticas cápsulas e comprimidos, segundo a Farmacopeia Brasileira, 5ª edição. Todos os resultados destes testes físicos e físico-químicos para as diferentes formas farmacêuticas se apresentaram

de acordo, exceto o teste de teor para as cápsulas magistrais de cloridrato de metformina 850 mg. Um parâmetro que também foi avaliado com relação às apresentações referência, genéricos e similares foi a determinação da cinética de dissolução dos comprimidos, aplicando os modelos matemáticos de Ordem zero, Primeira ordem e Higushi. Em relação à cinética de dissolução, todos os produtos se enquadraram no modelo de Higushi, quando utilizados pontos anteriores à presença de um patamar nos perfis de dissolução, critério esse que indica o término do processo de dissolução. Comparações dos perfis de dissolução dos produtos referência, genéricos e similares através da eficiência de dissolução aplicando o teste One-Way ANOVA também foi realizado. Os valores obtidos para a eficiência de dissolução foram de 84,28%, 84,50%, 71,60%, 82,43% e 82,32% para os produtos R, G1, G2, S1 e S2 respectivamente, onde a eficiência de dissolução do produto G2 apresentou diferença em todos os tempos analisados comparando a todos os outros produtos. Os fatores  $f_1$  e  $f_2$  foram calculados e não demonstraram similaridade entre os produtos R e G2. Portanto, o produto G2 não pode ser considerado equivalente farmacêutico em relação ao produto R. Com isso, concluiu-se que em alguns casos, um produto genérico, ou mesmo similar que está no mercado, pode apresentar variações significativas quanto à eficácia terapêutica quando comparado ao produto referência, o mesmo pode acontecer com produtos manipulados em farmácias, pois a exigência quanto ao controle de qualidade dessas formulações magistrais, difere dos produtos industrializados por seguir normas reguladoras diferentes e com um nível de exigência inferior ao produzido em indústrias farmacêuticas.

Palavras-chave: Cloridrato de Metformina; Cápsulas Magistrais; Perfil de dissolução; validação; controle de qualidade.

## ABSTRACT

Metformin hydrochloride is an anti-hyperglycemic indicated for the treatment of diabetes mellitus type 2, available in the forms of tablets and manipulation pharmacy capsules. The manipulation sector in Brazil has been developing every year, representing one of the largest world markets for compounded drugs. This fact leads to increasing need for monitoring the quality of these products, since content assays and dissolution for the dosage form capsules are not included in official compendia. Starting from the point that the Brazilian Pharmaceutical Market is the presentation of metformin hydrochloride being dispensed from pharmacies, it was necessary to validate the method of analysis and dissolution for capsules of metformin hydrochloride 850 mg, which is the most commonly prescribed drug dosage medical clinic. Whereas there is no presentation of capsules industrialized metformin hydrochloride, it was decided to extend search conducting a comparative study between the reference product, similar and generic commercially available, to verify the bioequivalence between them, whereas they are manufactured by different laboratories. The results showed that the methods of analysis and dissolution were appropriate for evaluating the manipulation capsules metformin hydrochloride 850 mg given the criteria of linearity, specificity, precision, accuracy and robustness advocated in official compendia and regulations actual, so it can be used safe and reliable for the routine quality control of pharmacies, as well as in pharmaceutical industry that can come to this presentation of metformin hydrochloride. The conditions selected for the dissolution test were 900 mL of potassium phosphate buffer pH 6.8 as means using the apparatus 1, stainless steel basket with rotation speed of 100 rpm. Another aspect that was evaluated was the physical tests and physicochemical identification, determination of weight, disintegration, hardness, friability, content and content uniformity in capsules and tablets, according to Brazilian Pharmacopoeia, 5th edition. All results of these tests physical and physicochemical for different dosage forms are presented according except the test content for the manipulation capsules of metformin hydrochloride 850 mg. A parameter that was also assessed for the reference presentations, generic and similar was the determination of the kinetics of dissolution of tablets, applying

mathematical models of zero order, first order and Higushi. Regarding the kinetics of dissolution, all products fitted in the model Higushi when used earlier points to the presence of threshold dissolution profiles, this criterion indicating the end of the dissolution process. Comparison of the dissolution profiles of the reference products, generic and similar dissolution efficiency by applying the One-Way ANOVA test was also performed. The values obtained for the dissolution efficiency were 84.28%, 84.50%, 71.60%, 82.43% and 82.32% for products R, G1, G2, S1 and S2, respectively, where dissolution efficiency product G2 significant difference in all periods analyzed comparing to all other products. The factors  $f_1$  and  $f_2$  were calculated and showed no similarity between the products R and G2. Therefore, the product G2 cannot be considered equivalent in relation to the pharmaceutical product R. Thus, it was concluded that in some cases, a generic product, or similar product, which is on the market may vary significantly as therapeutic efficacy when compared to the reference product, the same can happen with products handled in pharmacies as a requirement regarding the quality control of these manipulation formulations, different from manufactured products follow different regulatory standards and with a lower level of demand in the pharmaceutical industries produced.

Keywords: Metformin hydrochloride; pharmaceutical capsules; dissolution profile; validation studies; quality control.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do cloridrato de metformina .....	28
Figura 2 - Produto R.....	50
Figura 3 - Produto G1.....	51
Figura 4 - Produto G2.....	51
Figura 5 - Produto S1 .....	52
Figura 6 - Produto S2 .....	52
Figura 7 - Cápsulas Magistrais.....	53
Figura 8 - Cloridrato de metformina SQT .....	72
Figura 9 - Matéria prima cloridrato de metformina.....	73
Figura 10 - Espectro das soluções de cloridrato de metformina em água e em tampão fosfato pH 6,8 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ .....	75
Figura 11 - Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier para cloridrato de metformina.....	76
Figura 12 - Representação gráfica da linearidade do método para dosagem do cloridrato de metformina.....	77
Figura 13 - Resultados da estabilidade da solução de cloridrato de metformina em água ultrapura .....	82
Figura 14 - Representação gráfica da linearidade do método de dissolução para o cloridrato de metformina.....	83
Figura 15 - Varredura no espectro de absorção por espectrofotometria UV do cloridrato de metformina em tampão fosfato de potássio monobásico pH 6,8 .....	85

Figura 16 - Resultado obtido no estudo de estabilidade das soluções de cloridrato de metformina em 4 horas. ....	88
Figura 17 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto G1. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades .....	97
Figura 18 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto G2. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades .....	98
Figura 19 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto S1. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades .....	98
Figura 20 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto S2. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades .....	99
Figura 21 - Perfil de dissolução para Cápsula de cloridrato de metformina 850 mg	101
Figura 22 - ED % em 15 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades .....	102
Figura 23 – ED % em 30 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades .....	103
Figura 24 – ED % em 45 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades .....	104
Figura 25 - Modelo cinético de ordem zero para o produto G2 .....	107
Figura 26 - Modelo cinético de Higushi para o produto R .....	107
Figura 27 - Modelo cinético de Higushi para o produto G1 .....	108
Figura 28 - Modelo cinético de Higushi para o produto S1 .....	108
Figura 29 - Modelo cinético de Higushi para o produto S2.....	109
Figura 30 - Modelo cinético de Higushi para o produto R .....	110
Figura 31 - Modelo cinético de Higushi para o produto S1.....	110

Figura 32 - Modelo cinético de Higushi para o produto S2.....	111
Figura 33 - Modelo cinético de Higushi para o produto G1 .....	111
Figura 34 - Modelo cinético de Higushi para o produto G2 .....	112

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soluções para a construção da curva analítica de cloridrato de metformina por espectrofotometria UV .....	57
Tabela 2 – Parâmetros empregados para avaliar a exatidão por espectrofotometria no UV .....	60
Tabela 3 - Condições experimentais utilizadas para o ensaio de dissolução das cápsulas magistrais.....	61
Tabela 4 - Parâmetros empregados para avaliar a exatidão por espectrofotometria no UV .....	65
Tabela 5 - Limites de aceitação de comprimidos e cápsulas no teste de determinação de peso (6).....	66
Tabela 6 - Resultados do estudo de Linearidade do Método Analítico para doseamento do cloridrato de metformina .....	78
Tabela 7 - Valores obtidos para o limite de detecção e quantificação do método analítico por espectrofotometria-UV/Visível.....	78
Tabela 8 - Precisão intra-dia e inter-dia para método analítico do cloridrato de metformina .....	80
Tabela 9 - Exatidão do método de espectrofotometria UV para a quantificação de cloridrato de metformina em cápsulas.....	80
Tabela 10 - Método de análise com emprego de papel de filtro quantitativo com diferentes especificações .....	81
Tabela 11 - Resultados do estudo de linearidade ensaio de dissolução .....	84
Tabela 12 - Resultados obtidos para especificidade .....	85
Tabela 13 - Valores do teor (%) obtidos para avaliação da precisão intra-dia e inter-dia .....	86

Tabela 14 - Valores obtidos para o teste de recuperação do ensaio de dissolução para amostras de cloridrato de metformina 850 mg .....	87
Tabela 15 - Ensaio de dissolução com emprego de fosfato de potássio monobásico de diferentes fabricantes e papel de filtro quantitativo com diferentes especificações .....	87
Tabela 16 - Resultados do peso médio e das variações encontradas entre os medicamentos referência, genéricos e similares.....	89
Tabela 17 - Resultados do peso médio e das variações da cápsula magistral do cloridrato de metformina 850 mg.....	90
Tabela 18 - Valores obtidos no teste de friabilidade para os comprimidos não revestidos.....	91
Tabela 19 - Valores médios obtidos no teste de dureza para os comprimidos (n = 10) .....	91
Tabela 20 - Valores obtidos no teste de desintegração para os comprimidos e cápsula magistral .....	93
Tabela 21 - Valores obtidos no doseamento das amostras dos comprimidos por espectrofotometria UV.....	93
Tabela 22 - Variação do teor (%) unitário de comprimidos e cápsulas de cloridrato de metformina no ensaio de uniformidade de conteúdo.....	95
Tabela 23 - Valores médio da porcentagem de cloridrato de metformina dissolvido ( $\pm$ desvio padrão) em função do tempo .....	97
Tabela 24 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 15 minutos .....	102
Tabela 25 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 30 minutos .....	103

Tabela 26 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 45 minutos .....	104
Tabela 27 - Matriz de correlação dos dados com as estimativas dos modelos Ordem Zero, Primeira Ordem e Higushi em 15 minutos .....	106
Tabela 28 - Matriz de correlação dos dados com as estimativas dos modelos Ordem Zero, Primeira Ordem e Higushi em 30 minutos .....	109

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação dos testes segundo sua finalidade .....	35
Quadro 2 - Ensaio necessários para validação do método analítico, segundo sua finalidade.....	35
Quadro 3 - Fatores que devem ser considerados na determinação da robustez de método analítico .....	40
Quadro 4 - Classificação da solubilidade dos fármacos.....	54
Quadro 5 - Aplicação do método de UC ou de VP de acordo com a forma farmacêutica, dose e proporção do fármaco (6).....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	Associação Americana de Diabetes
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CV	Coefficiente de variação
DPR	Desvio Padrão Relativo
FDA	Food and Drug Administration
mg	miligramas
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
PKa	Constante de acidez ou constante de dissociação ácida
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RE	Resolução
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutica
UV	Ultravioleta
SQT	Substância Química de Trabalho
mL	Mililitro
ED%	Eficiência de dissolução em porcentagem
UC	Uniformidade de conteúdo
VP	Variação de peso



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1 DIABETES <i>MELLITUS</i> .....	25
2.2 CLORIDRATO DE METFORMINA .....	27
2.3 FORMULAÇÕES MAGISTRAIS E SEU CONTROLE .....	29
2.4 FORMULAÇÕES REFERÊNCIA, SIMILARES E GENÉRICOS NO MERCADO BRASILEIRO.....	31
2.5 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA.....	34
<b>2.5.1 Limite de Detecção</b> .....	<b>36</b>
<b>2.5.2 Limite de Quantificação</b> .....	<b>36</b>
<b>2.5.3 Especificidade e Seletividade</b> .....	<b>37</b>
<b>2.5.4 Linearidade</b> .....	<b>38</b>
<b>2.5.5 Exatidão</b> .....	<b>38</b>
<b>2.5.6 Precisão</b> .....	<b>39</b>
<b>2.5.7 Robustez</b> .....	<b>40</b>
2.6 DISSOLUÇÃO E PERFIL DE DISSOLUÇÃO.....	41
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>47</b>
3.1 GERAL .....	47
3.2 ESPECÍFICOS .....	47
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES.....	48
4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS .....	48
4.3 AMOSTRAS .....	49
<b>4.3.1 Produto R (Glifage® - Merck) .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.2 Produto G1 .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3.3 Produto G2.....</b>	<b>51</b>
<b>4.3.4 Produto S1 .....</b>	<b>51</b>
<b>4.3.5 Produto S2 .....</b>	<b>52</b>
<b>4.3.6 Cápsula magistral.....</b>	<b>53</b>
4.4 MÉTODOS .....	53
<b>4.4.1 Testes de qualidade para cloridrato de metformina e substância química de trabalho .....</b>	<b>53</b>
<b>4.4.2 Validação de método analítico por espectrofotometria-UV/Visível para quantificação de cloridrato de metformina em cápsulas magistrais.....</b>	<b>56</b>
<b>4.4.3 Validação de ensaio de dissolução para cloridrato de metformina 850 mg em cápsulas magistrais .....</b>	<b>61</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
5.1 TESTES DE QUALIDADE PARA CLORIDRATO DE METFORMINA E SQT .....	72
<b>5.1.1 Descrição .....</b>	<b>72</b>
<b>5.1.2 Solubilidade .....</b>	<b>73</b>
<b>5.1.3 Temperatura de fusão .....</b>	<b>73</b>

<b>5.1.4 Varreduras espectrais</b> .....	<b>74</b>
<b>5.1.5 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho</b> .....	<b>75</b>
5.2 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA-UV/VISÍVEL PARA QUANTIFICAÇÃO DE CLORIDRATO DE METFORMINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS .....	76
<b>5.2.1 Linearidade</b> .....	<b>76</b>
<b>5.2.2 Limite de detecção e quantificação</b> .....	<b>78</b>
<b>5.2.3 Especificidade</b> .....	<b>79</b>
<b>5.2.4 Precisão</b> .....	<b>79</b>
<b>5.2.5 Exatidão</b> .....	<b>80</b>
<b>5.2.6 Robustez</b> .....	<b>81</b>
<b>5.2.7 Validação de ensaio de dissolução para cloridrato de metformina 850 mg em cápsulas magistrais</b> .....	<b>82</b>
5.3 RESULTADOS DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS APRESENTAÇÕES DE CLORIDRATO DE METFORMINA 850 MG .....	88
<b>5.3.1 Aspecto</b> .....	<b>88</b>
<b>5.3.2 Determinação de Peso</b> .....	<b>89</b>
<b>5.3.3 Friabilidade</b> .....	<b>90</b>
<b>5.3.4 Determinação da Dureza</b> .....	<b>91</b>
<b>5.3.5 Desintegração</b> .....	<b>92</b>
<b>5.3.6 Doseamento</b> .....	<b>93</b>
<b>5.3.7 Uniformidade de Conteúdo</b> .....	<b>94</b>

**5.3.8 Perfil de Dissolução Comparativo .....96**

**6 CONCLUSÃO .....113**

**REFERÊNCIAS.....115**

## 1 INTRODUÇÃO

O registro de medicamentos visa assegurar segurança, eficácia e qualidade destes, autorizando a sua comercialização. Nesse âmbito, os medicamentos disponíveis no mercado brasileiro podem ser classificados como inovador, similar ou genérico. Medicamento inovador é aquele cuja eficácia e segurança foi determinada por meio de ensaios clínicos durante o desenvolvimento do produto inclusive através de estudos de biodisponibilidade. Após a expiração da patente, o medicamento inovador é também considerado de referência para a aprovação do medicamento genérico, que utiliza os dados de segurança e eficácia do produto referência através dos estudos de equivalência (*in vitro*) e bioequivalência (*in vivo*)(1).

Além dos medicamentos genéricos e referência, o mercado farmacêutico nacional conta com os similares. Estes últimos pertencem a uma classe de medicamentos com menor custo e disponíveis para cerca de 30 tipos de fármacos disponíveis no mercado, dos quais se destacam diuréticos, antidepressivos, antibióticos, anti-inflamatórios e outros. A diferença principal entre o medicamento genérico e o similar é que o similar tem que adotar obrigatoriamente nome comercial ou marca, com exceção dos casos previstos em legislação específica e, não são intercambiáveis por lei. Conforme a RDC nº 17, de 02 de março de 2007 (2), para registro do medicamento similar é necessária a apresentação dos resultados de estudos de equivalência farmacêutica e testes de biodisponibilidade relativa(1).

O Cloridrato de metformina é um dos fármacos mais prescritos mundialmente para o tratamento do Diabetes Tipo 2 e constante da Relação Nacional de Medicamentos (RENAME) (3). Considerando essa realidade, torna-se de extrema relevância considerar que na atualidade existe uma variedade de cloridrato de metformina no mercado brasileiro, provenientes de laboratórios diferentes, assim como rotulados como medicamentos de referência, similares, genéricos e magistrais. Cada um desses medicamentos apresenta características de qualidade fundamentadas em ensaios prévios exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no entanto, esse grau de exigências não é o mesmo para todas essas formulações.

Estudos de equivalência farmacêutica de medicamentos genéricos e similares comercializados no mercado nacional têm demonstrado diferença significativa do perfil de liberação do fármaco das diferentes preparações, mostrando que tais apresentações não são intercambiáveis (1).

Baseado no fato da importância da equivalência entre formulações com o mesmo fármaco faz-se necessário considerar que o estudo do perfil de dissolução dessas formulações deve apresentar-se dentro dos critérios oficiais dos compêndios farmacêuticos tais como a Farmacopeia Brasileira.

A ANVISA apresenta Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) que normaliza como o medicamento deve ser fabricado dentro das Boas Práticas de Fabricação (BPF) para que a qualidade seja alcançada e os limites de aceitabilidade quanto a eficácia terapêutica sejam respeitados. Para as formulações magistrais manipuladas por farmácias de manipulação, a resolução que deve ser seguida é a RDC nº 67/2007, enquanto para os medicamentos industrializados a resolução que normaliza as BPF é a RDC nº 17/2010. Ambas as resoluções apresentam exigências mínimas a serem seguidas pelos estabelecimentos produtores, para que o medicamento seja comercializado com segurança. No entanto, quando se trata de medicamentos magistrais as exigências quanto ao controle de qualidade não são as mesmas que para os medicamentos industrializados. Logo se justifica a preocupação quanto a investigar se esses medicamentos apresentam-se com características físico-químicas próximas aos medicamentos industrializados.

Partindo desse princípio, surgiu a necessidade de validar técnica analítica para avaliar a dissolução e o doseamento para cápsulas magistrais de cloridrato de metformina, uma vez que a técnica analítica disponível para essa análise que consta na Farmacopeia Brasileira (2010) é destinada para a forma farmacêutica comprimidos. Além disso, com o intuito de avaliar a qualidade das várias marcas existentes no mercado do cloridrato de metformina buscou-se comparar os perfis de dissolução das formulações similares e genéricos do cloridrato de metformina com o medicamento referência.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 DIABETES MELLITUS

Diabetes *mellitus* é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, alteração do metabolismo dos lipídios, carboidratos e proteínas e maior risco de complicações por doença vascular(4).

É uma patologia de fatores etiológicos múltiplos, caracterizada principalmente por uma diminuição ou por uma ausência na produção de insulina pelas ilhotas pancreáticas, podendo ser acompanhada pelo comprometimento da ação da mesma no organismo devido à diminuição da sensibilidade dos receptores celulares (3).

A classificação atual do Diabetes *mellitus* é baseada na etiologia e não no tipo de tratamento, portanto os termos Diabetes *mellitus* insulino dependente e Diabetes *mellitus* insulino independente devem ser eliminados. A classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Associação Americana de Diabetes (ADA) inclui quatro classes clínicas: Diabetes *mellitus* tipo 1, Diabetes *mellitus* tipo 2, outros tipos específicos de Diabetes *mellitus* e Diabetes *mellitus* gestacional (4).

O diabetes tipo 1 pode ocorrer em qualquer idade. Porém, é mais comum ser diagnosticado na infância ou adolescência e é responsável por 10 a 15% dos casos de diabetes e caracteriza-se por hiperglicemia, em que o pâncreas não produz ou produz quantidades insuficientes de insulina. Cerca de 80% dos portadores de diabetes tipo 1 apresentam autoimunidade contra estas células  $\beta$ -pancreáticas (3).

A diabetes tipo 2, geralmente diagnosticada a partir dos 30 anos de idade, podendo ocorrer também em crianças e adolescentes, é caracterizada por hiperglicemia, além de resistência celular à insulina. Este tipo de diabetes comumente está associado à obesidade, especialmente na porção abdominal do corpo, devido à hiperinsulinemia resultante (3). A instalação da diabetes tipo 2 em indivíduos de meia-idade e nos idosos provoca o surgimento de outras doenças

como hipertensão, insuficiência coronária, hiperlipidemia, alterações cardíacas, obesidade e artropatias (5).

Em outros tipos específicos de Diabetes *mellitus* estão incluídos defeitos genéticos na função das células beta, defeitos genéticos na ação da insulina, doença do pâncreas exócrino e outras condições (4).

Algumas mulheres em sua primeira gestação podem apresentar um aumento anormal de glicose sanguínea, denominado de diabetes gestacional, onde os hormônios placentários produzidos criam uma resistência a insulina, que se acentua no último trimestre da gestação (3). Similar ao Diabetes *mellitus* 2, o Diabetes *mellitus* gestacional é associado tanto à resistência à insulina quanto à diminuição da função das células beta. O Diabetes *mellitus* gestacional ocorre em 1% a 14% de todas as gestações, dependendo da população estudada, e é associado a aumento de morbidade e mortalidade perinatal (4).

A sintomatologia geral dos processos da diabetes inclui: poliúria (urina abundante), polidipsia (sede e ingestão exagerada de líquido), polifagia (apetite e ingestão alimentar excessiva), hiperglicemia (valores de glicose superiores a 1,2 g/L), glicosúria (surgimento de glicose na urina) e emagrecimento. Nos casos mais graves aparece acidose, cegueira e coma diabético, podendo este último chegar a ser fatal (5).

Devido a longos períodos de hiperglicemia mal controlada, algumas complicações podem ser observadas, como retinopatias, acompanhadas de hemorragias ou deslocamento da retina; doenças macrovasculares, como aterosclerose; deterioração cutânea e infecções; doenças vasculares periféricas graves, que podem levar à amputação de membros, em geral inferiores, e nefropatia evidenciada por albuminúria (3).

O número de indivíduos diabéticos está aumentando devido ao crescimento e ao envelhecimento populacional, à maior urbanização, à crescente prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como a maior sobrevida do paciente com Diabetes Mellitus. Quantificar a prevalência de Diabetes *mellitus* e o número de pessoas

diabéticas, no presente e no futuro, é importante para permitir uma forma racional de planejamento e alocação de recursos (4).

Esta doença silenciosa representa uma preocupação na saúde pública mundial, tendo em vista que 35 milhões de pessoas nas Américas apresentavam esta doença no ano de 2000, com perspectiva de triplicar esta incidência na faixa etária de 45-64 anos e duplicar na faixa de 20-44 anos e mais de 65 anos, até 2025. Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), 220 milhões de pessoas são portadoras da patologia no mundo, e esta é responsável por 5% das mortes. No Brasil, a prevalência desta em 2009 foi de 6,4% na faixa etária de 20-79 anos, afetando 258 milhões de pessoas. Estima-se que até o ano de 2030, 439 milhões de pessoas serão portadoras da patologia (3).

## 2.2 CLORIDRATO DE METFORMINA

O cloridrato de metformina é um agente hipoglicemiante de uso oral, sendo, frequentemente, indicado para o tratamento da Diabetes *mellitus* do tipo 2. Pertence ao grupo das biguanidinas e apresenta baixa toxicidade. Este composto tem sido amplamente usado na clínica, especialmente na Europa e no Egito, desde 1970. Foi aprovado para uso pela “Food and Drug Administration” (FDA-USA) em dezembro de 1994 (5).

As biguanidinas são indicadas, principalmente, para o tratamento dos diabéticos obesos, sendo que estas não estimulam o aumento da síntese de insulina nem o de ácidos graxos, ao contrário das sulfoniluréias. Além disso, a metformina pode manifestar efeito moderador do apetite. A anorexia e a interferência com a absorção intestinal de glicose são as maiores causas para a perda de peso corporal. A metformina é quimicamente denominada 1,1-dimetilbiguanidina. Pode ser encontrada, em geral, na forma de cloridrato como demonstrada na figura 1, raramente como tal (5, 6).

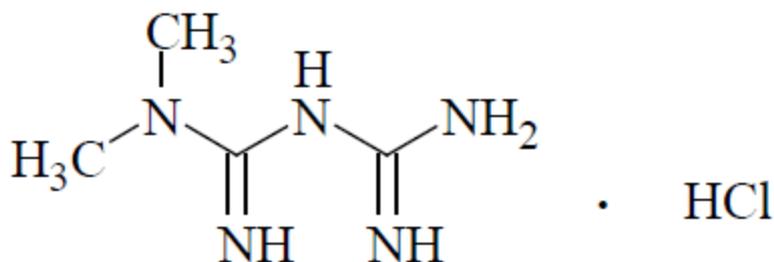


Figura 1 - Estrutura química do cloridrato de metformina

Apresenta-se como pó branco cristalino, sem odor ou quase inodora. O massa molecular para o cloridrato é 165,6 g/mol, enquanto para a base é de 129,2 g/mol. É um fármaco de classe III no sistema de classificação biofarmacêutica (BCS) sendo solúvel em água (1:2), levemente solúvel no álcool etílico 96° e praticamente insolúvel em acetona, clorofórmio e diclorometano. Seu pKa é 11,5. Deve ser conservada em recipientes bem fechados, visto que é higroscópica (5, 6).

O cloridrato de metformina tem tempo de meia vida de 1,5 a 3 horas, não exibe ligação com proteínas plasmáticas e nem é metabolizada pelo fígado, sendo excretada na urina sob a forma inalterada. Os mecanismos de ação propostos são vários como (a) estimulação da glicose nos tecidos e remoção do plasma, (b) redução da gliconeogênese hepática e renal, (c) redução da absorção da glicose pelo trato gastrointestinal, (d) redução dos níveis plasmáticos de glucagon, e ainda, além de hipoglicemiante, pode ser usado no tratamento de ovário policístico (3).

Como efeitos colaterais apresenta: desconfortos gastrointestinais, como anorexia, náusea, vômito, desconforto abdominal, diarreia, frequente em 20% dos pacientes, que podem ser evitados se administrar junto com as refeições. Sendo contraindicado em pacientes com doença renal, alcoolismo, hepatopatia ou predisposição a anorexia tecidual (3).

As doses podem variar de 500 a 2500 mg/dia. Em geral, a dose inicial é de 500 mg, 2 ou 3 vezes ao dia, ou 850 mg, 2 vezes ao dia, podendo aumentar paulatinamente até o máximo de 3 g (5). O medicamento referência é o Glifage®. Além deste, o laboratório Merck comercializa o Glifage XR® (comprimido de ação prolongada) (3, 7).

## 2.3 FORMULAÇÕES MAGISTRAIS E SEU CONTROLE

As formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral são amplamente prescritas na prática médica. A manipulação, principalmente de cápsulas, permite a aquisição de medicamentos com um custo inferior aos medicamentos industrializados, além de dosagens personalizadas e a oportunidade de manipular medicamentos não existentes no mercado farmacêutico. O Brasil é um dos países que mais se destaca na produção de medicamentos, e nos últimos anos se tornou ainda mais competitivo com a introdução de medicamentos genéricos e manipulados (8).

O termo “controle de qualidade” abrange todos os princípios que devem ser seguidos pelos fabricantes e autoridades governamentais para garantir a qualidade dos medicamentos. Dentre os objetivos do controle de qualidade está à obtenção de medicamentos cada vez melhores, mais eficazes e seguros, menos tóxicos e mais estáveis. As farmácias de manipulação vêm sendo criticadas sistematicamente por diversos setores, como a ANVISA, devido ao seu controle de qualidade inferior ao feito nos medicamentos em escala industrial, principalmente quanto ao estudo do produto final, que se tornam praticamente inviáveis, pois exigem equipamentos específicos e uma quantidade de produto que permita a realização de amostras representativas. A qualidade dos medicamentos manipulados depende quase que estritamente do processo de produção, ao mencionar o controle de processo, a legislação determina que seja verificado o peso médio e o coeficiente de variação de todas as cápsulas produzidas pelas farmácias (8).

Para a manipulação de cápsulas é necessário o uso de insumos inertes e adjuvantes, utilizados no processo da produção para permitir que o fármaco exerça sua atividade terapêutica. No caso das formas farmacêuticas sólidas podem ser incorporados aos fármacos excipientes como: estabilizantes, corantes, flavorizantes, diluentes ou espessantes, aglutinantes, deslizantes, lubrificantes e desintegrantes. Todas essas classes são de extrema importância para a produção de formas farmacêuticas sólidas, pois auxiliam na ação dos fármacos (9).

Nos últimos dez anos, várias normas e regulamentos foram publicados visando à implementação e o cumprimento das Boas Práticas de Manipulação, que marcaram início com a RDC 33/2000, sendo complementadas e atualizadas pela RDC 214/2006 e RDC 67/2007, que representa a legislação em vigor no país. Dentre as exigências para assegurar a qualidade dos produtos magistrais, estão incluídos os procedimentos mínimos que permitem a farmácia analisar a qualidade da matéria-prima no recebimento, a partir de fornecedores qualificados. Apesar de já possuir um grau de exigência elevado, a RDC 67/2007 foi complementada pela RDC 87/2008, que passou a exigir a padronização de excipientes para as formulações, e a submissão de análises de uniformidade de conteúdo e teor de ativos (10).

A uniformidade de doses unitárias de formas farmacêuticas, dependendo da forma farmacêutica, dose e proporção do fármaco, pode ser determinada por dois critérios: variação de peso e uniformidade de conteúdo. O método de uniformidade de conteúdo para preparações em doses unitárias baseia-se no doseamento do conteúdo individual do componente ativo de um número de doses unitárias para determinar se o conteúdo individual está dentro dos limites especificados (6).

Segundo a RDC 67/2007 que normatiza as regras de Boas Práticas de Manipulação as matérias-primas devem ser analisadas, no seu recebimento, efetuando-se no mínimo os testes seguintes, respeitando-se as suas características físicas e mantendo os resultados por escrito, sendo esses testes: caracteres organolépticos, solubilidade, pH, peso, volume, ponto de fusão, densidade e avaliação do laudo de análise do fabricante/fornecedor (11).

Para o Controle de Qualidade das Preparações Magistrais e Oficiais a RDC 67/2007 recomenda que seja realizado, no mínimo, os seguintes ensaios em todas as preparações magistrais e oficiais sólidas: descrição, aspecto, caracteres organolépticos e peso médio. Devem ser realizadas análises de teor e uniformidade de conteúdo do princípio ativo, de fórmulas cuja unidade farmacotécnica contenha fármaco(s) em quantidade igual ou inferior a 25 mg, dando prioridade àquelas que contenham fármacos em quantidade igual ou inferior a cinco miligramas. A farmácia deve realizar a análise de no mínimo uma fórmula a cada três meses. O número de unidades para compor a amostra deve ser suficiente para a realização das análises (11).

Em preparações magistrais sólidas o ensaio de dissolução não é um ensaio exigido para cápsulas magistrais como requisito mínimo, logo o mesmo não é realizado rotineiramente para essas preparações, mas as preparações sólidas industrializadas são submetidas a esse ensaio por exigência mínima da norma RDC 17/2010 (2). Esse fato torna as preparações sólidas magistrais em certa desvantagem frente às industrializadas quanto ao controle de qualidade.

#### 2.4 FORMULAÇÕES REFERÊNCIA, SIMILARES E GENÉRICOS NO MERCADO BRASILEIRO.

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa), na mesma dosagem e forma farmacêutica, o que pode ser avaliado por meio de testes *in vitro* (12, 13). Portanto, pode ser considerada como um indicativo da bioequivalência entre os medicamentos em estudo, sem, contudo, garanti-la.

A legislação brasileira, tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelece que para um medicamento ser registrado como genérico é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência indicado pela ANVISA (14).

Tal fato, aliado ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade (BPFC), fornecem as bases técnicas e científicas para a intercambialidade entre o genérico e seu medicamento de referência, uma vez que, nesse caso, ambos podem ser considerados equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (15-20).

O medicamento de referência é, geralmente, o inovador cuja biodisponibilidade foi determinada durante o desenvolvimento do produto e que teve

sua eficácia e segurança comprovadas por meio de ensaios clínicos, antes da obtenção do registro para comercialização. Nesse caso, a empresa fabricante desenvolveu a formulação e a forma farmacêutica adequada à via de administração e ao objetivo terapêutico do medicamento, estabelecendo e validando os processos de fabricação, bem como as especificações que deverão ser reproduzidas posteriormente, lote a lote (21).

Para o medicamento genérico, o fabricante deve investir no desenvolvimento farmacotécnico de um produto que cumpra com as mesmas especificações *in vitro*, em relação ao medicamento de referência. Entretanto, se aceita que a formulação e o processo de fabricação não sejam idênticos, o que geralmente ocorre devido aos diferentes equipamentos e fornecedores de matérias-primas empregados por distintos fabricantes, desde que essas diferenças não comprometam a bioequivalência entre os produtos (22).

Nesse contexto, é fundamental ressaltar que diferenças em relação a características físicas e físico-químicas do fármaco e demais componentes da formulação, bem como nos processos de fabricação, podem gerar diferenças na biodisponibilidade que, no caso do genérico, podem comprometer a bioequivalência e, conseqüentemente, a intercambialidade. Entretanto, tal fato pode ser evitado realizando-se o desenvolvimento farmacotécnico do produto de forma adequada (21).

Assim sendo, merecem atenção especial às formas farmacêuticas em que o fármaco está presente na forma sólida, cuja dissolução pode ser afetada significativamente pelas características inerentes ao próprio fármaco, bem como pela presença de excipientes que favorecem ou dificultam a dissolução, além das técnicas de fabricação empregadas (23). Portanto, formas farmacêuticas sólidas de uso oral, de liberação imediata ou modificada, são aquelas que, potencialmente, podem apresentar problemas em relação à biodisponibilidade e à bioequivalência (24-26).

De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, medicamentos similares são aqueles que possuem o mesmo fármaco, a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica de um

medicamento de referência, mas que não passaram por testes que comprovem igual efeito no mesmo espaço de tempo do que o medicamento de referência, e, portanto, não podem ser considerados como cópias fiéis daqueles medicamentos (27).

Os medicamentos similares foram instituídos pela promulgação da Lei nº 6360/76, época em que havia a necessidade de disponibilizar medicamentos a baixo custo para a população. Assim, não foram estabelecidos critérios técnicos rígidos para seu desenvolvimento e registro. A ideia dos medicamentos similares permaneceu inalterada até há pouco tempo, tendo sido as definições republicadas pela Lei nº 9787/99, e pelo Decreto nº 3961/01. Porém, a primeira mudança em relação ao registro dos medicamentos similares ocorreu com a publicação da RDC 92/2000, que proibiu a fabricação de similares de denominação genérica, e depois com a RDC 36/2001, que determinou o fim da comercialização dos similares com o nome do princípio ativo. Estas atitudes foram tomadas para diferenciá-los dos medicamentos genéricos, instituídos pela Lei 9.787/99. Os medicamentos genéricos são considerados cópias fiéis de seus medicamentos de referência, o que deve ser comprovado por meio de testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica (27).

Sabe-se que um mesmo fármaco produzido numa mesma concentração e em uma mesma forma farmacêutica pode apresentar perfis de bioequivalência e biodisponibilidade diferentes de marca para marca, ou mesmo entre lotes produzidos por uma mesma empresa, devido a diversos fatores inerentes à fabricação do mesmo (qualidade das matérias-primas utilizadas, adoção de boas práticas de fabricação, tamanho das partículas dos componentes, métodos de produção adotados, etc). Os testes de bioequivalência e biodisponibilidade, por sua vez, independem destes fatores, pois consistem em: a) estudos comparativos da biodisponibilidade de produtos de diferentes formulações e que são administrados pela mesma via; e b) estudos da velocidade e extensão em que um fármaco é absorvido e se torna disponível no local de ação. Um medicamento genérico não necessita ser uma cópia totalmente fiel ao medicamento de referência (no que diz respeito aos tipos de adjuvantes farmacotécnicos utilizados e suas quantidades), desde que possuam perfis de bioequivalência e biodisponibilidade semelhantes ao medicamento de referência, comprovados por meio de estudos próprios. Existe uma grande preocupação por parte de médicos, farmacêuticos e demais profissionais da

área de saúde com relação a que se os medicamentos genéricos e similares realmente apresentam a mesma eficácia terapêutica daquele de referência (27).

A ANVISA, após consulta pública, publicou a RDC 133/2003, que alterou a forma de registro do medicamento similar no Brasil. Desde então se passou a exigir testes de biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica para seu registro, de forma semelhante ao que é preconizado para os genéricos. Para aqueles de menor risco, que não necessitam de receituário médico, passou a ser exigido somente o teste de equivalência farmacêutica. Estas medidas foram tomadas visando ampliar a qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos produzidos no Brasil (27).

## 2.5 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

A validação de uma metodologia é necessária para garantir que o método é apropriado à finalidade pretendida, ou seja, a determinação de modo qualitativo, semi-quantitativo e quantitativo, tanto para fármacos isolados como para o produto farmacêutico que o contém (3).

A validação se aplica a técnicas que utilizem CG e CLAE, métodos não cromatográficos, porém de doseamento, como titulometria, espectrofotometria UV, e ainda para teste imunológicos e microbiológicos (28).

A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação e exatidão, adequadas à análise (3, 28).

Deve-se utilizar substâncias de referência oficializadas pela Farmacopéia Brasileira ou, na ausência destas, por outros códigos autorizados pela legislação vigente. No caso da inexistência dessas substâncias, será admitido o uso de

padrões de trabalho, desde que a identidade e o teor sejam devidamente comprovados (3, 28). Para realização de teste de validação os equipamentos devem estar calibrados e os analistas treinados.

Os testes utilizados para validação analíticas são divididos em 4 categorias, diferindo entre si por finalidade a que se destina, conforme Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos testes segundo sua finalidade

Categoria	Finalidade
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em Produto Farmacêutico e Matéria-Prima
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em Produto Farmacêutico e Matéria-Prima
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Teste de identificação

(28)

Para cada categoria será exigido a realização de parâmetros relacionados no Quadro 2.

Quadro 2 - Ensaio necessários para validação do método analítico, segundo sua finalidade

Parâmetro		Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
			Quantitativo	Ensaio limite		
Especificidade		Sim	Sim	Sim	*	Sim
Linearidade		Sim	Sim	Não	*	Não
Intervalo		Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Repetibilidade	Sim	Sim	Não	Sim	Não
	Intermediária	**	**	Não	**	Não
Limite de detecção		Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação		Não	Sim	Não	*	Não
Exatidão		Sim	Sim	*	*	Não
Robustez		Sim	Sim	Sim	Não	Não

\* pode ser necessário, dependendo da natureza do teste específico.

\*\* se houver comprovação da reprodutibilidade não é necessária a comprovação da Precisão Intermediária. (28)

### **2.5.1 Limite de Detecção**

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas.

O limite de detecção é estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável. Para métodos qualitativos a detecção pode ser feita visualmente até a menor concentração capaz de ser detectada visualmente (3, 28).

No caso de métodos instrumentais (CLAE, CG, absorção atômica), a estimativa do limite de detecção pode ser feita com base na relação de 3 vezes o ruído da linha de base (3, 28).

### **2.5.2 Limite de Quantificação**

É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação é um parâmetro determinado, principalmente, para ensaios quantitativos de impurezas, produtos de degradação em fármacos e produtos de degradação em formas farmacêuticas e é expresso como concentração do analito na amostra (3, 28).

O limite de quantificação é estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis.

### 2.5.3 Especificidade e Seletividade

É a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (28).

Para análise qualitativa (teste de identificação) é necessário demonstrar a capacidade de seleção do método entre compostos com estruturas relacionadas que podem estar presentes. Isto deve ser confirmado pela obtenção de resultados positivos (preferivelmente em relação ao material de referência conhecido) em amostras contendo o fármaco, comparativamente com resultados negativos obtidos com amostras que não contém o fármaco, mas compostos estruturalmente semelhantes (28).

Para análise quantitativa (teor) e análise de impurezas, a especificidade pode ser determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras (fármaco ou medicamento) contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou excipientes e amostras não contaminadas, para demonstrar que o resultado do teste não é afetado por esses materiais. Quando a impureza ou o padrão do produto de degradação não estiverem disponíveis, podem-se comparar os resultados do teste das amostras contendo impurezas ou produtos de degradação com os resultados de um segundo procedimento bem caracterizado (por exemplo, metodologia farmacopéica ou outro procedimento validado). Estas comparações devem incluir amostras armazenadas sob condições de estresse, por exemplo, luz, calor, umidade, hidrólise ácida/básica, oxidação (3, 28).

Em métodos cromatográficos, devem-se tomar as precauções necessárias para garantir a pureza dos picos cromatográficos. A utilização de testes de pureza de pico (por exemplo, com auxílio de detector de arranjo de fotodiodos ou espectrometria de massas) é interessante para demonstrar que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente (3, 28).

#### 2.5.4 Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo previamente especificado. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes (3, 28).

Se houver relação linear aparente após exame visual do gráfico, os resultados dos testes deverão ser tratados por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação, intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo. Se não houver relação linear, realizar transformação matemática. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação ( $r$ ) deve ser = 0,99 (3, 28).

#### 2.5.5 Exatidão

É a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Para fármacos pode-se utilizar um padrão de referência, ou comparar os resultados obtidos na metodologia que está sendo validada com resultados obtidos de uma metodologia com a exatidão conhecida (3, 28, 29).

Para forma farmacêutica, é analisada uma amostra, na qual quantidade conhecida de fármaco foi adicionada a uma mistura dos componentes do medicamento (placebo contaminado), porém nos casos em que amostras de todos os componentes do medicamento estão indisponíveis, se aceita a análise pelo método de adição de padrão, no qual se adiciona quantidades conhecidas do analito (padrão de referência) ao medicamento (3, 28).

A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença percentual entre as

médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança. A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo, sendo verificada a partir de, no mínimo, nove determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta, com três réplicas cada (3, 28).

### **2.5.6 Precisão**

É a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade (28).

Repetibilidade ou precisão intra-corrida é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. A repetibilidade do método é verificada por, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta, com três réplicas cada ou mínimo de seis determinações a 100% da concentração do teste (3, 28).

A Precisão intermediária ou precisão inter-corridas é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária recomenda-se um mínimo de 2 dias diferentes com analistas diferentes (3, 28).

A Reprodutibilidade ou precisão inter-laboratorial é a concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes como em estudos colaborativos, geralmente aplicados à padronização de metodologia analítica, por exemplo, para inclusão de metodologia em farmacopeias (3, 28).

A precisão de um método analítico pode ser expressa com os dados de desvio padrão e desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV), onde o CV aceitável encontra-se abaixo de 5% (3, 28, 29).

### 2.5.7 Robustez

Definida como a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal (28).

Em análise utilizando método espectrofotométrico recomenda-se que sejam variados o pH da solução, temperatura e os fabricantes de solventes. No quadro abaixo estão descritos alguns parâmetros que devem ser avaliados para a robustez da metodologia (3, 28).

Quadro 3 - Fatores que devem ser considerados na determinação da robustez de método analítico

Preparo das Amostras	Estabilidade das soluções analíticas Tempo de extração
Espectrofotometria	Varição do pH da solução Temperatura Diferentes fabricantes de solventes
Cromatografia Líquida	Varição do pH da fase móvel Varição na composição da fase móvel Diferentes lotes ou fabricantes de coluna Temperatura Fluxo da fase móvel
Cromatografia Gasosa	Diferentes lotes ou fabricantes de coluna Temperatura Velocidade do gás de arraste

(28)

## 2.6 DISSOLUÇÃO E PERFIL DE DISSOLUÇÃO

Formas farmacêuticas sólidas representam uma grande parcela de medicamentos utilizados na atualidade. A via de administração oral se mantém como a preferida e mais utilizada, pois favorece uma maior adesão do paciente ao tratamento medicamentoso pela facilidade posológica e conveniência da dosagem, fato que deve ser levado em consideração no momento da prescrição de medicamentos (30).

A velocidade e a extensão com as quais um fármaco é absorvido a partir do trato gastrointestinal podem ser afetadas por diversos fatores fisiológicos e por muitas propriedades físico-químicas inerentes ao próprio fármaco. A biodisponibilidade de um fármaco também pode ser influenciada por diversos fatores, podendo ser divididos em fatores ligados ao fármaco, paciente, relacionados à formulação e fatores relacionados ao meio de dissolução (31, 32).

A absorção após administração oral, a partir de formas farmacêuticas sólidas, depende da liberação da substância ativa a partir da formulação com conseqüente dissolução ou solubilização sob condições fisiológicas e de sua permeabilidade através do trato gastrointestinal. A solubilidade de um fármaco constitui um dos requisitos básicos à absorção e obtenção de resposta clínica, para grande parte dos medicamentos administrados por via oral (33, 34).

O teste de dissolução possibilita determinar a quantidade de substância ativa dissolvida no meio de dissolução quando o produto é submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais descritas. O resultado é expresso em porcentagem da quantidade declarada no rótulo. O teste se destina a demonstrar se o produto atende às exigências constantes na monografia do medicamento em comprimidos; cápsulas e outros casos em que o teste seja requerido (6).

Num sistema de qualidade, a formulação do produto e os processos de fabricação são concebidos para atingir as características de dissolução desejadas para o produto. Com base na compreensão de como a variabilidade em formulações

e processos de fabricação impacta o desempenho de produtos, métodos de dissolução e critérios de aceitação são estabelecidos para fornecer garantia de continuidade de desempenho clínico. Critérios de aceitação de dissolução são propostos na utilização de métodos estatísticos apropriados e verificados por informação clínica relevante (por exemplo, farmacocinética/farmacodinâmica e observações clínicas). Formulações e processos de fabricação devem ser otimizados de forma consistente para fabricar produtos com desempenho de dissolução desejado. Deve-se notar que os diferentes métodos de dissolução podem ser utilizados para o desenvolvimento de drogas e controle de qualidade do produto (35).

O Processo de absorção dos medicamentos é influenciado por diversos fatores relacionados ao paciente, fisiologia e também relacionados ao fármaco como peso molecular, ionização, solubilidade, formulação, entre outros que tornam esse processo variável e complexo (21, 36). O comportamento no organismo e a eficácia clínica de uma forma farmacêutica não estão relacionados somente à atividade intrínseca do ativo, mas também com os excipientes utilizados na formulação e os processos envolvidos na fabricação. Fatores físico-químicos também devem ser levados em consideração, pois determinam a variabilidade da ação farmacológica ligada à formulação e ao processo tecnológico empregado. Assim, diversos fatores relacionados à forma farmacêutica podem afetar a absorção e, conseqüentemente, a biodisponibilidade do fármaco (37-39).

Com base nestas considerações, pode-se afirmar que a dissolução *in vitro* é um dos parâmetros críticos na previsão do desempenho *in vivo* do medicamento. Qualquer alteração em relação ao perfil de liberação do fármaco pode resultar em impacto na proporção e na quantidade de fármaco disponível para absorção (34).

Por muito tempo o teste de desintegração foi utilizado para avaliar a liberação do fármaco de sua forma farmacêutica. Foi um dos primeiros testes *in vitro* muito utilizado pelas indústrias farmacêuticas, pois apresentava uma grande facilidade na execução, rapidez e baixo custo. Mas com o avanço das pesquisas, foi sendo identificado que apenas o teste de desintegração não era completamente adequado, uma vez que um comprimido pode se desintegrar e não liberar totalmente o fármaco na velocidade necessária para estar disponível e exercer seu efeito (40).

Tanto a dissolução quanto a desintegração são parâmetros de fundamental importância para estratégias de desenvolvimento de produtos. Desintegração geralmente reflete o efeito da formulação e variáveis do processo de fabricação, ao passo que a dissolução a partir de partículas de drogas reflete principalmente o efeito da solubilidade e tamanho das partículas, que são em grande parte as propriedades da matéria-prima e da droga, mas também podem ser significativamente influenciadas pelo processamento e formulação do medicamento (41).

Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a dissolução e a permeação intestinal do fármaco podem limitar a absorção e, conseqüentemente, a ação terapêutica. Assume-se que tanto a solubilidade quanto a permeabilidade são parâmetros chaves que controlam a absorção dos fármacos, e podem ser usadas para determinar especificações de dissolução *in vitro* (42, 43).

Os fármacos são subdivididos nas seguintes categorias:

- Classe I: alta solubilidade (AS) e alta permeabilidade (AP);
- Classe II: baixa solubilidade (BS) e alta permeabilidade (AP);
- Classe III: alta solubilidade (AS) e baixa permeabilidade (BP);
- Classe IV: baixa solubilidade (BS) e baixa permeabilidade (BP).

Por meio dessa classificação pode-se estabelecer as expectativas em relação as correlações *in vivo-in vitro* (CIVIV) com mais clareza e determinar as especificações da dissolução *in vitro*, servindo como base para predizer o sucesso da CIVIV (42-44).

Os ensaios de dissolução *in vitro* constituem-se em um dos instrumentos essenciais para avaliação das propriedades biofarmacêuticas das formas farmacêuticas sólidas de uso oral, fornecendo muitas informações úteis na pesquisa, desenvolvimento e produção de medicamentos, além de ser um teste farmacopéico que avalia a liberação de fármacos (45). Dados de dissolução *in vitro* podem ser utilizados para se relacionar com dados farmacocinéticos *in vivo* possibilitando

CIVIV, logo os dados obtidos podem ser utilizados para prever a biodisponibilidade *in vivo* e a bioequivalência farmacêutica. O objetivo principal do desenvolvimento e avaliação de uma CIVIV é o estabelecimento do teste de dissolução como um provável substituto para estudos de bioequivalência em humanos, pois esse tipo de ensaio leva a uma aprovação mais rápida do produto além da queda nos custos do medicamento (45, 46).

Condições do ensaio de dissolução e os critérios de aceitação são determinadas por monografia farmacopeia, compêndios oficiais, normas ou regulamentos específicos aprovados/referendados (47). A dissolução destina-se a demonstrar se o produto atende às exigências mencionadas na monografia do medicamento em comprimidos ou cápsulas. Pode ser empregado no controle de qualidade, nos estudos de estabilidade, para verificar o impacto de alterações na formulação ou processo, predição da absorção e desenvolvimento de CIVIV através da cinética de dissolução (48, 49). Quando utilizado no controle de qualidade, tem o objetivo de assegurar a qualidade do lote e detectar possíveis desvios (50).

Vários aparatos de dissolução existentes são empregados e as condições do ensaio de dissolução são determinadas de acordo com a forma farmacêutica, SCB, entre outros. Os aparatos do tipo cesto, pá, cilindros recíprocos ou células de fluxo são empregados para formas farmacêuticas sólidas e cada modelo pode ser melhor empregado e caracterizar um tipo de liberação (6).

Conforme a ANVISA, para medicamentos de liberação imediata são estabelecidas pelo menos 3 tipos de especificações para realização de ensaios de dissolução (44):

-Teste de um único ponto: é utilizado comumente para controle de qualidade de rotina, especialmente aplicado para medicamentos que contenham em sua formulação fármacos altamente solúveis.

-Teste de dois pontos: para indicar a qualidade do medicamento, por exemplo, alguns tipos de fármacos que apresentam baixa solubilidade.

-Teste com comparação do perfil de dissolução: facilita a comparação entre dois produtos.

O perfil de dissolução pode então ser utilizado para evitar a realização de estudos de bioequivalência das formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata com mesma formulação e dosagem menor (44).

Com a necessidade de maior previsão de efeitos terapêuticos por meio dos testes *in vitro*, e contínuos avanços da tecnologia e pesquisas envolvendo liberação de fármacos, os testes de dissolução vem se tornando indispensáveis no monitoramento qualitativo de medicamentos (40, 42).

A obtenção do perfil de dissolução que relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido *versus* tempo, fornece dados importantes para fármacos cuja ação dependa da sua liberação da forma farmacêutica (51, 52).

Vários métodos têm sido propostos para a avaliação comparativa entre perfis de dissolução. Estes podem ser classificados em: (1) método baseado na análise de variância (ANOVA); (2) método modelo independente; (3) método modelo dependente. Os métodos baseados na análise de variância determinam, através de repetidos ensaios, as fontes de variação (tempo, produto e interação entre tempo *versus* produto). Dentre os métodos designados de modelo independente destacam-se os testes combinados como os fatores  $f_1$  (fator de diferença) e  $f_2$  (fator de similaridade), que comparam diretamente a diferença entre a porcentagem de fármaco dissolvida em uma unidade de tempo para os produtos teste e referência. Por sua vez, os métodos modelo dependente são baseados em funções matemáticas distintas que, após seleção de uma função adequada, permitem a avaliação dos perfis em relação aos parâmetros derivados dos modelos aplicados. Os exemplos mais comuns encontrados na literatura são: ordem zero, primeira ordem, Hixon-Crowell, Higushi, quadrático, Weibull, entre outros (34, 53, 54).

Modelos que se fundamentam em estudos da cinética de dissolução possibilitam conclusões a respeito do processo de dissolução de uma determinada formulação, uma vez que permitem conhecer: a velocidade do processo; a quantidade máxima dissolvida e pontos nos quais podem ocorrer mudanças significativas da dissolução. Nesse tipo de análise, avalia-se a quantidade de fármaco dissolvida em diferentes intervalos de tempo, obtendo-se um perfil definido por tempo *versus* porcentagem de fármaco dissolvida. (55).

Além dos modelos cinéticos traçados a partir do perfil de dissolução, a eficiência de dissolução (ED%) sugerida inicialmente por Khan e Rhodes (1975) pode ser incluída como um importante parâmetro de cinética de dissolução. Este termo pode ser definido como a área sob a curva de dissolução em um determinado intervalo de tempo. A ED% permite a comparação mais fidedigna entre dois produtos. Além disso, este parâmetro está relacionado com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvida no meio e, desta forma, pode-se ter um melhor prognóstico dos resultados *in vivo* (55).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Avaliar a equivalência farmacêutica e qualidade biofarmacotécnica de formulações industrializadas e realizar a validação de método de análise e ensaio de dissolução para cápsulas magistrais do cloridrato de metformina.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar às características físico-químicas das preparações de Cloridrato de Metformina, o medicamento referência, genéricos e similares, assim como, formulação magistral;
- Validar o método analítico e ensaio de dissolução para cápsulas magistrais do Cloridrato de Metformina;
- Avaliar o perfil de dissolução *in vitro* das preparações de Cloridrato de Metformina, medicamento referência, genéricos e similares na forma farmacêutica comprimido e cápsulas manipuladas em Farmácia Magistral.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIAS-PRIMAS E REAGENTES

Alguns reagentes foram empregados para o ensaio de dissolução, sendo: Cloridrato de Metformina, substância química de Trabalho (SQT) do fabricante Indoco Remedies Ltda, o qual apresentou potência de 99,8%, Fosfato de Potássio Monobásico Anidro P.A. (Nuclear®); Fosfato de Potássio Monobásico Anidro P.A. (Cinética®); Hidróxido de Sódio P.A. (Vetec®); Cloridrato de Metformina (Pharma Nostra®); Placebo (Dioxido de Silício Coloidal 1%, Estearato de Magnésio 1%, Talco grau farmacêutico 10% e Amido de Milho 88%); Capsula Gelatina Dura 00 Deg®; Etanol 95% (V/V) (Vetec®), Acetona (Vetec®), Cloreto de metileno (Vetec®), Éter etílico (Vetec®) e Clorofórmio (Vetec®).

### 4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- Dissolutor Nova Ética, Modelo 299;
- Desintegrador Ethiktechnology, Modelo 301-1
- Durometro Nova Ética, Modelo 298-AT
- Estufa Odontobrás, Modelo EL-1.3
- Banho Ultrassônico Unique, Modelo Ultra Clean 1400
- Friabilômetro Nova Ética, Modelo 300
- Espectrofotômetro Ultravioleta, Bel Photonics 2000 UV
- Espectrofotômetro-UV/Visível Varian Cary 50
- Pipeta automática Eppendorf®
- Aparelho para determinação de ponto de fusão Mel-Temp 1002D Electrothermal

- Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, sigla em inglês), Perkin Elmer, Modelo Spectrum BX
- Balança Analítica Shimadzu, Modelo AY220
- Purificador de água Quimis Q842-210
- Medidor de pH Marte®, Modelo MB-10.

### 4.3 AMOSTRAS

Foram avaliadas amostras de comprimidos de liberação imediata contendo 850 mg de cloridrato de metformina provenientes de 5 laboratórios farmacêuticos e amostra de cápsula magistral, conforme descrito a seguir. As amostras dos medicamentos foram adquiridas em drogarias, considerando que para os genéricos, o critério de escolha dos fabricantes foi feita pelo ranking de faturamento no período de 2012, fornecido pelo sindicato da indústria de produtos farmacêuticos no estado de São Paulo sendo denominados de produtos G1 e produto G2. O medicamento referência utilizado seguiu o determinado através da Lista de Medicamentos de Referência destinada aos registros de medicamentos similares e genéricos sendo denominado para o estudo como produto R. O medicamento similar foi adquirido de modo que não houve seleção em relação aos laboratórios fabricantes sendo denominados de produto S1 e produto S2. Foram adquiridas quantidade suficiente de cada medicamento para realização de todos os ensaios farmacopeicos, perfil de dissolução e possíveis retestes.

Cápsulas do cloridrato de metformina 850 mg, placebo e capsulas vazia foram adquiridos em uma farmácia magistral do Distrito Federal.

Os medicamentos selecionados para os ensaios foram os seguintes:

#### 4.3.1 Produto R (Glifage® - Merck)

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg Comprimido Revestido

Lote: BR34798

Data de Fabricação: 12/2011

Data de Validade: 12/2013



Figura 2 - Produto R

#### 4.3.2 Produto G1

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg Comprimido Revestido

Lote: 412535

Data de Fabricação: 10/2011

Data de Validade: 10/2013



Figura 3 - Produto G1

#### 4.3.3 Produto G2

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg Comprimido Revestido

Lote: 12040343

Data de Fabricação: 04/2012

Data de Validade: 03/2014



Figura 4 - Produto G2

#### 4.3.4 Produto S1

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg Comprimido não revestido

Lote: 1101213

Data de Fabricação: 10/2011

Data de Validade: 10/2013



Figura 5 - Produto S1

#### 4.3.5 Produto S2

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg Comprimido não revestido

Lote: 11101611

Data de Fabricação: 07/2011

Data de Validade: 07/2013



Figura 6 - Produto S2

#### 4.3.6 Cápsula magistral

Produto: Cloridrato de metformina 850 mg cápsula

Data de Fabricação: 10/2012

Data de Validade: 02/2013



Figura 7 - Cápsulas Magistrais

#### 4.4 MÉTODOS

##### 4.4.1 Testes de qualidade para cloridrato de metformina e substância química de trabalho

As análises foram realizadas utilizando-se padrão secundário de cloridrato de metformina lote MET093/10, de potência declarada 99,8% com validade até 30/09/15, fornecido pela União Química Farmacêutica Nacional S.A. e matéria-prima cloridrato de metformina.

#### 4.4.1.1 Descrição

A análise das amostras foi realizada considerando o aspecto e a cor de cada uma delas.

#### 4.4.1.2 Solubilidade

A solubilidade da SQT e da matéria prima cloridrato de metformina foi verificada pesando-se 100 mg e transferindo-se para tubos de ensaio de 10 mL à temperatura de 25°C, seguidas de adição da alíquota do solvente através de uma pipeta automática. Agitaram-se lentamente as soluções e foi observado se houve a completa solubilização do fármaco através da obtenção de uma solução límpida. Para avaliar a solubilidade utilizou-se a classificação descrita na Farmacopeia Brasileira (2010).

Quadro 4 - Classificação da solubilidade dos fármacos

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

(6)

O termo parte apresentado acima refere-se ao número de mililitros de solvente necessários para solubilizar 1,0 g da substância.

#### 4.4.1.3 Temperatura de fusão

O aparelho para a determinação do ponto de fusão foi aquecido até 10 °C abaixo da faixa de fusão de 222 °C a 226 °C, e em seguida ajustado para aumento de 1 °C por minuto para determinação do ponto de fusão. O ponto de fusão foi determinado para o cloridrato de metformina e SQT. A descrição do fármaco foi feita pelo aspecto.

#### 4.4.1.4 Varreduras espectrais

Para a obtenção do espectro no UV/Visível foi preparado solução de Cloridrato de metformina e SQT 10,0 µg mL<sup>-1</sup> em água e em tampão fosfato de potássio pH 6,8, onde procedeu-se à varredura espectral das amostras pelos comprimentos de onda de 200-400 nm em cubeta de quartzo de 1,0 cm de espessura.

#### 4.4.1.5 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho

O espectro na região entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup> do infravermelho médio (MIR) com Transformada de Fourier foi obtido pela técnica de Pastilha de KBr (1% m/m) para a SQT.

#### **4.4.2 Validação de método analítico por espectrofotometria-UV/Visível para quantificação de cloridrato de metformina em cápsulas magistrais**

##### 4.4.2.1 Linearidade

A linearidade foi avaliada construindo-se curva padrão para cloridrato de metformina, a partir de três soluções padrão estoque. As concentrações de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  foram preparadas em água ultrapura em relação à concentração de trabalho de Cloridrato de Metformina a 100% (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). A curva foi construída realizando-se diluições de cada solução padrão de trabalho estoque, obtendo-se seis concentrações diferentes. Cada solução foi medida no espectrofotômetro de absorção na região UV e obteve-se a média das determinações.

##### *4.4.2.1.1 Preparo da solução padrão de trabalho estoque*

Pesou-se e transferiu-se, cerca de 100 mg de cloridrato de metformina padrão de trabalho para balão volumétrico de 100 mL e adicionou-se 70 mL de água ultrapura. Submeteu-se ao ultrassom por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$ .

##### *4.4.2.1.2 Preparo das soluções*

Transferiu-se, para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de bureta calibrada de 25 mL, os volumes de solução padrão estoque indicados na Tabela 1. Completou-se o volume do balão volumétrico com água ultrapura.

Tabela 1 - Soluções para a construção da curva analítica de cloridrato de metformina por espectrofotometria UV

Solução	Concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Solução Padrão Estoque (mL)
1	20,0	2,0
2	40,0	4,0
3	60,0	6,0
4	80,0	8,0
5	100,0	10,0
6	120,0	12,0

As medidas foram feitas em espectrofotômetro de absorção na região UV no comprimento de onda 232 nm, imediatamente após o preparo das soluções. Os critérios para aceitação de linearidade foram a equação da reta ( $y = ax + b$ ) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) que indicará o quanto o modelo consegue aplicar os valores observados. Os dados da curva analítica foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA *one-way*) obtidas através do programa SPSS 18.0 e Excel.

#### 4.4.2.2 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) foi calculado a partir dos dados da linearidade. A equação utilizada para o cálculo pode ser visualizada na equação 1 em que: DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y e IC é a inclinação da curva de calibração (28).

Equação 1

$$LD = \frac{DP_{\alpha} \times 3}{IC}$$

O limite de quantificação foi calculado com base nos dados da linearidade, a equação utilizada pode ser visualizada na equação 2 (28).

Equação 2

$$LQ = \frac{DP_{\alpha} \times 10}{IC}$$

#### 4.4.2.3 Especificidade/Seletividade

A SQT e SQT adicionado de Placebo foram preparadas em triplicata com água ultrapura. Para uso do placebo pesaram-se, exatamente, cerca de 10 mg de pó para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 70 mL de água ultrapura. Submeteu-se ao ultrassom por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se e filtrou-se. Transferiu-se 1,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Após preparo, as amostras foram medidas em espectrofotômetro-UV/Visível no comprimento de onda 232 nm. A concentração SQT foi 10,0 µg mL<sup>-1</sup>.

#### 4.4.2.4 Precisão

A precisão foi determinada em dois dias consecutivos, obtendo-se os valores de Precisão intra-dia (repetitividade). A precisão intra-dia (repetibilidade) foi avaliada a partir da análise de seis amostras. As soluções foram preparadas pesando-se a partir do pó do conteúdo de 20 cápsulas o equivalente a 100 mg de cloridrato de metformina, transferindo-os para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 70 mL de água ultrapura, agitou-se no ultrassom por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Em seguida, transferiram-se 1,0 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água ultrapura. As médias das determinações e a estimativa dos DP e CV foram calculadas de acordo com as equações 3 e 4, onde  $\bar{X}$  representa a média das amostras.

Equação 3 - Fórmula de cálculo do desvio padrão para os valores de uma amostra

$$\sqrt{\frac{(x_1 - \bar{X})^2 + (x_2 - \bar{X})^2 + \dots + (x_n - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Equação 4 - Fórmula de cálculo do coeficiente de variação

$$CV = \frac{DP}{\bar{X}}$$

#### 4.4.2.5 Precisão inter-dia

A precisão inter-dia foi determinada realizando-se o mesmo procedimento descrito para precisão intra-dia para as seis soluções a 100% da concentração de trabalho, em dois dias consecutivos. As médias das determinações e a estimativa dos DP e CV foram calculadas.

#### 4.4.2.6 Exatidão

A exatidão foi realizada pelo método do placebo contaminado, em que quantidades conhecidas do padrão são adicionadas às misturas dos componentes da formulação (mistura de excipientes) com o intuito de determinar a porcentagem de recuperação do padrão. A exatidão foi avaliada a partir de nove determinações contemplando os níveis de 80%, 100% e 120% da concentração de trabalho da solução amostra das cápsulas ( $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), em triplicata para cada nível de concentração (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros empregados para avaliar a exatidão por espectrofotometria no UV

Porcentagem (%)	Massa de placebo (mg)	Concentração de cloridrato de metformina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
80	10	8,0
100	10	10,0
120	10	12,0

Foi avaliada a exatidão intra-dia e inter-dia através do preparo de quantidades conhecidas da SQT em triplicata, para obtenção de três níveis de concentração da curva de calibração 8,0; 10,0 e 12,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As amostras foram analisadas por espectrofotometria-UV/Visível e calculado os valores percentuais de recuperação com os DP.

#### 4.4.2.7 Robustez e estabilidade das soluções

Para o ensaio de robustez foram preparadas soluções da SQT concentração de  $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  em triplicata as quais foram filtradas com papel de filtro com

especificação de 8 e 28  $\mu\text{m}$  e outra solução não foi submetida ao processo de filtração. A estabilidade das soluções foi determinada em um intervalo de 4 horas. As amostras foram analisadas por Espectrofotometria-UV/Visível em 232 nm.

#### 4.4.3 Validação de ensaio de dissolução para cloridrato de metformina 850 mg em cápsulas magistrais

Para a validação do ensaio de dissolução foram estabelecidas condições experimentais que estão descritas na tabela 3.

Tabela 3 - Condições experimentais utilizadas para o ensaio de dissolução das cápsulas magistrais

Aparato	Método 1 (cesto)
Velocidade de agitação	100 rpm
Meio de dissolução	Tampão Fosfato pH 6,8
Volume do meio	900 mL
Alíquota retirada	10 mL
Método analítico	Espectrofotometria UV em 233 nm
Amostragem	45 minutos

Os parâmetros utilizados foram selecionados através dos critérios estabelecidos na USP 35 - NF 30 e farmacopeia brasileira 5ª edição (6, 56, 57).

#### 4.4.3.1 Varreduras espectrais

Para a obtenção do espectro no UV/Visível foi preparado solução de cloridrato de metformina  $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  em tampão fosfato pH 6,8, onde se procedeu à varredura espectral das amostras pelos comprimentos de onda de 200-400 nm em cubeta de quartzo de 1,0 cm de espessura. As medidas foram feitas para cápsula com excipiente; excipiente; excipiente com a SQT e apenas SQT. Os espectros foram sobrepostos para comparação visual da interferência dos excipientes e cápsulas no comprimento de onda de absorção do cloridrato de metformina.

#### 4.4.3.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada construindo-se curva padrão para o cloridrato de metformina, a partir de três soluções padrão estoque. As concentrações de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  foram preparadas em tampão fosfato de potássio pH 6,8 em relação à concentração de trabalho de cloridrato de metformina a 100% (10  $\mu\text{g/ml}$ ). A curva foi construída realizando-se diluições de cada solução padrão estoque, obtendo-se seis concentrações diferentes. Cada solução foi medida no espectrofotômetro de absorção na região UV e obteve-se a média. O preparo da solução padrão de trabalho estoque está especificada no item 4.4.2.1.1.

As medidas foram feitas em espectrofotômetro de absorção na região UV no comprimento de onda 233 nm, imediatamente após o preparo das soluções. Os critérios para aceitação de linearidade foram a equação da reta e o coeficiente de determinação. Os dados da curva analítica foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA *one-way*) no SPSS 18.0 e Excel.

#### 4.4.3.3 Especificidade/Seletividade

A especificidade do método foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos de amostras de cloridrato de metformina adicionadas de excipientes e amostras sem excipientes, para demonstrar que o resultado do teste não sofreu interferências dos excipientes nas leituras por espectrofotometria UV-Visível.

Em cada teste/cuba de dissolução contendo 900 mL do meio de dissolução selecionado pré-aquecido a  $37 \pm 0,5$  °C foram adicionados cápsula com placebo, SQT com placebo, placebo e SQT. As amostras foram agitadas por 45 minutos a 100 rpm utilizando o aparato cesto (USP 1). Alíquotas foram coletadas e analisadas por espectrofotometria UV-Visível e todas as amostras foram preparadas em triplicata.

As concentrações de cada excipiente foram baseadas na literatura (58) e calculadas a partir do peso médio de 20 cápsulas.

#### 4.4.3.4 Precisão

A precisão foi determinada em dois dias consecutivos, onde se obteve os valores da repetibilidade e precisão inter-dia.

##### 4.4.3.4.1 Repetibilidade (Precisão intra-dia)

Por meio da análise de seis amostras de cápsulas a repetibilidade foi determinada em replicata. Nas seis cubas de dissolução contendo 900 mL de meio de dissolução pré-aquecido a  $37 \pm 0,5$  °C, foram adicionadas as amostras e agitadas por 45 minutos a 100 rpm utilizando o aparato USP 1. Alíquotas de 10 mL foram coletadas, diluídas e filtradas em um balão volumétrico de 100 mL. As amostras

foram analisadas por espectrofotometria UV-Visível no comprimento de onda de 233 nm.

#### 4.4.3.4.2 Precisão inter-dia

A precisão inter-dia foi determinada realizando-se o mesmo procedimento descrito para precisão intra-dia. Calculou-se a média e o DP referente a cada amostra.

#### 4.4.3.5 Exatidão

Para realizar a exatidão, o método do placebo contaminado foi empregado onde quantidades conhecidas da SQT juntamente com os excipientes são adicionados a cubas de dissolução contendo 900 mL do meio de dissolução selecionado pré-aquecido a  $37 \pm 0,5$  °C, com o objetivo de determinar a porcentagem de recuperação do padrão. Nove determinações contemplando os níveis de 80, 100 e 120% (triplicata para cada nível de concentração) da concentração de trabalho foram avaliadas para a exatidão intracorrída e intercorrída (Tabela 4). Amostras em triplicata adicionadas de excipientes e SQT na concentração de  $10 \mu\text{g ml}^{-1}$  após filtração e diluição final foram utilizadas para comparar as leituras obtidas com o objetivo de avaliar a recuperação.

Tabela 4 - Parâmetros empregados para avaliar a exatidão por espectrofotometria no UV

Concentração (%)	Quantidade de Placebo (mg)	Concentração da SQT ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
80	10,0	8,0
100	10,0	10,0
120	10,0	12,0

#### 4.4.3.6 Robustez

Amostras da SQT na concentração de  $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  foram submetidas às condições padronizadas para o ensaio de dissolução utilizando tampões preparados com diferentes marcas de reagente fosfato de potássio monobásico anidro P.A. e diferentes especificações de papel de filtro. Foram analisadas alíquotas sem filtrar e alíquotas submetidas à filtração em papel de filtro com porosidade de 8 e  $28 \mu\text{m}$  em ambos os tampões preparados. A estabilidade das soluções foi determinada em um intervalo de 4 horas. As amostras foram analisadas por Espectrofotometria-UV/Visível 233 nm.

#### 4.4.3.7 Determinação de Peso Médio

O peso médio foi determinado pesando-se 20 comprimidos e cápsulas individualmente, em balança analítica, conforme metodologia farmacopeica (6). O peso médio foi obtido calculando-se a média aritmética das 20 determinações de peso para cada medicamento sendo também demonstrado o desvio padrão e os valores mínimos e máximos. Segundo os critérios estabelecidos pela farmacopeia,

pode-se tolerar não mais que duas unidades fora dos limites especificados conforme Tabela 5, em relação ao peso médio, porém, nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas.

Tabela 5 - Limites de aceitação de comprimidos e cápsulas no teste de determinação de peso (6).

<b>Formas farmacêuticas em dose unitária</b>	<b>Peso médio</b>	<b>Limites de variação</b>
Comprimidos não revestidos ou revestidos com filme	250 mg ou mais	± 5,0%
Cápsulas duras e moles, cápsulas vaginais	Menos que 300 mg 300 mg ou mais	± 10,0% ± 7,5%

#### 4.4.3.8 Teste de Dureza

O teste de dureza permite determinar a resistência do comprimido ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial. O teste se aplica, principalmente, a comprimidos não revestidos (6). A dureza foi determinada empregando-se 10 comprimidos. Cada comprimido foi colocado no durômetro para avaliar se a dureza de cada comprimido estava dentro do limite especificado, onde o valor mínimo aceitável é de 30 N. Em seguida foram calculados os coeficientes de variação.

#### 4.4.3.9 Teste de Friabilidade

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. O teste

se aplica, unicamente, a comprimidos não revestidos (6). Consistiu, inicialmente, em pesar 10 comprimidos em balança analítica e registrar o peso inicial. Empregou-se um friabilometro com velocidade ajustada para 25 rotações por minuto, totalizando 4 minutos para realização do teste. Finalizado o teste, foram removidos quaisquer resíduos de pó da superfície dos comprimidos e os mesmos foram novamente pesados. Calculou-se a percentagem de perda que deve ser inferior a 1,5% segundo Farmacopeia Brasileira (2010) através da equação 5.

Equação 5

$$\% \text{Friabilidade} = (\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}) \times 100 / \text{Peso Inicial}$$

#### 4.4.3.10 Teste de desintegração

O teste de desintegração permite verificar se comprimidos e cápsulas se desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação de aparelhagem específica utilizando-se água ultrapura a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  como líquido de imersão (6). O limite de tempo estabelecido como critério geral para a desintegração de comprimidos não-revestidos e revestidos com filme é de 30 minutos e para cápsulas é de 45 minutos. Todas as cápsulas devem estar completamente desintegradas, ou restando, na tela, apenas fragmentos insolúveis de consistência mole (6).

Foi colocado num desintegrador Ethiktechnology, Modelo 301-1 6 comprimidos e 6 cápsulas de cloridrato de metformina 850 mg e observou-se as formas farmacêuticas até completa desintegração de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).

#### 4.4.3.11 Doseamento do Cloridrato de Metformina

O doseamento dos produtos foi realizado através do método de espectrofotometria de absorção no ultravioleta, segundo a Farmacopeia Brasileira (2010).

O teste foi realizado partindo da preparação do padrão que consistiu em pesar cerca de 100,0 mg de cloridrato de metformina padrão de trabalho, transferindo-o para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se cerca de 70 mL de água purificada empregando-se banho ultrassônico, por 15 minutos, para dissolução completa. Completou-se o volume com água purificada. Pipetou-se 1,0 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL, onde o volume foi completado com água ultrapura.

Para a preparação da amostra determinou-se o peso médio de 20 comprimidos e o peso do conteúdo de 20 cápsulas magistrais. Os comprimidos foram triturados até obtenção de um pó fino. Misturou-se o conteúdo das cápsulas manipuladas com auxílio de um grau e pistilo. Pesou-se e transferiu-se quantitativamente o equivalente a 100 mg de cloridrato de metformina por comprimido e cápsulas para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 70 mL de água ultrapura empregando-se banho ultrassônico, por 15 minutos, para dissolução completa. O volume foi completado com o mesmo solvente. Adicionou-se uma alíquota de 1,0 mL do filtrado em um balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com água ultrapura.

As absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro ultravioleta num comprimento de onda de 232 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1,0 cm e água ultrapura como branco. A especificação de teor para comprimidos, segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), é de 95,0% a 105,0% da quantidade declarada sendo adotada a mesma especificação para as cápsulas magistrais.

#### 4.4.3.12 Uniformidade de Conteúdo

Para assegurar a consistência de unidades de dosagem, cada unidade em um lote de um medicamento deve conter quantidade da substância ativa próxima da quantidade declarada. A uniformidade de doses unitárias de formas farmacêuticas pode ser avaliada por dois métodos: Variação de peso e uniformidade de conteúdo conforme Quadro 5.

Quadro 5 - Aplicação do método de UC ou de VP de acordo com a forma farmacêutica, dose e proporção do fármaco (6).

Forma farmacêutica	Tipo	Subtipo	Dose e proporção do fármaco	
			≥ 25 mg e ≥ 25%	<25 mg ou <25%
Comprimidos	Não revestidos		VP	UC
	Revestidos	filme	VP	UC
		Outros	UC	UC
Cápsulas	Duras		VP	UC
	Moles	Suspensões, emulsões ou géis	UC	UC
		Soluções	VP	VP

Para determinar a uniformidade de doses unitárias dos comprimidos e cápsulas de cloridrato de metformina 850 mg, foi utilizado o método de variação de peso. Pesou-se 10 comprimidos individualmente e a partir do resultado do teor foi estimada a quantidade de componente ativo em cada unidade testada, em porcentagem. Os valores de aceitação e variação de peso foram calculados através das equações 6 e 7 respectivamente.

#### Equação 6

$VA = |M - X| + ks$  (Em termos definidos por tabela especificada na Farmacopeia Brasileira 2010)

Equação 7

$$X_i = p_i \times A/P$$

Onde:

$p_i$ : pesos individuais das unidades ou conteúdos das unidades testadas;

A: quantidade de componente ativo, expressa em porcentagem da quantidade declarada, determinada no teor;

P: peso médio das unidades utilizadas no teor.

#### 4.4.3.13 Perfil de dissolução

O método utilizado para determinação do perfil de dissolução foi o descrito pela Farmacopeia Brasileira (2010). O estudo de dissolução foi conduzido utilizando aparato de cestas de aço inoxidável, método 1, empregando a velocidade de 100 rpm e 900 mL de meio de dissolução. As amostras foram analisadas em intervalos de tempo de coleta de 5, 10, 15, 30 e 45 minutos.

A preparação do padrão consistiu em pesar cerca de 100 mg de cloridrato de metformina padrão de trabalho e transferido para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se cerca de 70 mL de água purificada e dissolveu em banho ultrassônico, durante 15 minutos. O volume foi completado com água purificada. Pipetou-se 1,0 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL, onde o volume foi completado com água ultrapura.

Para preparar a amostra pesou-se 12 comprimidos individualmente. Transferiu-se um comprimido para cada cuba, contendo 900 mL de meio de dissolução. Retirou-se alíquotas de 5 mL com o auxílio de uma seringa nos tempos de 5, 10, 15, 30 e 45 minutos e realizou-se a filtração empregando papel de filtro. Adicionou-se uma alíquota de 1,0 mL do filtrado em um balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com água ultrapura.

As absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro a 233 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1,0 cm e água ultrapura como branco.

#### 4.4.3.14 Eficiência de Dissolução

A partir dos perfis de dissolução obtidos, a Eficiência de Dissolução (ED%) foi calculada. O valor da ED% foi calculado através da razão entre os parâmetros de área sob a curva (ASC) e área total do gráfico e expresso em porcentagem (59).

Os valores de ED% obtidos para os produtos foram submetidos à análise estatística pelo teste ANOVA, com o objetivo de se detectar a existência de diferença significativa entre os medicamentos. Em seguida, os resultados foram comparados por intermédio do teste de Tukey, com nível de significância de 5% (60).

#### 4.4.3.15 Avaliação da Cinética de Dissolução

Para avaliação da cinética de dissolução, os dados obtidos dos perfis de dissolução foram submetidos a tratamentos de três modelos, objetivando a determinação da ordem do processo de dissolução.

Para a cinética de ordem zero foram obtidos, para cada produto, gráficos de tempo *versus* quantidade não dissolvida do fármaco ( $t \times QND$ ). Para a cinética de primeira ordem foram obtidos, para cada produto, gráficos de tempo *versus* logaritmo neperiano da porcentagem de fármaco não dissolvida ( $t \times \ln \%ND$ ). No Modelo de Higushi foram obtidos, para cada produto, gráficos da raiz quadrada do tempo *versus* porcentagem de fármaco dissolvida ( $\sqrt{t} \times \%D$ ).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TESTES DE QUALIDADE PARA CLORIDRATO DE METFORMINA E SQT

#### 5.1.1 Descrição

A SQT e a matéria prima cloridrato de metformina apresentaram-se como um pó cristalino, branco à quase branco. Características físicas essas compatíveis com a especificação da Farmacopéia Brasileira (2010) como demonstrado nas figuras 8 e 9 (57).



Figura 8 - Cloridrato de metformina SQT



Figura 9 - Matéria prima cloridrato de metformina

### 5.1.2 Solubilidade

A amostra da SQT apresentou-se facilmente solúvel em água, pouco solúvel em etanol 95% (V/V), praticamente insolúvel em acetona, cloreto de metileno, éter etílico e clorofórmio. As solubilidades experimentais estão de acordo com o descrito na Farmacopeia Brasileira (2010) (6).

### 5.1.3 Temperatura de fusão

O ensaio para avaliar a pureza do cloridrato de metformina e da SQT consistiu na determinação do ponto de fusão. A Farmacopeia Brasileira (2010) menciona que a faixa de fusão do cloridrato de metformina está entre 222 °C a 226 °C. No ensaio realizado foi observado que a faixa de fusão se apresentou entre 218 °C e 222 °C, sendo indicativo da pureza da amostra.

Resultados obtidos através da análise do ponto de fusão pode sugerir um provável indício de alteração da rede cristalina do fármaco durante o processo de

produção ou até mesmo a presença de impurezas, o que pode acabar comprometendo a constante físico-química do fármaco.

#### **5.1.4 Varreduras espectrais**

A varredura pelos comprimentos de onda de 200-400 nm das soluções de SQT em água e em tampão fosfato pH 6,8 evidenciou a não interferência dos diferentes meios na leitura espectrofotométrica, conforme Figura 10.

De acordo com a Figura 10, verificou-se que o comprimento de onda de máxima absorção para SQT foi de aproximadamente 233 nm, quando se empregou tampão fosfato de potássio pH 6,8 como solvente e aproximadamente 232 nm, quando utilizou-se água. Os valores dos comprimentos de onda máximos determinados são próximos aos valores preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010), e com isso estes comprimentos de onda puderam ser utilizados para a validação dos métodos para quantificação e dissolução de cloridrato de metformina na forma farmacêutica cápsula.

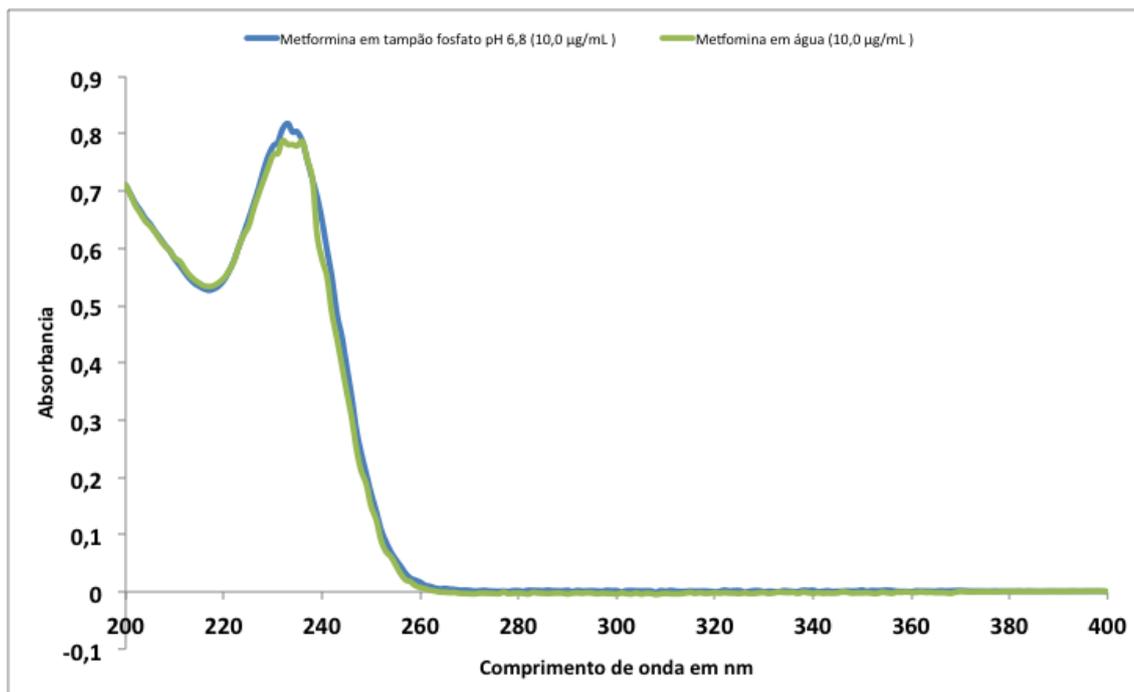


Figura 10 - Espectro das soluções de cloridrato de metformina em água e em tampão fosfato pH 6,8 a 10,0 µg mL<sup>-1</sup>

### 5.1.5 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho

A identificação da SQT foi feita por Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier, e o espectro obtido está apresentado na Figura 11 cujas frequências são características do cloridrato de metformina. No comprimento de onda de 3400 - 3100 cm<sup>-1</sup> tem-se a presença de N-H na molécula bem como entre 1685 - 1580 cm<sup>-1</sup> observa-se a presença de C=N.

O cloridrato de metformina possui o nitrogênio próximo ao grupamento metil que gera pico em 2835 – 2815 cm<sup>-1</sup> (61, 62).

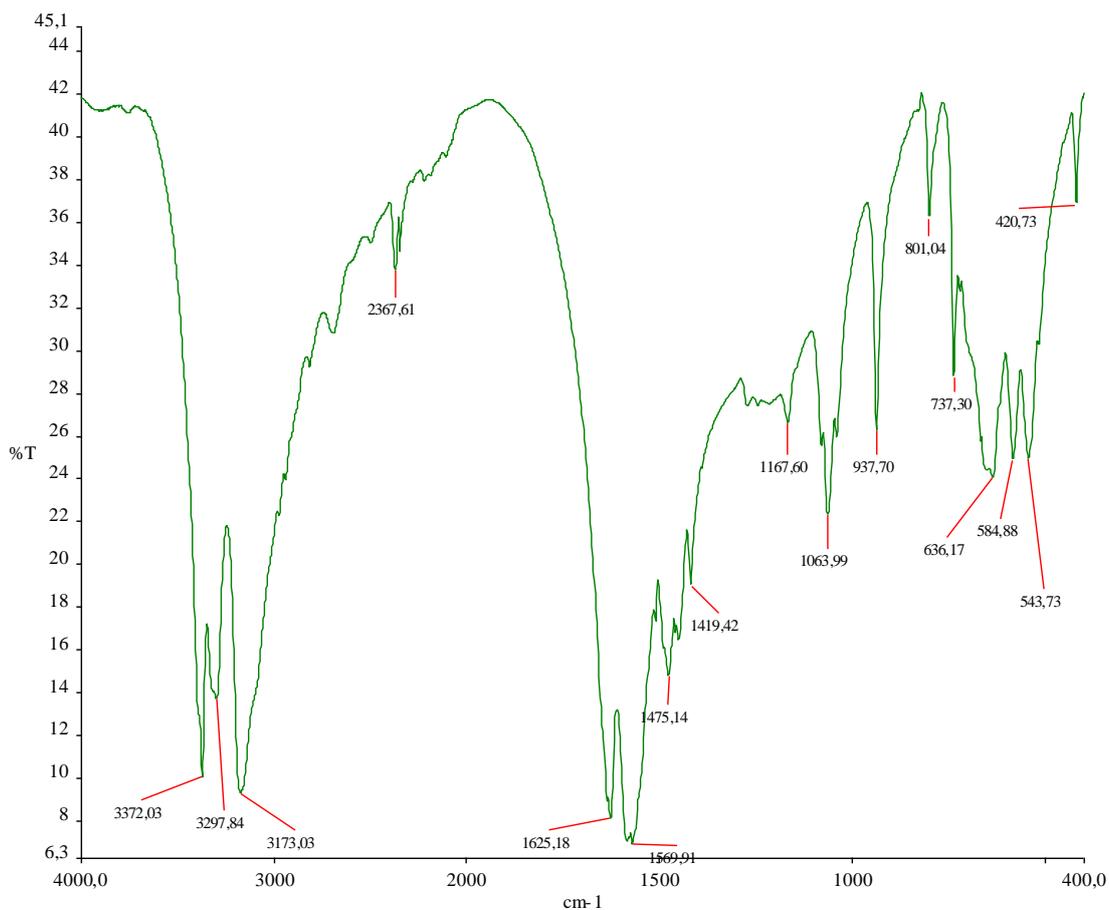


Figura 11 - Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier para cloridrato de metformina

## 5.2 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA-UV/VISÍVEL PARA QUANTIFICAÇÃO DE CLORIDRATO DE METFORMINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS

### 5.2.1 Linearidade

Os resultados do estudo de linearidade demonstrados na figura 12 foram submetidos a testes estatísticos para obtenção da equação da reta e do coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Obteve-se a equação da reta  $y = 0,0788x - 0,0045$  pelo

método dos mínimos quadrados, e o coeficiente de determinação  $R^2$  obtido foi de 0,9991 para o método analítico, o que sugere a linearidade dos métodos onde quase toda a variabilidade das absorvâncias podem ser explicadas pela variabilidade da concentração da amostra.

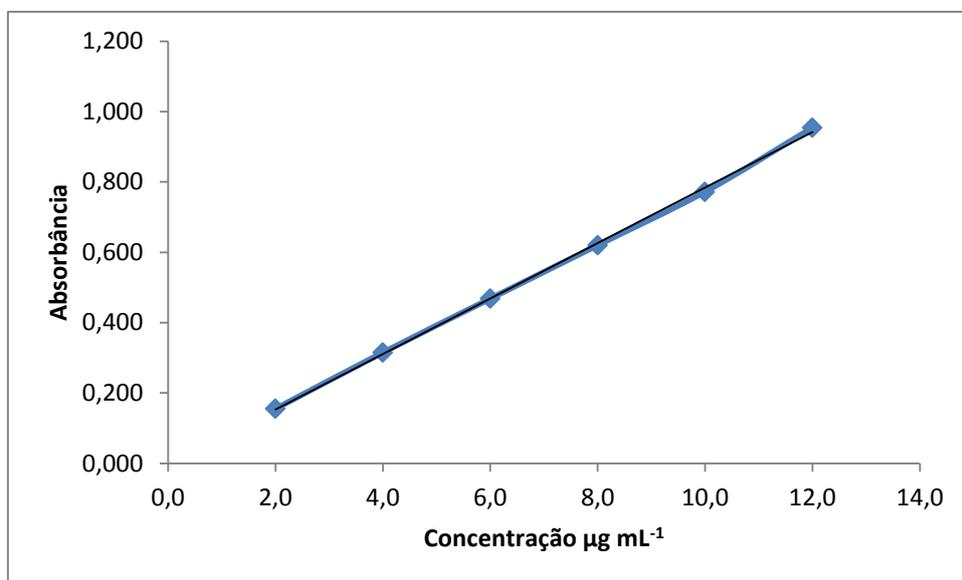


Figura 12 - Representação gráfica da linearidade do método para dosagem do cloridrato de metformina

A significância estatística da curva ajustada de um modelo é realizada através do teste ANOVA *one-way* (63, 64). O teste de hipótese da significância da regressão considera como hipótese nula ( $H_0$ ) quando o coeficiente angular  $b$  é igual à zero, já para a hipótese alternativa ( $H_1$ ) o valor de  $b$  deve ser diferente de zero. Para a regressão da reta o valor de  $F_0$  foi de 19064,68 sendo que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  é 4,49. Se o valor de  $F_0$  for maior que o do  $F_{\text{crítico}}$ , a hipótese nula é rejeitada e a alternativa aceita, comprovando a linearidade no intervalo estudado como demonstrado anteriormente (65).

Os dados analíticos foram submetidos ao teste  $F$ , e para avaliar o comportamento linear da curva, foi comparado o  $F_0$  obtido para a linearidade com o  $F_{\text{crítico}}$ , de forma que para comprovar a linearidade se deve encontrar um valor de  $F_0$  menor que o  $F_{\text{crítico}}$  (65). Para a linearidade, o valor do  $F_0$  foi de 1,524685 e para o  $F_{\text{crítico}}$  3,26. As relações de Linearidade do método, demonstrando que o modelo é linear e está bem ajustado na faixa de concentração estudada.

Tabela 6 - Resultados do estudo de Linearidade do Método Analítico para doseamento do cloridrato de metformina

<b>Concentração (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>DP</b>	<b>CV (%)</b>
2,0	0,003	1,62%
4,0	0,002	0,9%
6,0	0,002	0,44%
8,0	0,001	0,09%
10,0	0,003	0,39%
12,0	0,001	0,6%

DP = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação

### 5.2.2 Limite de detecção e quantificação

A partir da curva analítica foram estimados o limite de detecção e o limite de quantificação, o que demonstrou a sensibilidade do método. Os resultados estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Valores obtidos para o limite de detecção e quantificação do método analítico por espectrofotometria-UV/Visível

<b>Parâmetros da Validação</b>	<b>Método de análise</b>
LD ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	0,04
LQ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	0,14

LD = limite de detecção; LQ = limite de quantificação.

### 5.2.3 Especificidade

A especificidade avaliou a capacidade do método em quantificar e distinguir o analito em presença de interferentes. Neste caso, foram utilizados excipientes farmacêuticos que comumente podem estar presentes em medicamentos manipulados em farmácias magistrais. Nenhum dos excipientes utilizados apresentou absorção relevante no comprimento de onda de máxima absorbância do cloridrato de metformina. O critério de aceitação para a especificidade é de  $\pm 5,0\%$ , ou seja, entre 95,0 e 105,0% (6, 56). Como a porcentagem de recuperação média foi de 97,56% com um desvio padrão de  $\pm 0,31\%$ , considera-se o método como sendo específico. Considera-se que os fenômenos de interação fármaco-excipiente não interferiram nos métodos analíticos propostos podendo considerar os métodos como sendo específicos.

### 5.2.4 Precisão

A precisão do método foi determinada pela repetibilidade (intra-dia) e precisão intermediária (inter-dia). Os valores encontrados para o CV foi 1,25% e 0,72% para a repetibilidade e precisão intermediária respectivamente (Tabela 8). Esses valores foram considerados em acordo com o preconizado pelas normas vigentes (28, 66), onde não se admite valores superiores a 5,0%. Portanto, o método analítico espectrofotométrico-UV/Visível é preciso.

Tabela 8 - Precisão intra-dia e inter-dia para método analítico do cloridrato de metformina

Amostra	Intra-dia (n = 3)	Inter-dia (n = 3)
1	99,37%	96,57%
2	96,38%	97,08%
3	96,70%	97,08%
4	96,07%	97,78%
5	96,32%	96,70%
6	97,21%	95,62%
	Média = 97,01%	Média = 96,81%
	Desvio Padrão = 1,22	Desvio Padrão = 0,72
	Coeficiente de Variação % = 1,25	Coeficiente de Variação % = 0,72

### 5.2.5 Exatidão

A exatidão intra-dia e inter-dia realizada para o método de análise apresentaram-se adequados. Os resultados apresentados na Tabela 9 estão de acordo com o critério de aceitação  $\pm 5,0\%$ , considerando-se o método como sendo específico e de acordo com dados da literatura e norma vigentes (28, 45, 66).

Tabela 9 - Exatidão do método de espectrofotometria UV para a quantificação de cloridrato de metformina em cápsulas

	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	Recuperação (%)
Intra-dia (n=3)	8	100,43 $\pm$ 1,27%
	10	96,63 $\pm$ 0,58%
	12	99,21 $\pm$ 0,34%
Inter-dia (n=3)	8	101,91 $\pm$ 1,51%
	10	97,69 $\pm$ 0,44%
	12	99,98 $\pm$ 0,74%

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão

### 5.2.6 Robustez

O ensaio de robustez foi realizado empregando variações nas condições experimentais suscetíveis de ocorrer durante a utilização do método. As respostas obtidas no método não foram alteradas quando houve emprego de diferentes especificações de papel de filtro quantitativo como demonstrado na Tabela 10.

A estabilidade da solução em 4 h também foi avaliada e a mesma se manteve estável por 4 h após o preparo (Figura 13). Pode-se afirmar que o método é robusto, pois dentro de 4 h foi possível determinar quantitativamente o fármaco, de modo que os teores encontrados foram próximos aos obtidos nas determinações da precisão do método de análise.

Tabela 10 - Método de análise com emprego de papel de filtro quantitativo com diferentes especificações

Especificação do Papel de filtro	Recuperação média %
quantitativo	
8 $\mu\text{m}$	98,50 $\pm$ 0,41%
28 $\mu\text{m}$	98,33 $\pm$ 0,70%
Sem Filtrar	98,84 $\pm$ 0,45%

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=3).

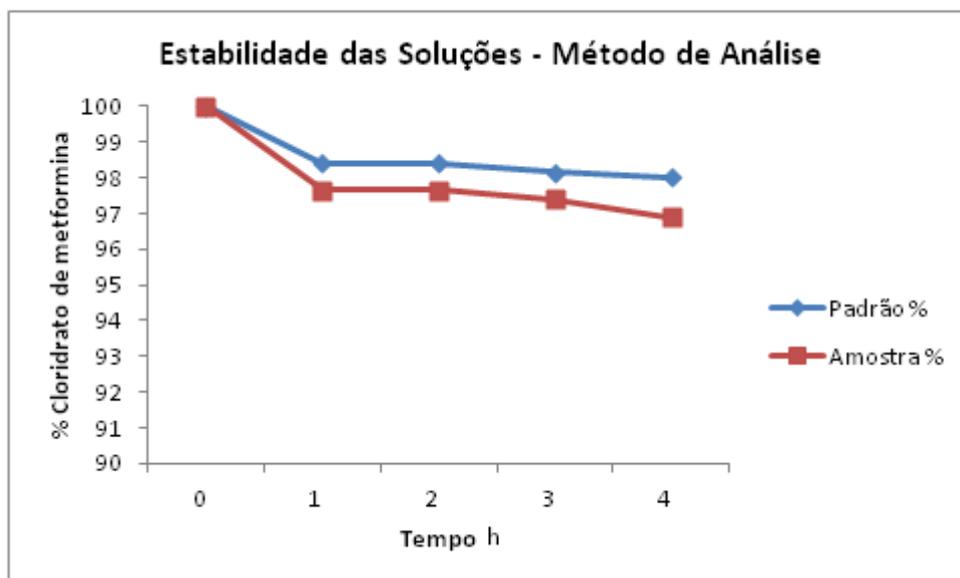


Figura 13 - Resultados da estabilidade da solução de cloridrato de metformina em água ultrapura

### 5.2.7 Validação de ensaio de dissolução para cloridrato de metformina 850 mg em cápsulas magistrais

#### 5.2.7.1 Linearidade

A linearidade do ensaio de dissolução representada na figura 14 foi obtida a partir de três curvas analíticas com emprego de tampão fosfato de potássio pH 6,8, construídas através de 6 níveis de concentração que variaram de  $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  a  $12,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o método de espectrofotometria-UV/Visível.

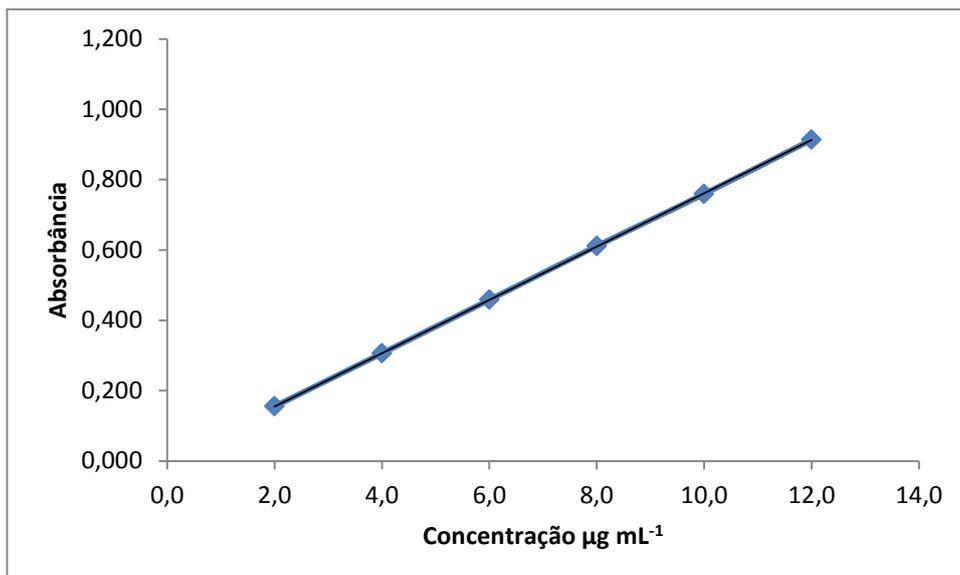


Figura 14 - Representação gráfica da linearidade do método de dissolução para o cloridrato de metformina

Obteve-se a equação da reta  $y = 0,0757x + 0,0035$  e  $R^2$  igual a 0,9999, o que sugere a linearidade do método onde quase toda a variabilidade das absorbâncias pode ser explicada pela variabilidade da concentração da amostra.

A significância estatística da curva ajustada de um modelo é realizada através do teste F (63, 64). As relações de Linearidade do ensaio de dissolução estão apresentadas na Tabela 11, demonstrando que o modelo é linear e está bem ajustado na faixa de concentração estudada uma vez que o valor de  $F_0$  igual a 0,599303 é menor que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  que é 3,26.

Tabela 11 - Resultados do estudo de linearidade ensaio de dissolução

Concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	DP	CV (%)
2,0	0,001	0,03%
4,0	0,003	0,06%
6,0	0,002	0,03%
8,0	0,001	0,01%
10,0	0,004	0,04%
12,0	0,004	0,38%

DP = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação

Além da relação de linearidade, as validades das regressões do ensaio de dissolução também foram comparadas entre valores de  $F_0$  e  $F_{\text{crítico}}$ , de modo que para o coeficiente angular da curva ser diferente de zero deve-se ter valores de  $F_0$  maiores que os de  $F_{\text{crítico}}$ . O resultado obtido para o  $F_0$  foi de 196279,9 o que representa um valor menor que 4,49 do  $F_{\text{crítico}}$ . Portanto, pode-se afirmar através dos resultados apresentados, que a inclinação da reta não é nula.

#### 5.2.7.2 Especificidade

Nenhum dos excipientes utilizados apresentou absorção relevante no comprimento de onda de máxima absorbância do cloridrato de metformina e na varredura do espectro no comprimento de onda de 200 a 400 nm em espectrofotometria UV/Visível (Figura 15).

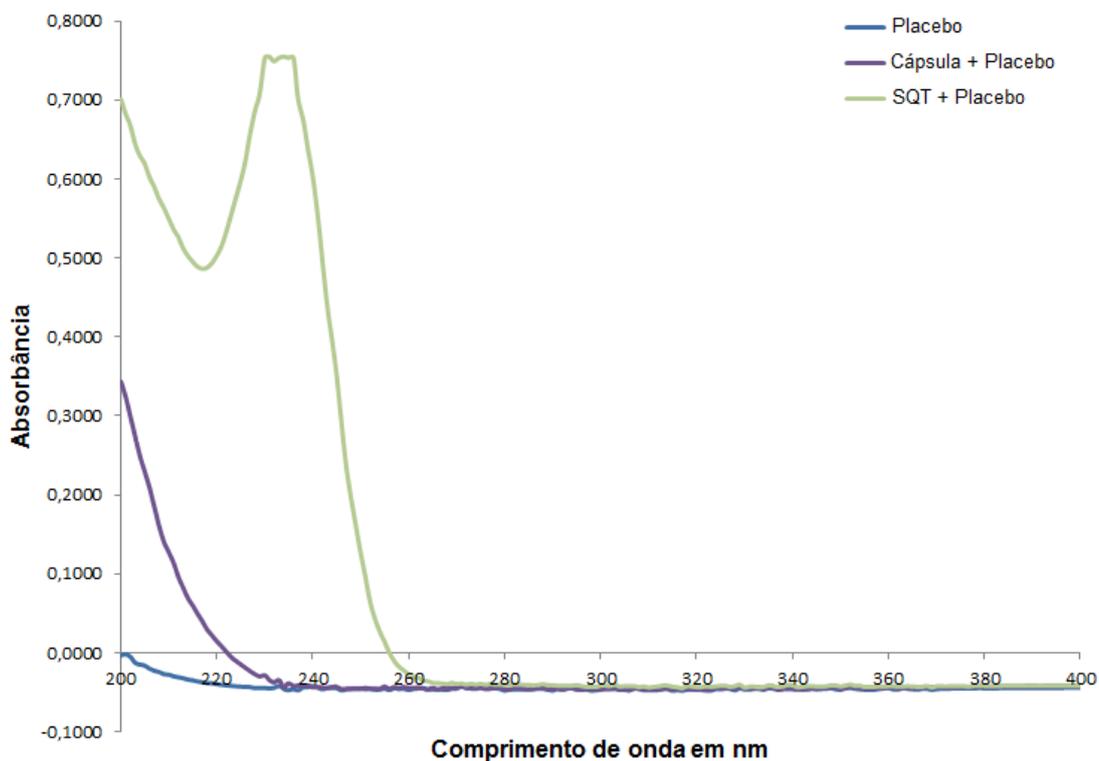


Figura 15 - Varredura no espectro de absorção por espectrofotometria UV do cloridrato de metformina em tampão fosfato de potássio monobásico pH 6,8

O critério de aceitação para a especificidade é que a interferência do placebo na leitura não pode exceder 2% (56). Como a porcentagem de recuperação média foi de  $99,09 \pm 0,95\%$  para a SQT, considera-se que os fenômenos de interação fármaco-excipiente não interferiram no método proposto, podendo considerar o método como sendo específico (Tabela 12).

Tabela 12 - Resultados obtidos para especificidade

	Recuperação média (%)
Padrão	$99,75 \pm 0,20$
Padrão + Placebo	$99,09 \pm 0,95$
Placebo	$1,12 \pm 0,35$
Cápsula + Placebo	$1,29 \pm 0,50$

### 5.2.7.3 Precisão

Os resultados obtidos na avaliação da precisão intra-dia e inter-dia estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores do teor (%) obtidos para avaliação da precisão intra-dia e inter-dia

<b>Amostras</b>	<b>Intra-dia (n = 3)</b>	<b>Inter-dia (n=3)</b>
1	100,00%	99,47%
2	96,83%	96,43%
3	98,75%	99,67%
4	97,69%	96,63%
5	99,93%	98,22%
6	99,01%	98,02%
	Média = 98,70%	Média = 98,07%
	Desvio Padrão = 1,25%	Desvio Padrão = 1,36%
	Coeficiente de Variação % = 1,27	Coeficiente de Variação % = 1,39

O valor de DP das absorbâncias na precisão intra-dia e precisão inter-dia foi de 1,25% e 1,36% respectivamente, demonstrando que o método possui boa precisão. Valores inferiores a 5,0 % são aceitáveis (28).

### 5.2.7.4 Exatidão

Os valores obtidos para o teste de recuperação do ensaio de dissolução estão demonstrados na Tabela 14. Na avaliação da exatidão, a porcentagem de recuperação se apresentou dentro dos limites especificados de 95 a 105% para o teor do clordidrato de metformina (57).

Tabela 14 - Valores obtidos para o teste de recuperação do ensaio de dissolução para amostras de cloridrato de metformina 850 mg

	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	Recuperação (%)
Intra-dia (n=3)	8	99,43 $\pm$ 0,41%
	10	99,09 $\pm$ 0,33%
	12	98,87 $\pm$ 0,27%
Inter-dia (n=3)	8	99,81 $\pm$ 0,43%
	10	98,78 $\pm$ 0,07%
	12	98,58 $\pm$ 0,11%

#### 5.2.7.5 Robustez

O ensaio de robustez foi realizado empregando variações nas condições experimentais suscetíveis de ocorrer durante a utilização do método. As respostas obtidas no método não foram alteradas quando houve variações no emprego de diferentes marcas de reagentes para o preparo do meio de dissolução e nem no emprego de diferentes especificações de papel de filtro quantitativo como demonstrado na Tabela 15.

Tabela 15 - Ensaio de dissolução com emprego de fosfato de potássio monobásico de diferentes fabricantes e papel de filtro quantitativo com diferentes especificações

Fabricante	Especificação do papel de filtro quantitativo	Porcentagem de recuperação
Nuclear®	8 $\mu\text{m}$	98,80 $\pm$ 0,09%
	28 $\mu\text{m}$	98,68 $\pm$ 0,09%
Cinética®	8 $\mu\text{m}$	97,16 $\pm$ 0,09%
	28 $\mu\text{m}$	96,70 $\pm$ 0,09%

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=3).

A estabilidade da solução em 4h também foi avaliada em meio de dissolução e as soluções se mantiveram estáveis por até 4 h após o preparo mantendo o teor de cloridrato de metformina no intervalo de 98 a 102% como recomendado pela USP 35 (67) (Figura 16). Pode-se afirmar que o método é robusto, pois dentro de 4 h foi possível determinar quantitativamente o fármaco, de modo que os teores encontrados foram próximos aos obtidos nas determinações da precisão do método de análise e de dissolução.

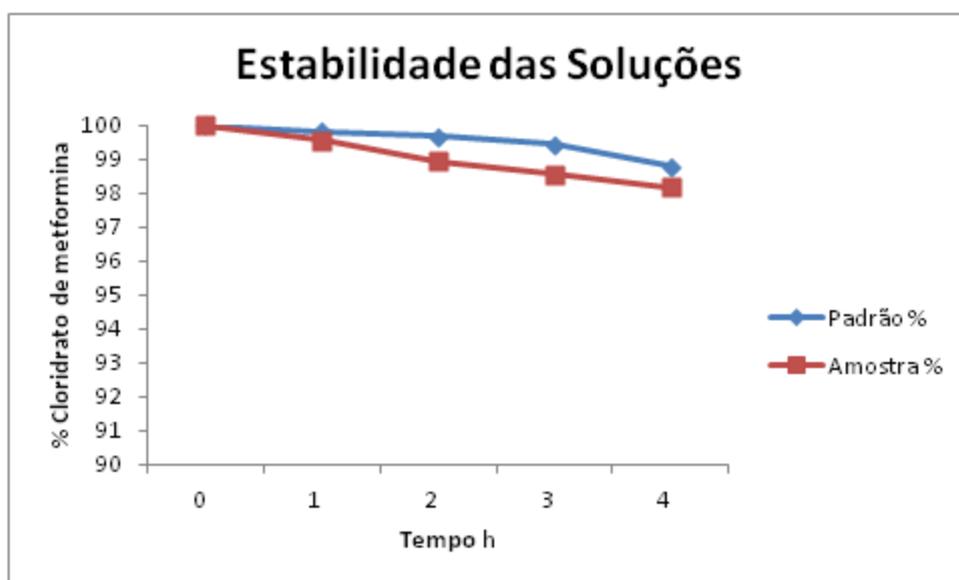


Figura 16 - Resultado obtido no estudo de estabilidade das soluções de cloridrato de metformina em 4 horas.

### 5.3 RESULTADOS DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS APRESENTAÇÕES DE CLORIDRATO DE METFORMINA 850 MG

#### 5.3.1 Aspecto

Os comprimidos do produto R são revestidos, possui cor branca, forma oblonga e sulcado no centro e há homogeneidade quanto à cor e aspecto.

Os comprimidos do produto G1 são revestidos, possui cor branca, forma oblonga e sulcado em uma das faces e há homogeneidade quanto à cor e aspecto.

Os comprimidos do produto G2 são revestidos possuem cor branca, forma oblonga e com sulco central em uma das faces e marcado com o nome do laboratório na outra face, apresentando homogeneidade quanto à cor e aspecto.

Os comprimidos do produto S1 não são revestidos, possui cor branca, forma oblonga e sulcado em uma das faces e há homogeneidade quanto à cor e aspecto.

Os comprimidos do produto S2 não são revestidos, possui cor branca, forma oblonga e apresentam homogeneidade quanto à cor e aspecto.

### 5.3.2 Determinação de Peso

Os resultados da determinação de peso médio dos comprimidos dos produtos R, G1, G2, S1 e S2 estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Resultados do peso médio e das variações encontradas entre os medicamentos referência, genéricos e similares

<b>Ensaio</b>	<b>R</b>	<b>G2</b>	<b>G1</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>
Peso Médio (g)	0,899 ±0,009	1,031 ±0,007	0,929±0,017	0,986±0,007	0,944 ± 0,009
Variação					
Mínima %	2,07	1,20	3,96	1,79	2,71
Variação					
Máxima %	1,83	1,02	2,75	1,27	1,49

n = 20

A tabela 17 contem os resultados obtidos para o peso médio das cápsulas magistrais.

Tabela 17 - Resultados do peso médio e das variações da cápsula magistral do cloridrato de metformina 850 mg

<b>Ensaio</b>	<b>Cápsula Magistral (n = 20)</b>
Peso Médio (g)	0,791 ± 28,28
Varição Mínima %	6,26
Varição Máxima %	4,04

A determinação e os ajustes dos pesos das formulações sólidas, ao longo do processo de compressão e/ou encapsulamento, são procedimentos importantes, uma vez que cada unidade deve conter uma quantidade específica de princípio ativo dentro da formulação do medicamento proposto (68).

Todas as formulações apresentaram-se dentro da faixa especificada, seguindo o limite de variação permitido para comprimidos e cápsulas, segundo a Farmacopeia Brasileira (2010) que é de  $\pm 5,0\%$  e  $\pm 7,5\%$  respectivamente. Podendo-se tolerar não mais que ate duas unidades fora dessa faixa, porem nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas para o limite de variação farmacopeico (57).

### 5.3.3 Friabilidade

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. Um comprimido considerado adequado deve permanecer intacto durante o manuseamento, entre a produção e a administração (31). Os resultados obtidos no teste de friabilidade para as amostras de comprimidos não revestidos estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores obtidos no teste de friabilidade para os comprimidos não revestidos

Produto	Perdas em massa (%)
S1	0,22
S2	0,25

O máximo aceitável para o teste de friabilidade é de 1,5%, segundo a Farmacopeia Brasileira (2010). Portanto, as porcentagens de perda de massa para todas as amostras analisadas encontram-se dentro do intervalo aceitável.

### 5.3.4 Determinação da Dureza

Os resultados obtidos para o teste de dureza estão expressos na Tabela 19. O mínimo preconizado para este teste é 30 Newton (N), segundo a Farmacopeia Brasileira (2010).

Tabela 19 - Valores médios obtidos no teste de dureza para os comprimidos (n = 10)

Produto	Dureza Média (N)
R	284,74 ± 5,04
G1	259,16 ± 34,89
G2	278,27 ± 14,99
S1	133,83 ± 14,02
S2	113,65 ± 6,84

O teste de dureza avalia a resistência do comprimido ao esmagamento ou a ruptura sob pressão radial. Este parâmetro está relacionado à força de compressão que, à medida que é aumentada, diminui a porosidade do comprimido, aumentando a sua resistência. O teste se aplica principalmente a comprimidos não-revestidos (6, 31).

Todas as amostras de comprimidos testadas apresentaram dureza média superior a 30 N, atendendo a especificação da Farmacopeia Brasileira (2010).

### 5.3.5 Desintegração

O processo de cedência do fármaco para formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata, seguidamente, inclui um passo no qual o comprimido desintegra-se em fragmentos menores. Ensaio de desintegração, normalmente, não são usados para estabelecer correlação com o comportamento *in vivo* de comprimidos. Assim, a conformidade com as especificações não é garantia de cedência ou absorção aceitável do fármaco *in vivo* nem do seu efeito clínico. Ensaio de desintegração, no entanto, são úteis para verificar a importância potencial das variáveis de formulação e de processamento sobre as propriedades biofarmacêuticas de comprimidos e como procedimento de controle para avaliar a reprodutibilidade da qualidade das formas farmacêuticas sólidas (31).

A desintegração é definida, para os fins desse teste, como o estado no qual nenhum resíduo das unidades testadas (cápsulas ou comprimidos) permanece na tela metálica do aparelho de desintegração, salvo fragmentos insolúveis de revestimento de comprimidos ou invólucros de cápsulas. Consideram-se, também, como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa, desde que não apresentem núcleo palpável (6).

Tabela 20 - Valores obtidos no teste de desintegração para os comprimidos e cápsula magistral

Amostra	Tempo de desintegração em minutos
R	9`19"
G1	6`47"
G2	10`12"
S1	2`05"
S2	1`39"
Cápsula Magistral	8`50"

Todas as amostras submetidas ao teste de desintegração cumpriram a especificação mencionada em literatura, estando completamente desintegradas ao final de 30 minutos para os comprimidos e 45 minutos para cápsulas conforme demonstrado na Tabela 20 (6).

### 5.3.6 Doseamento

Os resultados do doseamento por espectrofotometria UV/Visível dos produtos estão demonstrados na Tabela 21.

Tabela 21 - Valores obtidos no doseamento das amostras dos comprimidos por espectrofotometria UV

Amostra	Média das massas mg (n=3)	Teor (%)
R	844,63 ± 3,87	99,37 ± 0,46
G1	843,92 ± 9,74	99,28 ± 1,15
G2	836,05 ± 2,84	98,36 ± 0,33
S1	839,63 ± 3,77	98,78 ± 0,44
S2	847,50 ± 10,14	99,71 ± 1,19
Cápsula Magistral	781,37 ± 2,67	91,92 ± 0,31

Resultados expressos como média ± DP

O ensaio de doseamento é importante para determinar a quantidade de fármaco contido em um medicamento. A administração de um medicamento com concentração de fármaco acima ou abaixo da concentração declarada na fórmula pode representar um risco de intoxicação ou ineficiência terapêutica para o paciente (69). Na determinação quantitativa, verificou-se que os teores médios de cloridrato de metformina obtidos para os comprimidos encontraram-se dentro da faixa de 95,0 a 105%, da quantidade declarada do fármaco. Já para a amostra de cápsula magistral, os resultados apresentados estão abaixo do valor especificado pela Farmacopeia Brasileira (2010), conforme Tabela 21.

A metodologia empregada no presente estudo não possibilita identificar a possível causa desse desvio, uma vez que as cápsulas foram produzidas por um estabelecimento farmacêutico o qual não houve acesso aos procedimentos produtivos.

Nesse caso, os problemas que podem ser levantados estão relacionados aos procedimentos de “Boas práticas de fabricação”. Pelo fato da produção de cápsulas em farmácias magistrais serem conduzidas na maioria das vezes através do método de nivelamento em encapsuladoras manuais, é fundamental a correta escolha dos excipientes, bem como a existência de protocolos padronizando a produção, o que possibilita o alcance da reprodutibilidade e dos resultados esperados. Além desses cuidados, torna-se necessária uma maior atenção às calibrações e/ou qualificações dos instrumentos de pesagem e treinamento dos técnicos, objetivando minimizar os erros, aumentando a segurança e eficácia dos produtos oferecidos à população.

O controle de qualidade em estabelecimentos farmacêuticos deve ser algo bem estabelecido, pois desvios de qualidade em formulações magistrais podem levar a perda da eficácia e/ou segurança do medicamento comprometendo diretamente a saúde do paciente.

### **5.3.7 Uniformidade de Conteúdo**

Uma característica fundamental da qualidade em produtos farmacêuticos é o requisito da manutenção da dose do fármaco entre cada unidade individual da forma

farmacêutica sólida. Na prática, pequenas variações entre unidades são aceitáveis, e os limites para essas variações são determinadas por meio de valores padrão nas farmacopeias. Na Farmacopeia Brasileira, esses valores padrão são determinados pelo valor de aceitação que consiste no desvio máximo permitido para cada unidade testada em relação ao valor da média. Se os constituintes ativos constituem a maior parte da massa do comprimido ou cápsula, qualquer variação de peso reflete, de maneira evidente na variação do teor dos componentes ativos. Desse modo, o atendimento à especificação auxilia no sentido de assegurar que foi obtida a uniformidade de dose (6, 30, 31, 68).

Nos resultados referentes ao estudo todos os medicamentos foram aprovados no teste de uniformidade de doses unitárias, onde o Valor de Aceitação calculado para as 10 primeiras unidades testadas nos diferentes produtos foi menor que 15 (valor tabelado), conforme demonstrado na Tabela 22.

Tabela 22 - Variação do teor (%) unitário de comprimidos e cápsulas de cloridrato de metformina no ensaio de uniformidade de conteúdo

Amostra	G2 (%)	G1 (%)	S1 (%)	S2 (%)	R (%)	Cápsula Magistral (%)
1	97,85	98,86	97,90	99,77	100,78	94,24
2	97,31	99,74	99,28	99,97	99,84	93,31
3	98,84	101,99	99,55	97,01	100,12	87,74
4	98,74	97,44	98,18	99,78	99,50	94,48
5	98,17	97,91	99,32	99,04	99,52	92,04
6	97,50	100,73	99,05	100,15	99,79	95,17
7	97,12	101,66	97,02	99,71	101,19	95,41
8	98,74	98,18	99,07	99,04	99,41	95,64
9	98,46	100,51	99,03	99,10	97,69	94,94
10	97,79	97,54	100,04	100,10	98,97	86,46
Média (%)	98,05	99,46	98,84	99,37	99,68	92,94
Desvio Padrão	0,63	1,71	0,89	0,93	0,96	3,27
Valor de Aceitação	2,0	4,1	2,1	2,2	2,3	13,4

Valores expressos em porcentagem de teor do fármaco.

### 5.3.8 Perfil de Dissolução Comparativo

O perfil de dissolução foi conduzido utilizando doze unidades de comprimidos e cápsulas manipuladas. Alíquotas de 5 mL foram retiradas nos intervalos de 5, 10, 15, 30 e 45 minutos para comprimidos e 5, 7, 10, 15, 30 e 45 minutos para cápsulas magistrais (Figura 21). As alíquotas foram filtradas, diluídas para análise espectrofotometria UV/Visível.

A comparação dos perfis de dissolução obtidos para os produtos avaliados foi estabelecida através do estudo de cinética de dissolução, eficiência de dissolução (ED%) e fatores de diferença ( $f_1$ ) e semelhança ( $f_2$ ).

Através dos perfis de dissolução, parâmetros cinéticos, os quais possibilitam obter uma análise comparativa com relação ao comportamento *in vitro* desses produtos, foram determinados. A avaliação da cinética de dissolução possibilita a obtenção de conclusões a respeito do processo de dissolução de determinada formulação, uma vez que é possível conhecer basicamente quanto do fármaco foi dissolvido no meio e qual a velocidade do processo de dissolução do fármaco (24, 29, 42).

Outro método de comparação de perfis de dissolução baseia-se no cálculo da Eficiência de Dissolução (ED%), estabelecida por Khan e Rhodes (1975), a qual se define como a área sob a curva de dissolução até um determinado tempo. Esse método avalia não apenas a quantidade liberada ao fim de um determinado tempo, mas a cinética de liberação ao longo de todo o período da dissolução. O conceito de ED possui a vantagem de poder ser teoricamente relacionado com os dados *in vivo*, uma vez que este parâmetro está relacionado com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvida no meio (70, 71). Com isso, obtém-se uma melhor previsão dos resultados *in vivo* se partirmos do princípio que a extensão da absorção de um fármaco é proporcional à concentração do fármaco dissolvido e ao tempo que este permanece em contato com as regiões onde ocorre absorção no trato gastrointestinal (26, 59, 72).

Os valores médios em porcentagem de dissolução do cloridrato de metformina para cada um dos produtos analisados encontram-se na Tabela 23 e as representações gráficas comparando o medicamento teste com o referência estão ilustrados nas Figuras 17, 18, 19 e 20.

Tabela 23 - Valores médio da porcentagem de cloridrato de metformina dissolvido ( $\pm$  desvio padrão) em função do tempo

Tempo (minutos)	R (%)	G1 (%)	G2 (%)	S1 (%)	S2 (%)
5	48,88 $\pm$ 9,0	40,56 $\pm$ 18,9	16,52 $\pm$ 18,8	40,03 $\pm$ 6,6	44,43 $\pm$ 17,4
10	81,29 $\pm$ 5,7	83,61 $\pm$ 6,2	44,25 $\pm$ 7,5	72,82 $\pm$ 4,2	73,83 $\pm$ 12,9
15	94,47 $\pm$ 1,2	93,10 $\pm$ 1,9	68,24 $\pm$ 4,9	91,52 $\pm$ 1,6	88,74 $\pm$ 5,8
30	94,85 $\pm$ 0,7	93,27 $\pm$ 1,7	94,27 $\pm$ 1,4	93,53 $\pm$ 0,8	94,69 $\pm$ 3,0
45	95,73 $\pm$ 1,1	93,43 $\pm$ 1,5	94,81 $\pm$ 1,2	93,84 $\pm$ 1,0	94,82 $\pm$ 2,9

Os valores correspondem à média de doze determinações  $\pm$  desvio padrão

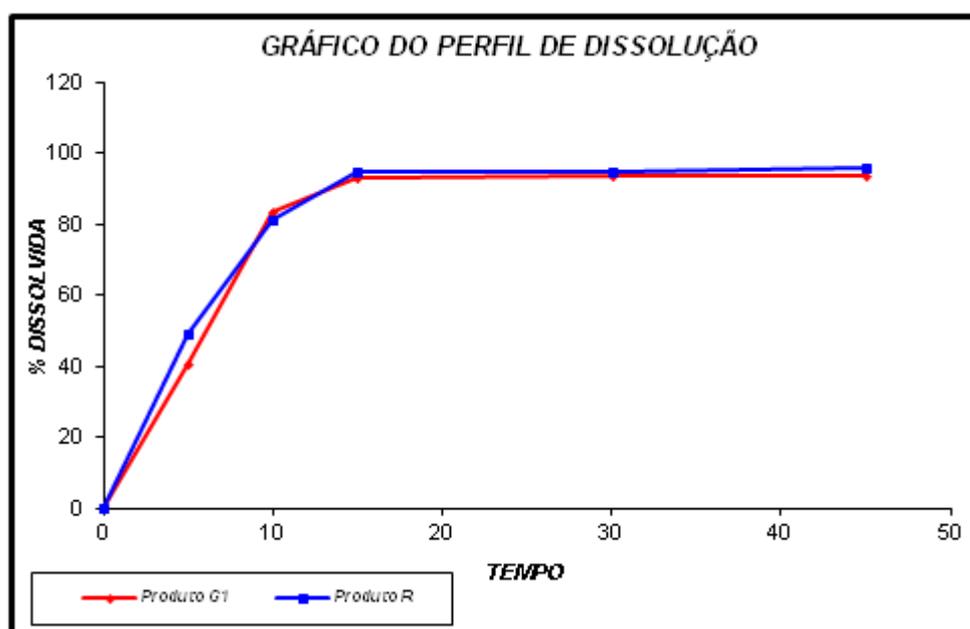


Figura 17 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto G1. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades

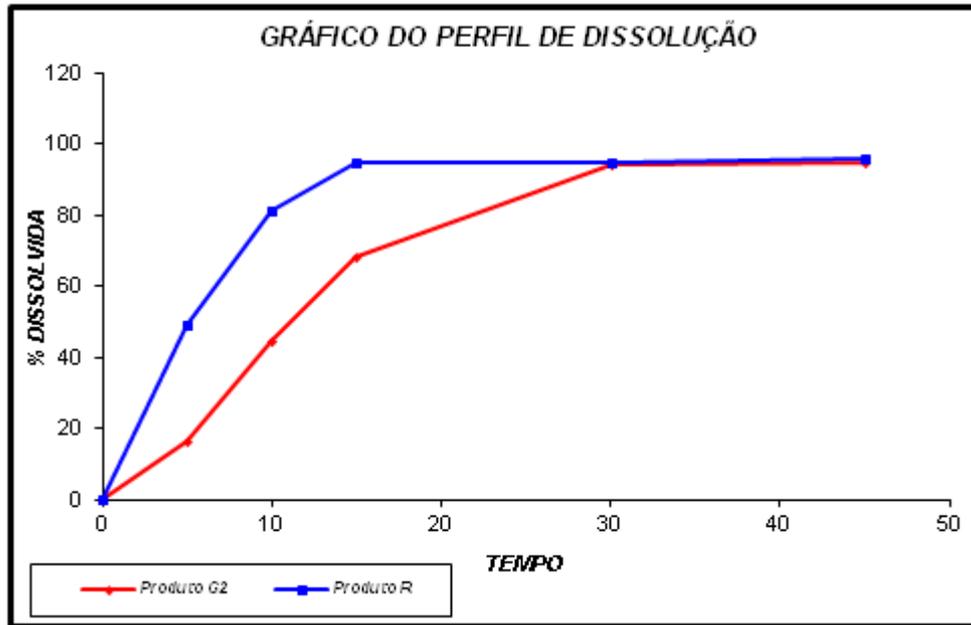


Figura 18 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto G2. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades

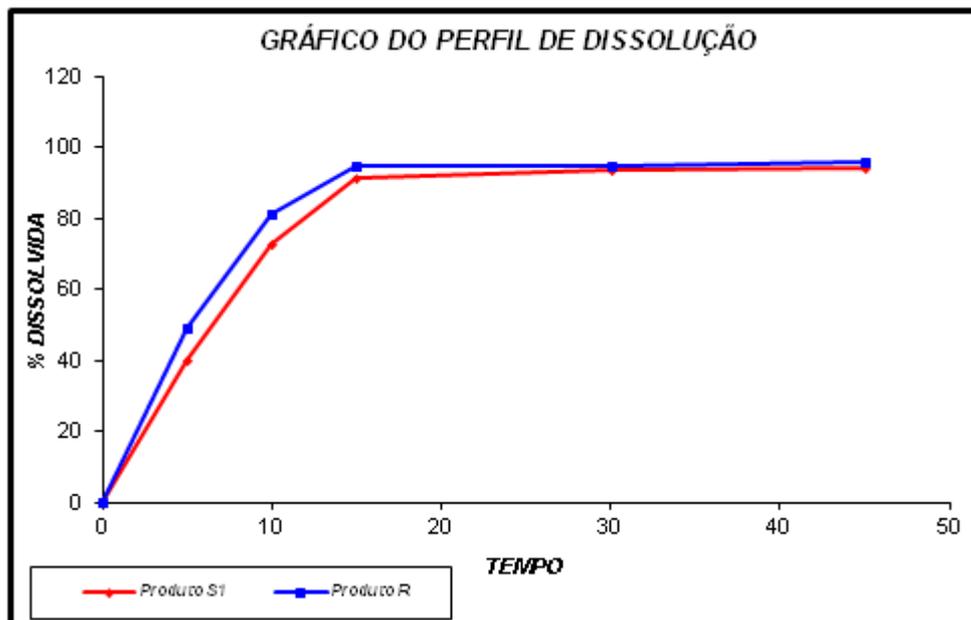


Figura 19 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto S1. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades

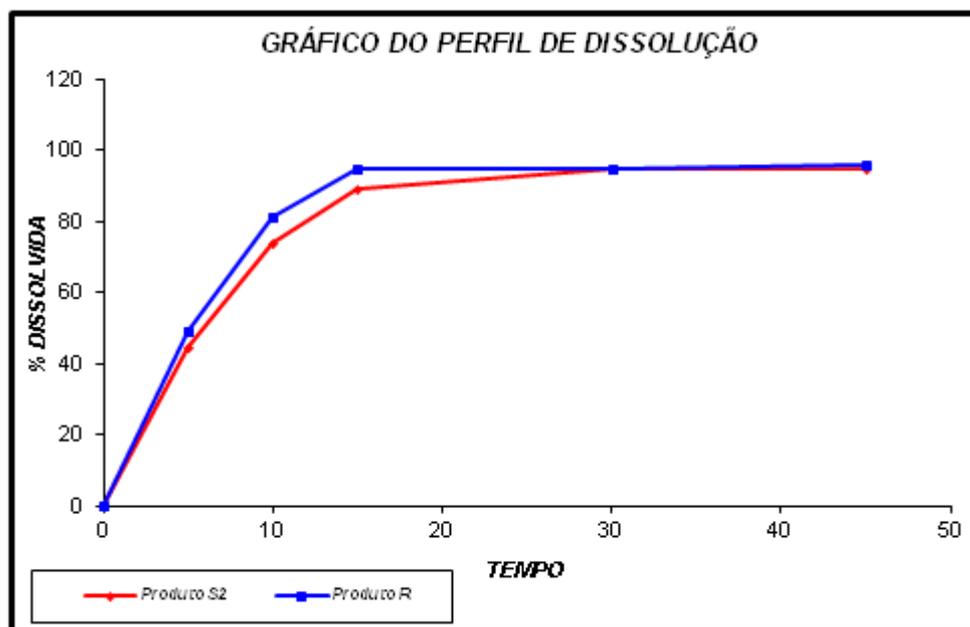


Figura 20 - Perfil de dissolução do Produto R e Produto S2. Dados expressos como média dos resultados obtidos em 12 unidades

Dentre os 5 medicamentos analisados, o produto G2 foi o único que não obteve mais de 75% de dissolução nos 15 minutos iniciais de coleta. As diferenças observadas entre os produtos R e G2 poderiam acarretar problemas na biodisponibilidade deles. Segundo Amidon e colaboradores (1995), produtos contendo fármacos com alta solubilidade e baixa permeabilidade, como é o caso do cloridrato de metformina podem ser considerados equivalentes desde que apresentem dissolução de 85% do fármaco em menos de 15 minutos. Neste estudo apenas o produto G2 não cumpriu com essa especificação. No entanto, a existência ou não da bioequivalência entre os produtos só poderia ser confirmada após realização de estudo *in vivo-in vitro* estabelecida para as formas avaliadas (51).

O produto G2 foi o único medicamento que possibilitou utilizar os fatores de diferença ( $f_1$ ) e semelhança ( $f_2$ ) para comparação com o produto R, onde o  $f_1$  indica a porcentagem de diferença entre os dois perfis de dissolução sendo calculado de acordo com a equação 8.

Equação 8

$$f_1 = \{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|] / [\sum_{t=1}^n R_t]\} * 100$$

Onde: n = número do tempo; R<sub>t</sub> = valor de referência da dissolução do grupo de tempo t; T<sub>t</sub> = valor do teste de dissolução do grupo de tempo t.

Já o f<sub>2</sub> indica a média da similaridade da porcentagem de dissolução entre os dois perfis. É calculado de acordo com a equação 9.

#### Equação 9

$$f_2 = 50 * \log \{[(1+1/n)\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0,5} * 100\}$$

Onde: n = número do tempo; R<sub>t</sub> = valor de referência da dissolução do grupo de tempo t; T<sub>t</sub> = valor do teste de dissolução do grupo de tempo t.

A semelhança ou equivalência de dois perfis é observada quando os valores de f<sub>1</sub> se apresentarem entre 0 e 15 e os de f<sub>2</sub>, entre 50 e 100 (43).

Os resultados obtidos indicaram diferenças entre os produtos G2 e o produto R (f<sub>1</sub> – 23,03; f<sub>2</sub> – 24,61).

Os medicamentos analisados R, G1, S1 e S2, obtiveram um perfil de rápida dissolução, onde mais que 85% do fármaco já se encontrava dissolvido nos 15 primeiros minutos de coleta. Os perfis de dissolução obtidos demonstraram que os produtos R, G1, G2, S1 e S2 atenderam ao especificado pela Farmacopeia Brasileira (2010), onde o preconizado é a obtenção de 75% do fármaco dissolvido em até 45 minutos.

A partir dos perfis de dissolução, o parâmetro de eficiência de dissolução nos tempos de 15, 30 e 45 minutos foram calculados e submetidos à análise de variância One-Way ANOVA, com a finalidade de verificar se há diferença entre as médias da eficiência de dissolução dos produtos. Após o teste ANOVA, foi aplicado o teste de Tukey, a fim de determinar as diferenças entre os produtos sendo os resultados apresentados nas tabelas 24, 25 e 26.

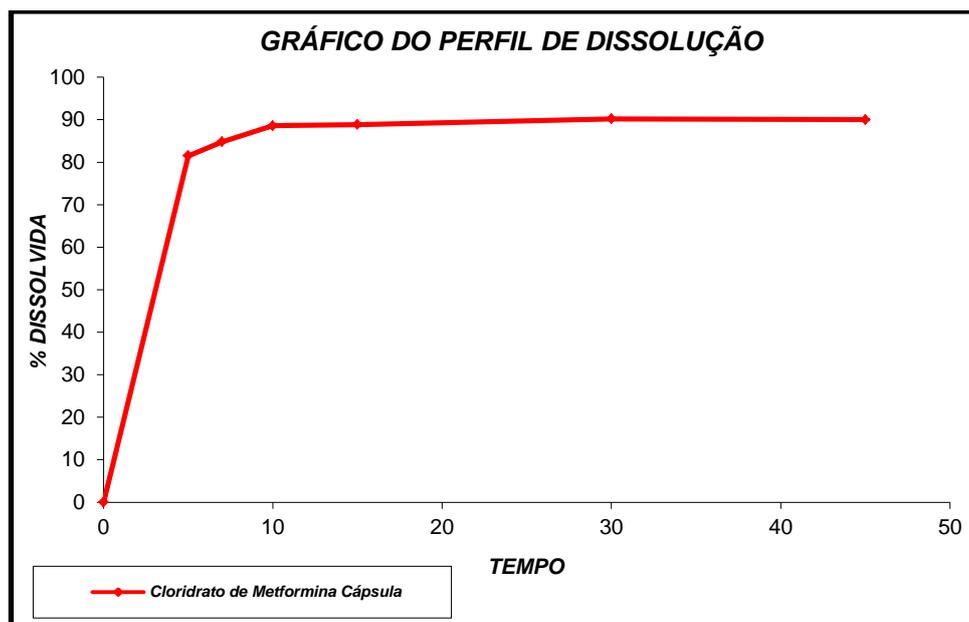


Figura 21 - Perfil de dissolução para Cápsula de cloridrato de metformina 850 mg

A liberação inicial obtida para as cápsulas magistrais ocorreu de forma mais rápida em relação aos produtos industrializados. Uma possível explicação para tal fato pode estar relacionado a natureza dos excipientes e processos técnicos de enchimento das cápsulas. De maneira geral, as indústrias, além de seguirem procedimentos operacionais padrão para manter a qualidade e resultados esperados, empregam inúmeras técnicas de fabricação no processo, enquanto que nas farmácias magistrais o enchimento das cápsulas é feito apenas por espalhamento manual dos pós em tabuleiros de encapsular, o que pode resultar em maior variação de peso e teor. Os resultados obtidos atendem as especificações farmacopeicas (57), estando o produto em acordo quando se trata de ensaio de dissolução preconizado na Farmacopéia Brasileira.

A Figura 22 demonstra a ED% em 15 minutos, referente aos perfis de dissolução dos comprimidos de cloridrato de metformina. Através da análise dos dados, foi possível identificar que para o grupo representado pelo produto R, S2 e G1 a ED% não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, assim como o grupo do produto S1 e S2 não apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey (Tabela 24). O produto G2 foi o único a apresentar ED% diferente de todos os outros produtos analisados.

Tabela 24 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 15 minutos

Produto	ED%
R	66,72 ± 0,83 <sup>(a)</sup>
S1	63,42 ± 1,02 <sup>(b)</sup>
S2	65,82 ± 4,00 <sup>(a)(b)</sup>
G1	66,18 ± 1,26 <sup>(a)</sup>
G2	55,77 ± 2,72 <sup>(c)</sup>

Os valores representam a média ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente.

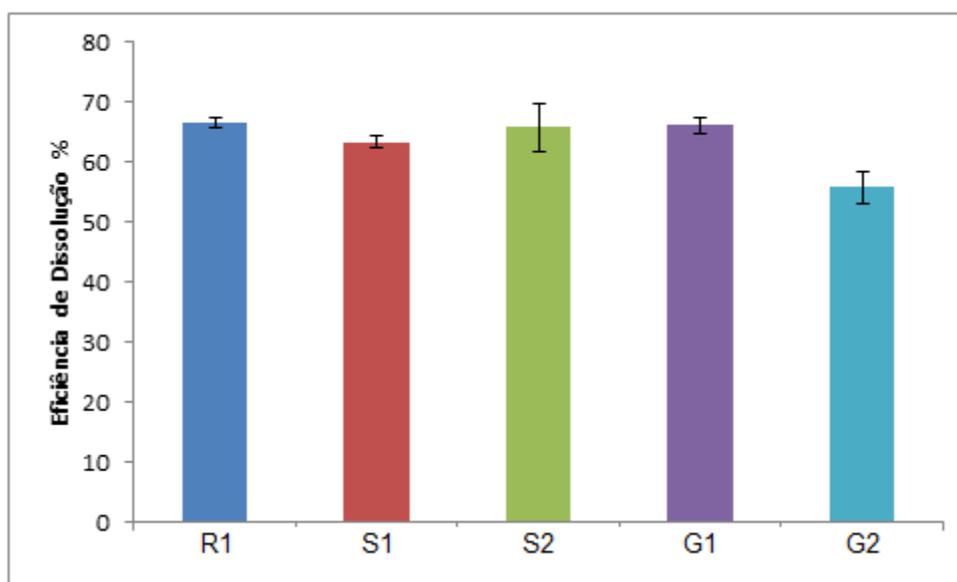


Figura 22 - ED % em 15 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades

Já a Figura 23 demonstra a ED% em 30 minutos, referente aos perfis de dissolução dos comprimidos de cloridrato de metformina analisados. Através da análise dos dados, foi possível identificar que para os produtos R e G1 a ED% não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey (Tabela 25), assim como para o grupo S1 e S2. O Produto G2 foi o único a apresentar estatisticamente diferente para todos os grupos como demonstrado na Tabela 25.

Tabela 25 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 30 minutos

Produto	ED%
R	80,32 ± 0,59 <sup>(a)</sup>
S1	77,21 ± 0,60 <sup>(b)</sup>
S2	76,88 ± 2,29 <sup>(b)</sup>
G1	80,05 ± 1,40 <sup>(a)</sup>
G2	61,83 ± 0,86 <sup>(c)</sup>

Os valores representam a média ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente.

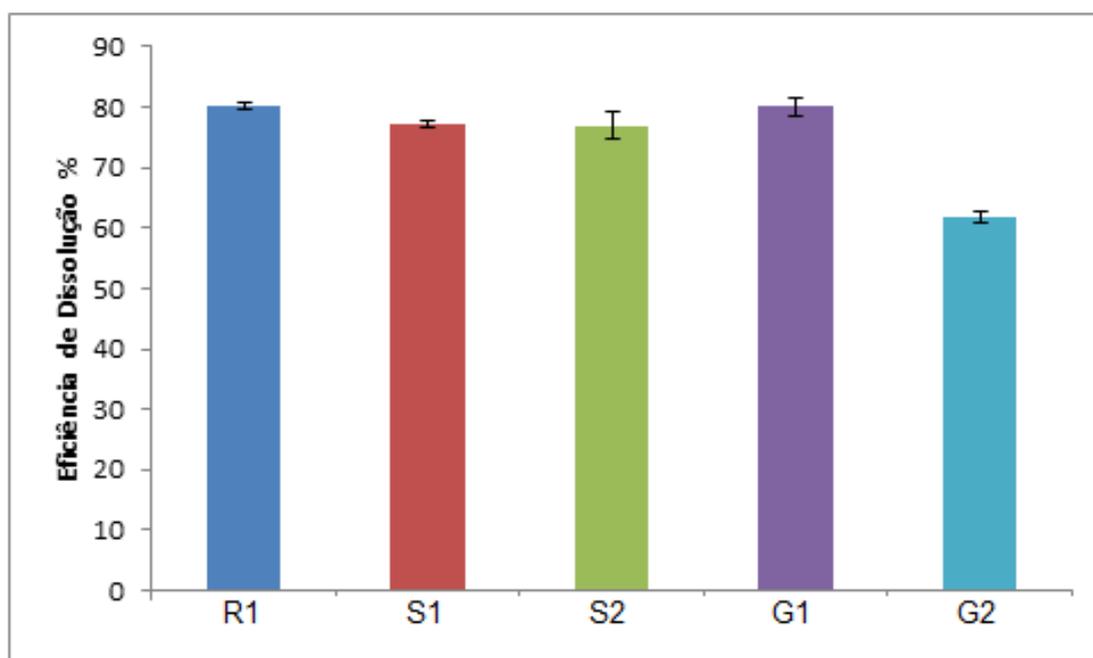


Figura 23 – ED % em 30 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades

A Figura 24 demonstra a ED% em 45 minutos, referente aos perfis de dissolução dos comprimidos de cloridrato de metformina analisados, podendo-se observar

(Tabela 26) que as diferenças estatísticas se mantiveram as mesmas que a obtida para ED% nos 30 minutos.

Tabela 26 - Eficiência de Dissolução em porcentagem dos comprimidos de cloridrato de metformina em 45 minutos

Produto	ED %
R	84,28 ± 0,95 <sup>(a)</sup>
S1	82,43 ± 0,83 <sup>(b)</sup>
S2	82,32 ± 2,42 <sup>(b)</sup>
G1	84,50 ± 1,30 <sup>(a)</sup>
G2	71,60 ± 0,82 <sup>(c)</sup>

Os valores representam a média ± desvio padrão. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente.

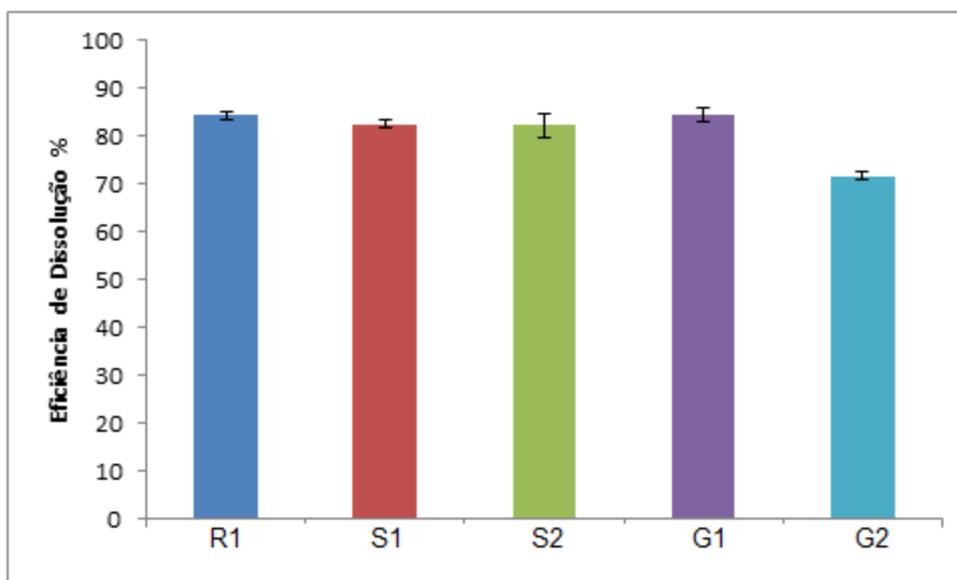


Figura 24 – ED % em 45 minutos. Dados expressos como média e desvio padrão dos resultados obtidos para dissolução das 12 unidades

Os resultados da ED% demonstraram que, para o produto G2, a área relativa à amostra foi significativamente menor que as áreas referentes às amostras dos

outros medicamentos estudados nos tempos de 15, 30 e 45 minutos. Tal resultado demonstrou que a quantidade de fármaco dissolvida no meio para esse produto está abaixo do especificado pela Farmacopeia Brasileira (2010) para o ensaio de dissolução, resultado este que pode resultar em uma ineficácia terapêutica. Uma vez que a concentração adequada, do princípio ativo, preconizada pela Farmacopeia Brasileira (2010) nos produtos analisados foi estabelecida por meio do método de doseamento, um dos possíveis fatores que podem levar a um comprometimento da dissolução poderia ser a formulação do produto. Os excipientes farmacêuticos, também denominados como adjuvantes, são substâncias adicionadas à formulação com o intuito de facilitar a preparação e a aceitabilidade por parte do paciente e assegurar o funcionamento da forma farmacêutica como um sistema de liberação do fármaco (31). Embora historicamente os excipientes tenham sido considerados inertes, já que não exercem uma ação terapêutica ou biológica ou de modificar a ação biológica do fármaco incorporado na forma farmacêutica, hoje são vistos como capazes de influenciar a velocidade e/ou a extensão da absorção de um fármaco (31).

Além dos perfis de dissolução e parâmetros de eficiência de dissolução, a determinação dos parâmetros cinéticos é importante, pois permite uma análise comparativa em relação ao comportamento *in vitro* dos produtos analisados.

Para o estudo da cinética do processo de dissolução, foram empregados os modelos matemáticos de ordem zero, primeira ordem e modelo de Higushi, com o objetivo de avaliar o mecanismo de liberação do fármaco. Através dos valores do coeficiente de correlação ( $r$ ) e os índices de significância ( $F$ ), obtidos na análise da regressão linear, o modelo cinético que melhor se adequa aos perfis de dissolução dos diferentes produtos estudados foram determinados (42, 73, 74).

Foi utilizado para o estudo da cinética do processo de dissolução o tempo de 15 minutos, exceto para o produto G2, que também foi analisado o tempo de 30 minutos devido ao perfil de liberação apresentado pelo produto. Esses pontos foram utilizados para a determinação do modelo mais adequado ao produto, pois são pontos anteriores a presença de um patamar nos perfis de dissolução, patamar esse que indica o término do processo de dissolução. Na tabela 27 são apresentados os

resultados obtidos para a melhor correlação entre os três modelos cinéticos estudados para o tempo de 15 minutos.

Tabela 27 - Matriz de correlação dos dados com as estimativas dos modelos Ordem Zero, Primeira Ordem e Higushi em 15 minutos

Modelo	Ordem Zero		Primeira Ordem		Higushi	
	r	F	r	F	r	F
R	0,966	640,446	0,981	1174,323	<b>0,998</b>	<b>9517,407</b>
S1	0,986	1629,379	0,979	1064,781	<b>0,995</b>	<b>4927,966</b>
S2	0,959	528,665	0,936	325,931	<b>0,993</b>	<b>3470,034</b>
G1	0,965	616,506	0,970	737,144	<b>0,991</b>	<b>2573,636</b>
G2	<b>0,990</b>	<b>2285,674</b>	0,967	653,656	0,968	710,114

O modelo considerado mais adequado no tempo de 15 minutos, ou seja, que apresentou melhor correlação (r) com alto grau de significância (F) após a linearização das curvas de dissolução, como destacado na tabela 27 foi o de ordem zero para o produto G2 e modelo de Higushi para os outros produtos estudados. Nas figuras 25, 26, 27, 28 e 29 estão as representações gráficas resultantes dos modelos cinéticos de cada produto.

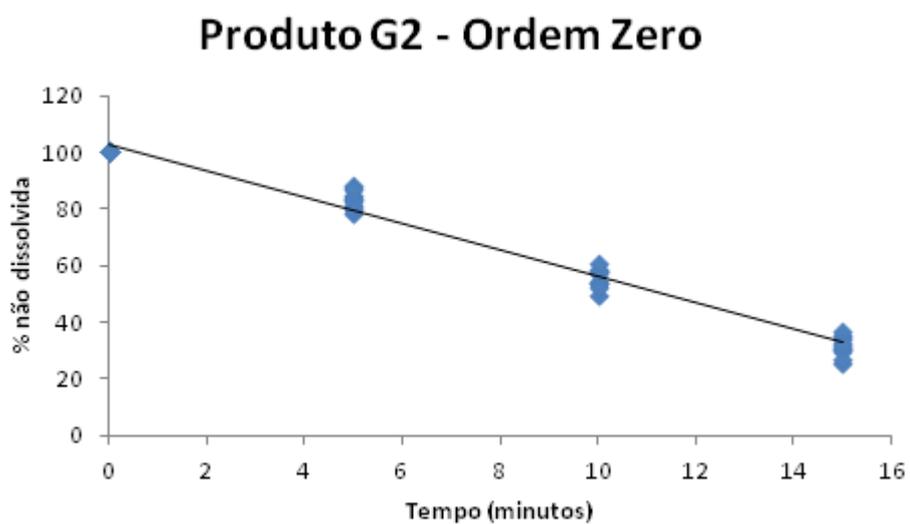


Figura 25 - Modelo cinético de ordem zero para o produto G2

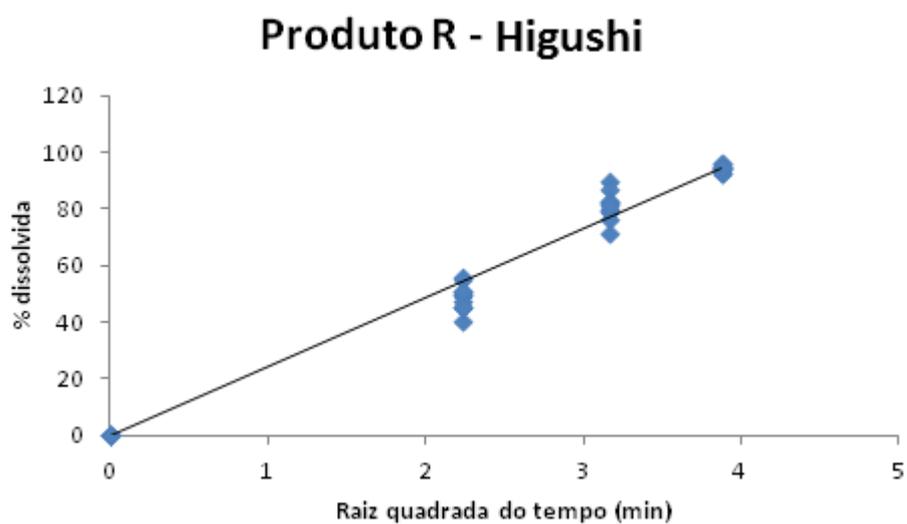


Figura 26 - Modelo cinético de Higushi para o produto R

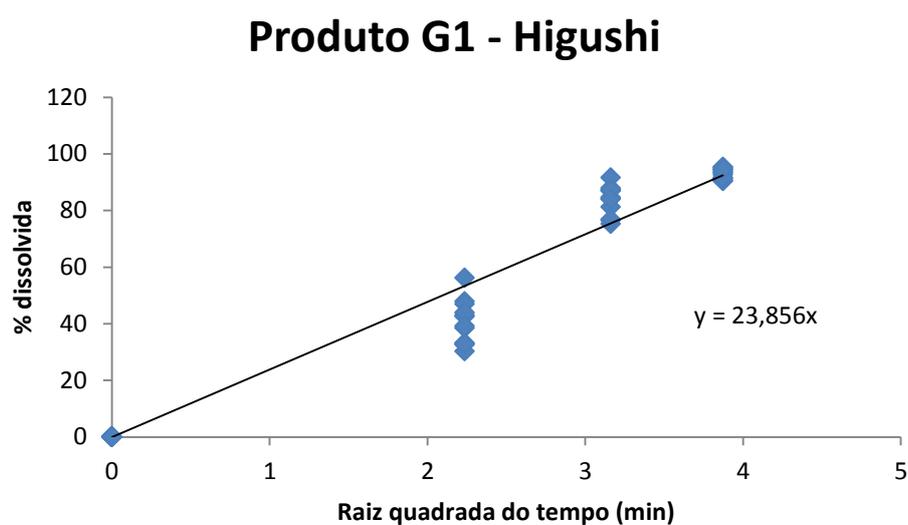


Figura 27 - Modelo cinético de Higushi para o produto G1

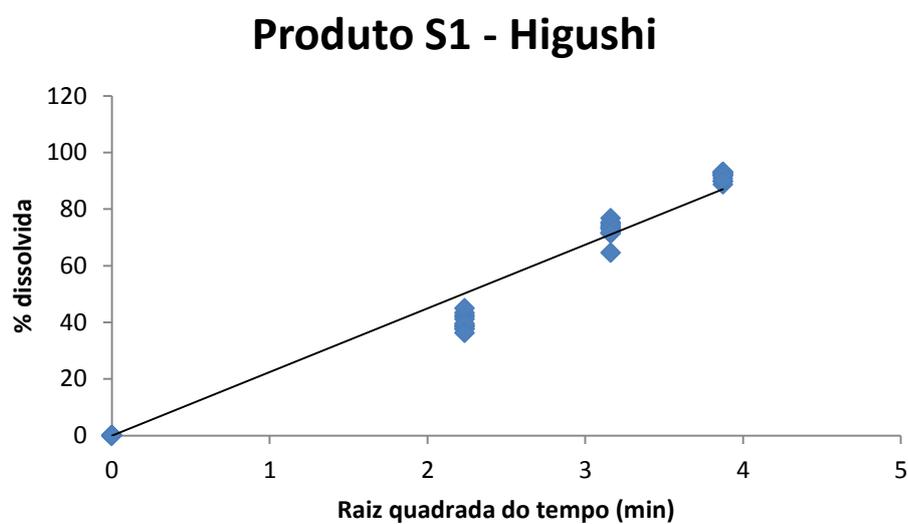


Figura 28 - Modelo cinético de Higushi para o produto S1

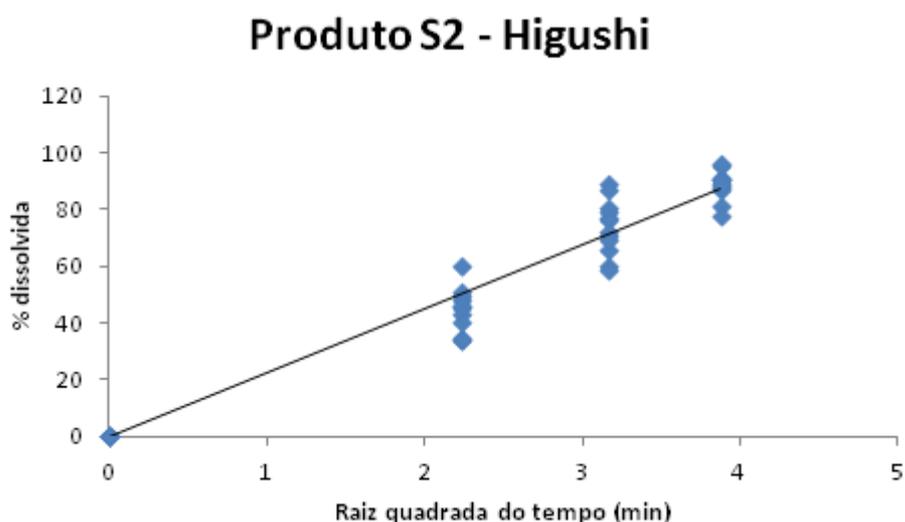


Figura 29 - Modelo cinético de Higushi para o produto S2

Já para o tempo de 30 minutos o modelo cinético mais adequado considerando a correlação ( $r$ ) e o grau de significância ( $F$ ), como destacado na tabela 28 foi o modelo de Higushi para todos os produtos estudados. Nas figuras 30, 31, 32, 33 e 34 estão as representações gráficas dos modelos cinéticos de cada produto.

Tabela 28 - Matriz de correlação dos dados com as estimativas dos modelos Ordem Zero, Primeira Ordem e Higushi em 30 minutos

Modelo	Ordem Zero		Primeira Ordem		Higushi	
	$r$	$F$	$r$	$F$	$r$	$F$
R	0,798	101,658	0,879	196,679	<b>0,984</b>	<b>1827,835</b>
S1	0,839	137,531	0,915	298,006	<b>0,988</b>	<b>2377,345</b>
S2	0,832	130,364	0,913	291,776	<b>0,987</b>	<b>2231,752</b>
G1	0,794	98,879	0,850	150,502	<b>0,980</b>	<b>1460,312</b>
G2	0,965	791,975	0,981	1519,179	<b>0,983</b>	<b>1716,688</b>

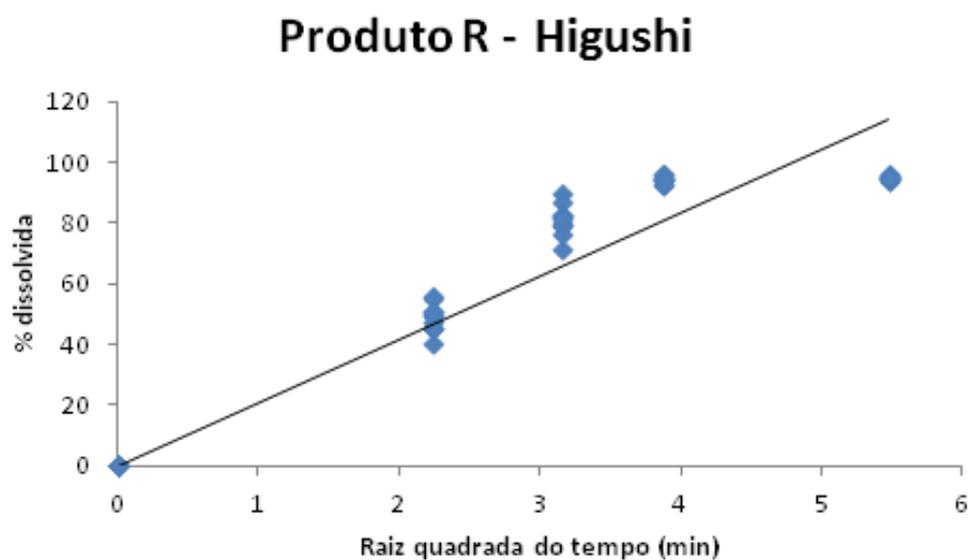


Figura 30 - Modelo cinético de Higushi para o produto R

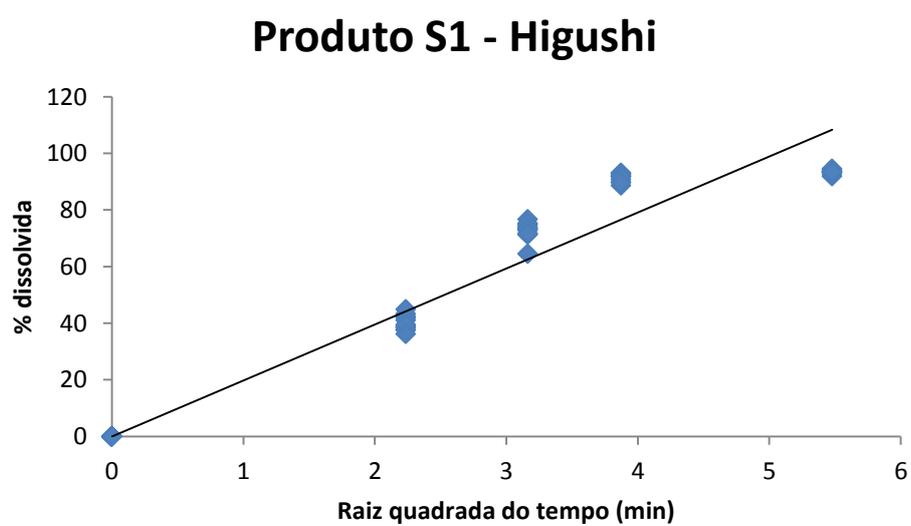


Figura 31 - Modelo cinético de Higushi para o produto S1

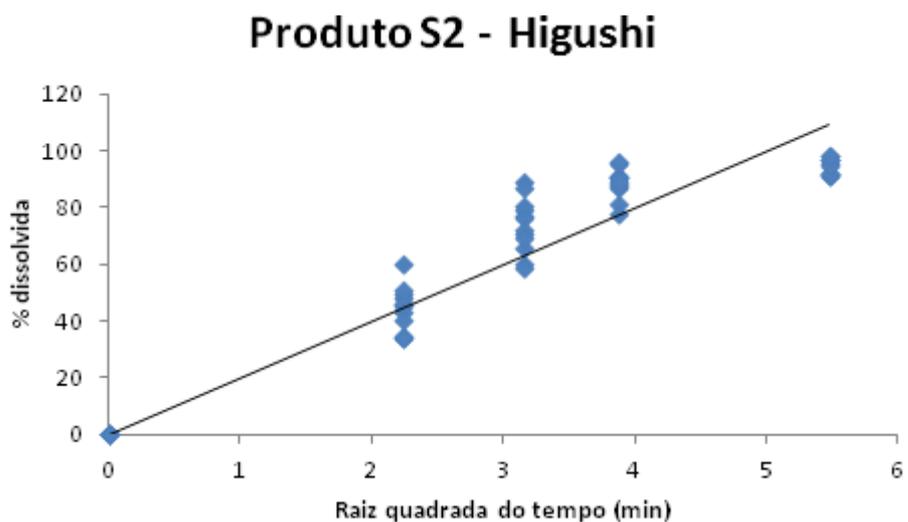


Figura 32 - Modelo cinético de Higushi para o produto S2

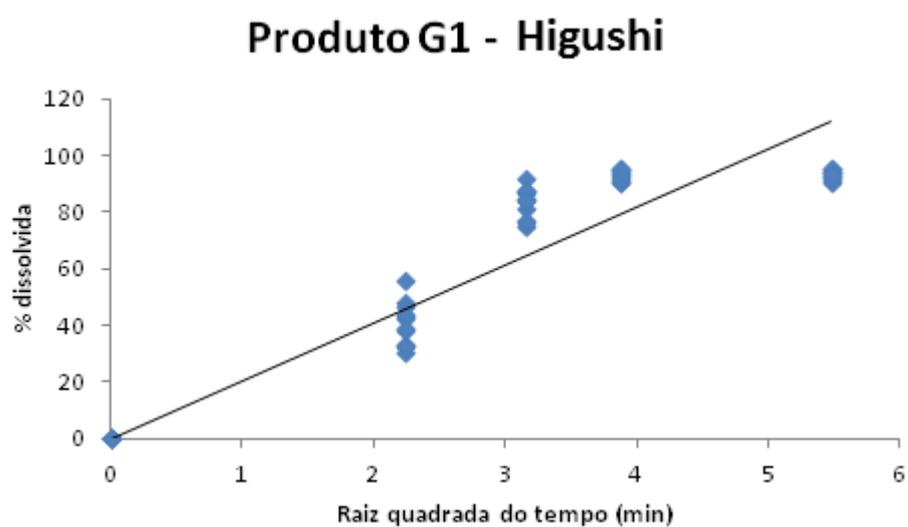


Figura 33 - Modelo cinético de Higushi para o produto G1

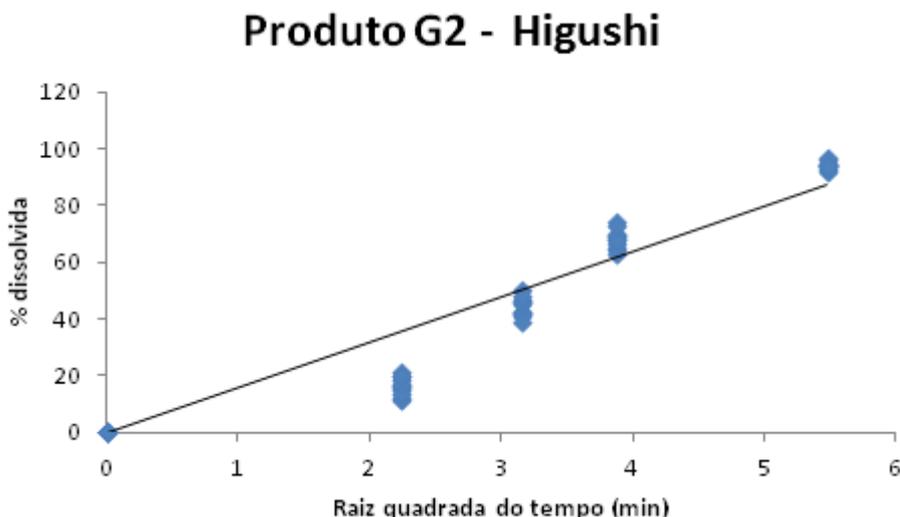


Figura 34 - Modelo cinético de Higushi para o produto G2

Apesar de todos os produtos analisados cumprirem com as especificações de qualidade da Farmacopeia Brasileira (2010), os resultados obtidos demonstram que diferentes métodos de comparação de perfis de dissolução podem originar diferentes resultados.

Observou-se que o perfil, cinética e eficiência de dissolução do produto G2 apresentou comportamento diferenciado dos demais produtos estudados e, portanto torna-se necessário a realização de estudo *in vivo* para obtenção de resultados mais conclusivos para os produtos em estudo.

De acordo com Yuksel e colaboradores (2000), os métodos baseados na análise de variância (ANOVA) e modelo dependente são mais discriminativos do que métodos modelo independente ( $f1$  e  $f2$ ), uma vez que fornecem uma abordagem mais aceitável para a relação entre as variáveis dependentes e independentes (73). Com isso, o uso de diferentes metodologias de comparação para estudos de dissolução podem fornecer informações mais precisas sobre o perfil de dissolução de diferentes formulações auxiliando no desenvolvimento e/ou melhoramento das mesmas (75).

## 6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados foi possível concluir que a validação dos métodos de quantificação e dissolução para cápsulas de cloridrato de metformina 850 mg, obedeceu ao preconizado pela resolução atualmente em vigor da ANVISA, RE 899. Nas condições descritas, o método de análise espectrofotométrico UV/Visível para quantificação do cloridrato de metformina se mostrou de acordo com os parâmetros de validação da referida resolução e da USP 35-NF 30, o mesmo ocorrendo com o ensaio de dissolução.

Os métodos validados para quantificação e ensaio de dissolução de cápsulas de cloridrato de metformina 850 mg demonstraram especificidade, linearidade, precisão, exatidão e estabilidade, podendo ser utilizados de modo seguro e confiável para controle de qualidade na rotina de farmácias de manipulação, assim como na indústria farmacêutica caso venha a fabricar esse tipo de apresentação.

Os ensaios físicos e físico-químicos realizados nas apresentações de comprimidos e cápsulas do cloridrato de metformina 850 mg mostram-se enquadrados dentro dos limites aceitáveis estabelecidos pelos compêndios oficiais, sendo todos considerados aprovados.

A dissolução dos medicamentos na forma farmacêutica comprimidos de cloridrato de metformina 850 mg seguiu o modelo cinético de Higushi. Apenas, a apresentação G2 no tempo de 15 minutos seguiu o modelo de ordem zero.

Quanto à eficiência de dissolução, verificou-se que os produtos R e G1 não apresentaram diferença entre as médias da eficiência de dissolução assim como entre os produtos S1 e S2 considerando o tempo de 45 minutos dos perfis de dissolução. A eficiência de dissolução do produto G2 apresentou diferença em todos os tempos analisados e para todas as formulações testadas.

Os fatores  $f_1$  e  $f_2$  foram calculados e não demonstraram similaridade entre os produtos R e G2. Portanto o produto G2 não pode ser considerado equivalente farmacêutico em relação ao produto R.

Para conclusões definitivas sobre a biodisponibilidade e bioequivalência desses produtos faz-se necessário à realização de estudos *in vivo*, como complementação do obtido nos estudos *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

1. Mahle F, Goelzer F, Adriano J, Felipe M, Vier N, Carli RBG, et al. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2007;28(3):265-71.
2. Brasil. Resolução RDC Nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Brasília: ANVISA; 2010.
3. Stenger FC. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE indicativa de estabilidade do cloridrato de metformina em comprimidos e estudo de citotoxicidade dos produtos de degradação [Dissertação]. Santa Catarina: Universidade do vale de Itajaí; 2011.
4. Sociedade Brasileira de Diabetes. Tratamento e acompanhamento do Diabetes Mellitus. [internet]. Brasil,2006. [Acessado em:26/09/2012]. [Disponível em: [www.diabetes.org.br/educacao/docs/diretrizes.pdf](http://www.diabetes.org.br/educacao/docs/diretrizes.pdf)].
5. Pinho JJRG, Storpirtis S. Estudo comparativo “in vitro” das propriedades biofarmacotécnicas de comprimidos de cloridrato de metformina comercializados no Brasil. . *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2001;37(1):95-105.
6. Brasil. Farmacopeia Brasileira, volume 1 5ª ed. Brasília: ANVISA/FIOCRUZ; 2010. 548 p.
7. ANVISA. Lista de medicamentos de referência. [internet]. Brasil,2009. [Acessado em: 20/09/2012]. [Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/index.htm>].
8. Bernardes MLP, Mueller A, Gebara KS. Desenvolvimento e controle de qualidade de cápsulas contendo captopril 25 mg. *Interbio*. 2010;4(1):15-21.
9. Ansel HC, Popovich NG, JR LVA. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 6ª ed. São Paulo: Premier; 2000. 568 p.
10. Couto AG, Tavares RC. Análise do perfil dos resultados de uniformidade de conteúdo de cápsulas de baixa dosagem produzidas em farmácias de manipulação de Santa Catarina. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2011;32(1):263-8.
11. Brasil. Resolução RDC Nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para uso Humano em Farmácias. Brasília: ANVISA; 2007.
12. Shargel L, Yu ABC. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 4ª ed. Stamford: Appleton & Lange; 1999. 768 p.

13. World Health Organization (WHO). Marketing authorization of pharmaceutical products with special reference to multisource (generic) products: a manual for a drug regulatory authority. Geneva: WHO; 1999.
14. Brasil. Resolução RDC nº 135 de 29 de maio de 2003. Regulamento técnico para medicamentos genéricos. Brasília: ANVISA; 2003.
15. Marzo A, Balant LP. Bioequivalence: an updated reappraisal addressed to applications of interchangeable multi-source pharmaceutical products. *Forschung/Drug Research*. 1995;45(2):109-15.
16. Meredith PA. Generic drugs: therapeutic equivalence. *Drug Safety, Auckland*. 1996;15(4):233-42.
17. World Health Organization (WHO). Expert Committee on Specification for Pharmaceutical Preparation. Geneva: WHO; 1996.
18. Benet LZ. Understanding bioequivalence testing. *Transplantation Proceedings, New York*. 1999;31(3):75-95.
19. Marzo A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharmaceutical Research New York*. 1999;40(4):357-68.
20. Meyer GF. History and regulatory issues of generic drugs. *Transplantation Proceedings New York*. 1999;31(3A):105-25.
21. Storpirtis S, Oliveira PG, Rodrigues D, Maranhão D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 1999;35(1):1-16.
22. Dighe SV. A review of the safety of generic drugs. *Transplantation Proceedings, New York*. 1999;31(3A):235-45.
23. Gibaldi M. *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*. 4ª ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. 406 p.
24. Abdou HM. *Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence*. Easton: Mack Publishing Company; 1989. 554 p.
25. Arancibia A. *Calidad biofarmacéutica. Estudios in vitro y in vivo*. Acta Farmacéutica Bonaerense, Buenos Aires. 1991;10(2):123-33.
26. Banakar UK. *Pharmaceutical Dissolution Testing*. New York: Marcel Dekker; 1992. 437 p.
27. Melo EB, Minneto A, Violin I, Braga RS, Andrade E, Mariot S, et al. Medicamentos similares e saúde pública: Controle de qualidade físico-químico de comprimidos de similar de ácido acetilsalicílico do estoque da farmácia básica do

município de Cascavel, PR, Brasil. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, Buenos Aires. 2006;25(3):344-50.

28. Brasil. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília: ANVISA; 2003.

29. Marcolongo R. Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003.

30. Jr LVA, Poppovick NG, Ansel HC. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2007. 776 p.

31. Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. 677 p.

32. Colo GD, Falchi S, Zambito Y. In vitro evaluation of a system for pH controlled peroral delivery of metformin. *Journal of Controlled Release*. 2002;80(1-3):119-28.

33. Rama ACR, Veiga F, Figueiredo IV, Sousa A, Caramona M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil-beta-ciclodextrina: estudos de dissolução e coeficiente de partição. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2006;42(1).

34. Souza J, Freitas ZMF, Storpirtis S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. 2007;43(4).

35. Tong C, Souza SSD, Parker JE, Mirza TE. Dissolution Testing for the Twenty-first Century: Linking Critical Quality Attributes and Critical Process Parameters to Clinically Relevant Dissolution. *Pharmaceutical Research*. 2007;24(9):1603-7.

36. Ansari M, Kazemipour M, Talebnia J. The development and validation of dissolution method for clomipramine solid dosage form. *Dissolution technologies*. 2004;11:16-24.

37. Dickinson PA, Lee WW, Stott PW. Clinical Relevance of Dissolution Testing in Quality by Design. *The AAPS Journal*. 2008;10(2).

38. Jivraj M, Martini LG, Thomson CM. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science and Technology Today*. 2000;3(2):58-63.

39. Peña CMG, León R, Román GB, Espinosa VM. Evaluación Comparativa de la Liberación in vitro de una Formulación de Metformina 500 mg producida en Cuba contra Glucophage®. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2009;28(4):585-8.

40. Khan MZI. Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with in vivo data: challenges and opportunities. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam. 1996;140:131-43.

41. Dressman JJ, Kramer J. *Pharmaceutical Dissolution Testing*. 1<sup>a</sup> ed. United States of America: Informa Healthcare; 2005. 429 p.
42. Dokoumetzidis A, Macheras P. A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;321(1-2):1-11.
43. Estados Unidos da América. *Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*. Estados Unidos da América: FDA; 1997.
44. Brasil. Resolução RE n° 901, de 29 de maio de 2003. Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata. Brasil: ANVISA; 2003.
45. Bai G, Wang Y, Armenante PM. Velocity profiles and shear strain rate variability in the USP Dissolution Testing Apparatus 2 at different impeller agitation speeds. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011(403):1-14.
46. Manadas R, Pina ME, Veiga FA. Dissolução in vitro na previsão da absorção oral de formas farmacêuticas de liberação modificada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2002;38:375-99.
47. Brasil. Recomendações para realização de ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata. Brasil: ANVISA; 20??
48. Lima DM, Santos LD, Lima EM. Stability and in vitro release profile of enalapril maleate from different commercially available tablets: Possible therapeutic implications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008;47:934-7.
49. Marques MRC. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. *Revista Analytica*. 2002;1:48-51.
50. Wang Q, Fotaki N, Mao Y. Biorelevant Dissolution: Methodology and Application in Drug Development. *Dissolution Technologies*. 2009;8(28).
51. Linsbinski LM, Musis CR, Machado SRP. Avaliação da equivalência farmacêutica de comprimidos de captopril. *Revista Brasileira de Farmácia*. 2008;89(3):214-9.
52. Storpirtis S, Marcolongo R, Gasparotto FS, Vilanova CM. A Equivalencia farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: Bases técnicas e científicas. *Infarma*. 2004;16(9):9-10.
53. Anderson NH, Bauer M, Boussac N, Khan-Malek R, Munden P, Sardaro M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1998;17:811-22.
54. Costa P, Lobo JMS. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001;13:123-33.

55. Serra CHR, Storpirtis S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2007;43(1):79-88.
56. Pharmacopeia US. The dissolution procedure: development and validation <1092>. In: *Convention USP*, editor. United States of America: Rockville; 2012. p. 675.
57. Brasil. *Farmacopeia Brasileira Volume 2*. 5ª ed. Brasília: ANVISA/FIOCRUZ; 2010. 808 p.
58. Rowe RC. *Handbook of pharmaceutical Excipients*. 6ª ed: Pharmaceutical Press; 2009. 888 p.
59. Khan KA. Concept of dissolution efficiency. *Journal of pharmaceutical Pharmacology*. 1975;27:48-9.
60. Downing D, Clark J. *Estatística Aplicada*. 2ª ed. Brasil: Saraiva; 2006. 351 p.
61. Alizadeh A, Khodaei MM, Kordestani D, et al. The successful synthesis of biguanide-functionalized mesoporous silica catalysts: Excellent reactivity combined with facile catalyst recyclability. *Microp Mesop Mat*. 2012;159:9-16.
62. Renganayaki V, Srinivasan S. Computations and Spectroscopic Study of the Vibrational and Thermodynamic Properties of Metformin. *International Journal of PharmTech Research* 2011;3:1350-8.
63. Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments*. 7ª ed. New York: John Wiley & Sons; 2008. 680 p.
64. Neto BB, Scarminio IS, Bruns RE. *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. 4ª ed. Porto Alegre: Bookman; 2010. 412 p.
65. Castro IM, Anjos MR. Determinação de isotiocianato de benzila em Carica papaya utilizando cromatografia gasosa com detectores seletivos. *Química Nova*. 2008;31(8):1953-9.
66. Rozet E, Ziemons E, Marini RD, Boulanger B, Hubert PH. Validation of analytical methods involved in dissolution assays: Acceptance limits and decision methodologies. *Analytica Chimica Acta* 2012;751:44-51.
67. Pharmacopeia US. *USP 35 - NF 30*. United States of American. 2012.
68. Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. *Teoria e Prática na indústria farmacêutica*. 1ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001. 1517 p.
69. Peixoto MM, Junior AFS, Santos CAA, Junior EC. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em feira de santana - BA. *Infarma*. 2005;16:13-4.

70. Ofoefule SI, Udeogaranya PO, Okonta JM. Prediction of in vivo bioavailability of six brands of ciprofloxacin film coated tablets using the concept dissolution efficiency (DE). *Bollettino chimico farmaceutico*. 2001;140(3):187-91.
71. Skoug JW, Halstead GW, Thies DL, Freeman JE, Fagam DT, Rohrs BR. Roteiro para o desenvolvimento e validação do teste de dissolução em formas farmacêuticas sólidas para uso oral. *Pharmaceutical Technology*. 1997;1:34-43.
72. Farinha A, Pais JP, Bica A. O ensaio de dissolução in vitro na avaliação da qualidade biofarmacêutica LEF - Boletim. 1997;4(15):1-7.
73. Yuksel N, Kanik AE, Baykara T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model dependent and –independent methods. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000;209:57-67.
74. Bravo SA, Lamas MC, Salomon CL. Swellable matrices for the controlled-release of diclofenac sodium: formulation and in vitro studies. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2004;9(1):75-83.
75. Zongming G. Mathematical Modeling of Variables Involved in Dissolution Testing. *Journal of Pharmaceutical Science*. 2011;100(11).