



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CAMPUS MACAÉ**  
**CURSO DE FARMÁCIA**



**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO  
DE COMPRIMIDOS DE CLORIDRATO DE VERAPAMIL**

Adriano Yuuki Sano

**Macaé**  
**Novembro de 2016**

**Adriano Yuuki Sano**

**Título:** Avaliação da qualidade e perfil de dissolução comparativo de comprimidos de cloridrato verapamil

Tese de Conclusão de Curso apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como um dos requisitos para obtenção do título de farmacêutico.

**Orientador:** Thiago Barth

**Co-orientador:** Vitor Todeschini

**Macaé**

**Novembro de 2016**

## **Agradecimentos**

Quero agradecer a Deus, pela saúde e força durante toda esta longa caminhada;

aos meus pais, que não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida;

à esta universidade e seu corpo docente por me proporcionarem todo o conhecimento e experiências que tornaram a conclusão deste trabalho possível;

aos meus orientadores, Thiago Barth e Vítor Todeschini pelo suporte e dedicação que me proporcionaram assim como pela confiança que depositaram em mim;

à aluna Brenda Rocha e à Anna Karolina Mouzer, farmacêutica do laboratório de controle de qualidade de medicamentos, que me auxiliaram durante a realização dos ensaios;

ao professor José Nepomuceno, que me introduziu ao meio científico e proporcionando meu primeiro projeto de pesquisa;

aos meus colegas de turma que se tornaram minha segunda família em Macaé;

e finalmente, à FAPERJ e CAPES, por tornarem a realização deste projeto possível.

## Figuras

<b>Figura 1.</b> Gráfico da concentração plasmática de um fármaco versus o tempo, evidenciando os parâmetros farmacocinéticos ( $C_{m\acute{a}x}$ , $T_{m\acute{a}x}$ , ASC e $T_{1/2}$ ) (BONAMICI, 2009). .....	4
<b>Figura 2.</b> Esquema ilustrando o mecanismo de ação do verapamil na musculatura cardíaca (VOGELPOEL <i>et al.</i> , 2004).....	8
<b>Figura 3.</b> Verapamil em sua forma ionizada (VOGELPOEL, <i>et al.</i> , 2004). .....	9
<b>Figura 4.</b> Isômeros R e S do verapamil (VOGELPOEL <i>et al.</i> , 2004). .....	10
<b>Figura 5.</b> Reação do metabolismo do verapamil, formação do nor-verapamil por N-dealquilação. ....	10
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática do CLAE e os parâmetros utilizados. ....	18
<b>Figura 7.</b> Representação esquemática do preparo das soluções das amostras e padrão para análise em CLAE. ....	19
<b>Figura 8.</b> Esquema para realização das reações de identificação.....	20
<b>Figura 9.</b> Esquema para o preparo da solução padrão e amostras para identificação por espectrofotometria no UV.....	21
<b>Figura 10.</b> Representação esquemática do teste de dureza. ....	22
<b>Figura 11.</b> Representação esquemática do teste de dissolução com os parâmetros utilizados. ....	27
<b>Figura 12.</b> Esquema para o preparo das soluções padrão para construção da curva de calibração. ....	29
<b>Figura 13.</b> Cromatograma representativo da análise de cloridrato de verapamil em comprimidos revestidos e seus respectivos tempos de retenção.....	31
<b>Figura 14.</b> (A): Extrato aquoso antes da adição dos reagentes. (B): Solução após a adição de cloreto de mercúrio II 5%. (C): Solução após adição de ácido sulfúrico 3M e permanganato de potássio a 1%(p/v).....	32
<b>Figura 15.</b> Comparação de espectros de UV do padrão de verapamil, a das amostras na concentração teórica de 70 µg/mL.....	33
<b>Figura 16.</b> Gráficos com os pesos de cada comprimido do medicamento de referência, genérico A e genérico B, utilizado no teste de peso médio, apresentando também os limites de variação superior e inferior tolerados.....	35
<b>Figura 17.</b> Cestas do desintegrador após 30 min de ensaio .....	37

<b>Figura 18.</b> Gráfico do perfil de dissolução comparativo das três amostras de medicamento.....	44
<b>Figura 19.</b> Gráfico do perfil de dissolução de comprimidos referência de cloridrato de verapamil em diferentes meios.....	47

## **Tabelas**

<b>Tabela 1.</b> Solubilidade do verapamil em sua forma neutra em soluções aquosas com diferentes pHs (CHANG, 2007) .....	9
<b>Tabela 2.</b> Valores obtidos da pesagem individual dos comprimidos utilizados para a obtenção do peso médio. Encontra-se também os valores do peso médio de cada amostra, assim como o desvio padrão e o desvio padrão relativo. ....	34
<b>Tabela 3.</b> Valores obtidos de dureza de cada comprimido testado, juntamente com os valores de média, desvio padrão e desvio padrão relativo. ....	36
<b>Tabela 4.</b> Valores do peso de 20 comprimidos de cada amostra antes e depois do ensaio de friabilidade, assim como o valor da perda percentual de massa. ....	37
<b>Tabela 5.</b> Tempos observados para a desintegração dos seis comprimidos utilizados .....	38
<b>Tabela 6.</b> Valores obtidos de teor individual (cada comprimido) pelo método de uniformidade de conteúdo, com valores de média, desvio padrão e desvio padrão relativo.....	39
<b>Tabela 7.</b> Valores das áreas dos picos obtidas de cada amostra, contendo o desvio padrão e seus respectivos teores médios.....	41
<b>Tabela 8.</b> Valores do desvio padrão, desvio padrão relativo e teor percentual obtido no doseamento por espectrofotometria em UV. ....	42
<b>Tabela 9.</b> Valores da média dissolvida após 30 min e seus respectivos coeficientes de variação.....	43
<b>Tabela 10.</b> Tabela comparativa dos métodos de dissolução utilizados por compêndios oficiais. ....	43
<b>Tabela 11.</b> Limites de variação especificados para cada ponto de coleta e seus respectivos valores obtidos para cada amostra. ....	45
<b>Tabela 12.</b> Valores do fator de diferença e fator de semelhança calculados. ....	45
<b>Tabela 13.</b> Componentes das formulações dos medicamentos analisados com suas respectivas funções (ROWE, <i>et al.</i> , 2009).....	46

## Lista de Abreviações

- SCB – Sistema de Classificação Biofarmacêutica
- RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
- RENAME – Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
- REMUME – Relação Municipal de Medicamentos Essenciais
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ASC – Área Sob a Curva
- $C_{máx}$  – Concentração Plasmática Máxima
- $T_{máx}$  – Tempo Para Atingir a Concentração Máxima
- $T_{1/2}$  – Tempo de Meia-vida
- FB 5 – Farmacopeia Brasileira, 5ª Edição de 2010
- CQ – Controle de Qualidade
- FF – Forma Farmacêutica
- UV – Ultravioleta
- IV – Infravermelho
- CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- F1 – Fator de Diferença
- F2 – Fator de Semelhança
- Fig. - Figura
- Eq. – Equivalente
- SQR – Substância Química de Referência
- SQT – Substância Química de Trabalho
- RPM – Rotações por Minuto

## Resumo

Para que um medicamento genérico ou similar seja lançado no mercado, devem ter sua segurança e eficácia assegurada por estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência. O verapamil é um fármaco empregado no tratamento de isquemias, hipertensão e arritmias e tem como mecanismo de ação o bloqueio de canais de cálcio dos músculos cardíacos e arteriais. Este fármaco foi selecionado por ser de uso contínuo e por ser um fármaco de classe 2 na classificação biofarmacêutica. O objetivo deste trabalho foi a avaliação da equivalência farmacêutica de comprimidos genéricos de verapamil produzidos por dois diferentes laboratórios. Foram realizados todos os testes de controle de qualidade físico-químico de comprimidos de verapamil descritos na Farmacopeia Brasileira, 5ª edição de 2010 (FB 5). Além disso, foi realizado perfil de dissolução comparativo, assim como descrito na RDC 31/10. As duas amostras de medicamentos genéricos e o medicamento de referência passaram em todos os testes descritos na FB 5. Os teores variaram de 97,3 a 105,5%. Os pesos médios variaram entre 279 e 348 mg, com um coeficiente de variação percentual, inferior a 10%. Apesar disso, um dos medicamentos genéricos não obteve perfil de dissolução equivalente ao medicamento de referência, obtendo um fator de semelhança de 18,69%, enquanto o mínimo exigido é de 50%. Quando comparado com o outro medicamento genérico, obteve-se um fator de semelhança ainda menor (15,24%). Apesar dos medicamentos terem sido aprovados pelos testes descritos na FB 5, um dos genéricos não obteve um perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência. Este resultado pode advertir limites de aceitação farmacopeicos brandos e/ou métodos de dissolução farmacopeicos pouco discriminativos, o que indica a necessidade do fortalecimento e a estruturação de políticas públicas visando a realização de análises fiscais.

**Palavras-chave:** Cloridrato de verapamil, Controle de qualidade, Equivalência farmacêutica, Perfil de dissolução





## Sumário

1.	Introdução .....	1
1.1.	Registro de Medicamentos Genéricos e Similares .....	1
1.2.	Biodisponibilidade e Bioequivalência .....	3
1.2.1.	Biodisponibilidade .....	3
1.2.2.	Bioequivalência .....	3
1.3.	Equivalência Farmacêutica .....	5
1.4.	Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisenções .....	7
1.5.	Verapamil.....	7
1.5.1.	Mecanismo de ação .....	7
1.5.2.	Propriedades Físico-químicas .....	8
2.	Justificativa.....	12
3.	Objetivos gerais e específicos.....	13
3.1	Geral .....	13
3.2	Específicos .....	13
4.	Materiais.....	14
4.1.	Substância Química de Trabalho.....	14
4.2.	Produtos Farmacêuticos .....	14
4.3.	Materiais de Consumo e vidrarias .....	14
4.4.	Equipamentos.....	15
5.	Métodos .....	16
5.1.	Preparo de Soluções .....	16
5.1.1.	Solução de HCl 0,01 M .....	16
5.1.2.	Solução de HCl 0,1 M .....	16
5.1.3.	Tampão Acetato 0,01 M.....	16
5.1.4.	Solução de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3 M.....	16
5.1.5.	Solução de HgCl <sub>2</sub> 5% (p/v).....	17
5.1.6.	Solução de KMnO <sub>4</sub> 1% (p/v) .....	17
5.1.7.	Tampão acetato 0,05 M (pH 4,5) .....	17
5.1.8.	Tampão fosfato 0,05 M (pH 6,8) .....	17
5.2.	Identificação.....	17
5.2.1.	Identificação pelo tempo de retenção.....	18
5.2.2.	Identificação por reações químicas .....	20
5.2.3.	Identificação por Espectrofotometria no UV .....	20
5.3.	Determinação de Peso .....	21
5.4.	Dureza .....	22
5.5.	Friabilidade .....	22
5.6.	Uniformidade de Doses Unitárias .....	23
5.7.	Desintegração.....	25
5.8.	Doseamento .....	25

5.8.1. Doseamento por Espectrofotometria no UV .....	25
5.8.2. Doseamento por CLAE-UV .....	26
5.9. Teste de Dissolução .....	26
5.10. Perfil de Dissolução Comparativo .....	28
5.10.1. Perfil de Dissolução.....	28
5.10.2. Perfil de Dissolução com Diferentes Meios .....	30
6. Resultados e discussão.....	31
6.1. Identificação.....	31
6.1.1 Identificação por HPLC-UV .....	31
6.1.2. Identificação por Reações Químicas.....	32
6.1.2. Identificação por Espectrofotometria no UV .....	33
6.2.Determinação de Peso .....	33
6.3.Dureza .....	35
6.4.Teste de Friabilidade .....	36
6.5.Teste de Desintegração.....	37
6.6.Uniformidade de Doses Unitárias .....	38
6.7.Doseamento .....	40
6.7.2 Doseamento por CLAE-UV .....	41
6.7.2. Doseamento por espectrofotometria em UV .....	42
6.8.Dissolução .....	42
6.9.Perfil de Dissolução Comparativo .....	44
7. Conclusões e Perspectivas .....	48
8. Referências Bibliográficas.....	49
ANEXO I – Monografia individual para Comprimidos de Cloridrato de Verapamil, da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010.....	51
ANEXO II – Certificado de análise da Substância Química de Trabalho de cloridrato de verapamil utilizado.....	53

# 1. Introdução

## 1.1. Registro de Medicamentos Genéricos e Similares

A política de medicamentos genéricos de 1999 foi implantada visando o estímulo da concorrência no mercado de medicamentos, além de facilitar o acesso da população a medicamentos com qualidade (BRASIL, 1999). Esta política culminou no desenvolvimento de discussões de conceitos para o registro de medicamentos no Brasil como a biodisponibilidade, bioequivalência, equivalência farmacêutica, sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenções (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

A referida lei de genéricos estabelece que o medicamento genérico seja similar e intercambiável com o medicamento de referência ou inovador (BRASIL, 1999). Por definição, o medicamento inovador é o primeiro produto registrado e detentor da patente, sendo este indicado como medicamento de referência, a menos que o produto inovador não esteja disponível no comércio local. Neste caso, a ANVISA indica como referência outro produto que também possua sua eficácia e segurança garantida (QUENTAL *et al.*, 2008).

O Medicamento genérico pode ser produzido, normalmente, apenas após a expiração ou renúncia da patente, devendo ter sua eficácia e segurança comprovada e sendo designado pela Denominação Comum Brasileira (DCB) ou na Denominação Comum Internacional, caso ainda não exista uma DCB (QUENTAL *et al.*, 2008). Um medicamento genérico pode ser produzido durante o período de proteção patentária, por meio de: licença compulsória, que permite o fornecimento ao mercado de medicamentos julgados essenciais; em casos em que a detentora da patente não é capaz de atender a demanda; ou em situações que não o fabriquem ou se neguem a licenciá-lo (RODRIGUES *et al.*, 2009).

Para o registro de um medicamento novo no Brasil, é necessária a realização de ensaios clínicos de fase I, II e III para assegurar sua segurança e eficácia. No caso de medicamentos genéricos e similares, este processo é mais simples, onde sua eficácia e segurança são provadas através de estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência (BRASIL, 2014).

Desta forma, o medicamento genérico deve apresentar o mesmo fármaco, na mesma quantidade e forma farmacêutica do medicamento eleito como 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 (QUENTAL *et al.*, 2008).

Com a criação e a implantação da política de genéricos, não foram somente os medicamentos genéricos afetados, mas também afetou as regulações de medicamentos similares. Com a RDC nº 134/2003, a ANVISA estabeleceu critérios para a adequação de similares já registrados no país (BRASIL, 2003). Com esta RDC, assim como para o registro de medicamentos genéricos, os similares passaram a ter a obrigatoriedade de apresentar estudos de bioequivalência, além dos testes de perfil de dissolução comparativo e equivalência farmacêutica (BONAMICI, 2009).

Além disso, após a publicação da RDC nº 58 de 2014, os medicamentos similares passaram a ser intercambiáveis com o medicamento referência desde que este tenha apresentado os testes de bioequivalência relativa e esteja presente na relação de medicamentos similares disponível no sítio eletrônico da ANVISA. Esta lista é atualizada na medida em que novos similares são registrados ou renovados com a análise dos estudos comparativos. Além disso, para que seja possível a intercambialidade com o medicamento de referência, este deve conter em sua bula a seguinte frase: "MEDICAMENTO SIMILAR EQUIVALENTE AO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA". Vale destacar que apesar do medicamento similar poder ser, neste caso, intercambiável com o medicamento de referência, a resolução não descreve a intercambialidade entre o medicamento genérico e o similar, uma vez que os testes comparativos citados acima garantem a equivalência somente com o medicamento referência e não entre os medicamentos genéricos (BRASIL, 2014).

## **1.2. Biodisponibilidade e Bioequivalência**

### 1.2.1. Biodisponibilidade

Segundo a ANVISA, a biodisponibilidade pode ser definida como a velocidade e extensão de absorção de um fármaco em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou na urina (**Figura 1**) (BRASIL, 2006).

No caso do medicamento inovador, os estudos de biodisponibilidade são utilizados para a determinação da relação entre a concentração plasmática do fármaco e a segurança e eficácia do produto (BRASIL, 2014).

Os estudos de biodisponibilidade possuem diversas aplicações, como a avaliação da bioequivalência de medicamentos, avaliação de medicamentos que contém fármacos novos na terapêutica, avaliação de novas formulações, avaliação de FF de liberação modificada e avaliação de alterações de posologia (STORPIRTIS *et al.*, 1995).

As variações de perfis de biodisponibilidade de medicamentos podem ocorrer devido às diferenças na taxa de absorção do fármaco, fatores fisiológicos de cada indivíduo, dosagem e a FF utilizada, assim como os excipientes empregados (BRASIL, 2006).

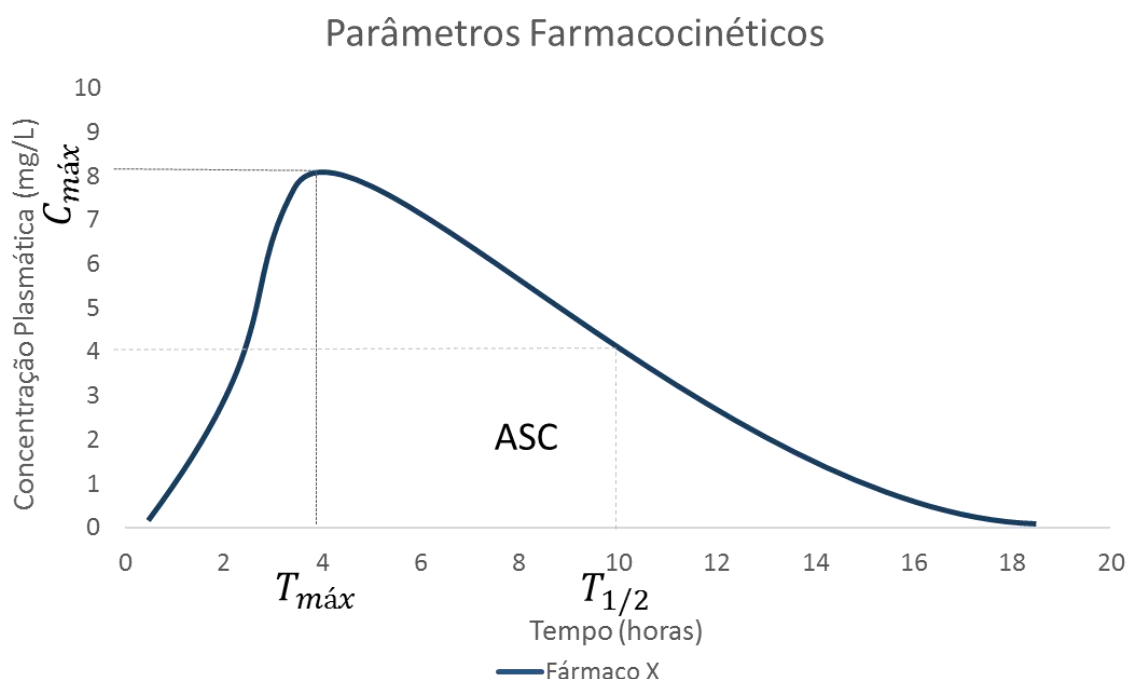
### 1.2.2. Bioequivalência

Com a introdução dos medicamentos genéricos no mercado, houve uma preocupação com a garantia da intercambialidade desses medicamentos com o medicamento de referência. Sendo assim, fez-se necessário comprovar e comparar a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos genéricos com os produtos inovadores. A confirmação da intercambialidade é dada através dos estudos de equivalência farmacêutica e/ou bioequivalência (BRASIL, 2006).

A bioequivalência é um dos estudos exigidos atualmente para a obtenção de registro para grande parte dos medicamentos genéricos e similares (BRASIL, 2014). Este teste é constituído pela comparação dos parâmetros farmacocinéticos obtidos por estudo de biodisponibilidade entre o medicamento teste e o de referência. Com a implantação da Política Nacional de Medicamentos Genéricos no País em 1999, foram estabelecidos critérios mínimos para aceitação dos

ensaios de Equivalência Farmacêutica, Biodisponibilidade e Bioequivalência de medicamentos (BRASIL, 2006).

Em abril de 2006, foi publicada a resolução 1170, que consistia num guia para a elaboração dos estudos de biodisponibilidade relativa e bioequivalência de medicamentos. Segundo esta resolução, os parâmetros a serem levados em consideração para a determinação da bioequivalência entre dois medicamentos (**Figura 1**) são a  $C_{m\acute{a}x}$ , a ASC e, quando aplicável, o  $T_{m\acute{a}x}$ . Para o cálculo da razão das médias geométricas ( $ASC_{0-t}$  teste/ $ASC_{0-t}$  referência e  $C_{max}$  teste/ $C_{max}$  referência), são utilizados os parâmetros dos extremos de um intervalo de confiança de 90%, onde a proporção do  $C_{m\acute{a}x}$  e ASC devem ser maiores do que 0,8 e menores do que 1,25 em relação aos parâmetros do medicamento referência (BRASIL, 2006).



**Figura 1** Gráfico da concentração plasmática de um fármaco versus o tempo, evidenciando os parâmetros farmacocinéticos ( $C_{m\acute{a}x}$ ,  $T_{m\acute{a}x}$ , ASC e  $T_{1/2}$ ) (BONAMICI, 2009).

O  $C_{m\acute{a}x}$  é a concentração máxima do fármaco no plasma, enquanto o  $T_{m\acute{a}x}$  é o tempo necessário a partir do momento da administração, para que o fármaco atinja a concentração máxima. A área sob a curva (ASC) é a integral da curva farmacocinética que é a medida da exposição sistêmica total. O  $T_{1/2}$  ou tempo de

meia vida, é o tempo necessário para que a concentração máxima se reduza pela metade (BONAMICI, 2009).

Os testes de bioequivalência devem ser realizados em centros de pesquisa com Certificação de Boas Práticas para a realização de estudos de Biodisponibilidade/Bioequivalência de medicamentos pela Anvisa. Segundo a RDC 56 de 2014, a concessão da certificação dependerá da verificação do efetivo cumprimento dos requisitos preconizados pelas Boas Práticas para a realização de estudos de Biodisponibilidade/Bioequivalência de Medicamentos, por meio de inspeção, documentada em relatório, e de parecer técnico favorável emitido pela ANVISA (BRASIL, 2014). Os laboratórios certificados para a realização dos estudos de bioequivalência estão listados em página da ANVISA, havendo 25 centros de pesquisa habilitados conforme consulta realizada em 01 de dezembro de 2016.

### **1.3. Equivalência Farmacêutica**

Para ser registrado na ANVISA, todo medicamento genérico e similar deve comprovar a sua equivalência farmacêutica, anteriormente a realização do estudo de bioequivalência. Dois medicamentos são considerados equivalentes farmacêuticos pela comprovação de que ambos apresentam o mesmo fármaco, na mesma dosagem, na mesma forma farmacêutica e com perfil de dissolução semelhante (BRASIL, 2014). Desta forma, são realizados estudos *in vitro* utilizando testes físico-químicos e quando aplicáveis, microbiológicos, descritos na monografia do medicamento em questão da FB 5 ou, caso não exista monografia para o medicamento de estudo, de outros compêndios oficiais (ANVISA, 2010). Além disso, o medicamento teste deve possuir um perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência. Com a RDC nº 31 de 2010, foi regulamentado o teste de perfil de dissolução comparativo para formas farmacêuticas orais sólidas (BRASIL, 2010).

Para a determinação do perfil de dissolução, devem-se realizar várias coletas do meio de dissolução, em tempos adequados, determinando-se a porcentagem de fármaco dissolvido a cada tempo. Com isso, se constrói uma curva da porcentagem dissolvida em relação ao tempo. A partir dos dados obtidos no perfil de dissolução, é possível calcular os fatores de diferença (F1) e



semelhança (F2) entre o medicamento teste e o de referência, sendo que apenas o valor de F2 é exigido pela a RDC nº 31 de 2010, devendo ser obtida uma similaridade (valor de F2) mínima de 50% para que os medicamentos incluídos no teste sejam considerados equivalentes (BRASIL, 2010).

Os testes de equivalência farmacêutica devem ser realizados em centros devidamente habilitados pela ANVISA e deve ser realizado previamente à realização dos ensaios de bioequivalência (BRASIL, 2010). Conforme consulta realizada no dia 01 de dezembro de 2016, no portal da ANVISA, atualmente existem no Brasil 71 centros de equivalência farmacêutica habilitados.

De acordo com a definição de equivalentes farmacêuticos, se aceita que a formulação e o processo de fabricação não sejam idênticos ao do medicamento referência, 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. Entretanto, vale ressaltar que diferenças em relação a características físicas e físico-químicas do fármaco e demais componentes da formulação, bem como os processos de fabricação, podem gerar diferenças no perfil de dissolução que, no caso do genérico, podem comprometer a bioequivalência e, conseqüentemente, a intercambialidade (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

Desta forma, formas farmacêuticas sólidas, merecem uma maior atenção, uma vez que a dissolução do fármaco pode ser afetada por características do processo produtivo (processo de compressão, mistura, revestimento, etc.) características do próprio fármaco (solubilidade, polimorfismo, tamanho de partícula e higroscopicidade), assim como excipientes que podem facilitar ou dificultar a desintegração do comprimido e conseqüentemente, a dissolução (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

Sendo assim, para fármacos que apresentam uma baixa solubilidade em água, e que, portanto, se espera uma velocidade de dissolução mais lenta, o teste de perfil de dissolução é particularmente importante, uma vez que a dissolução destes fármacos é limitante para a sua absorção, afetando conseqüentemente, a biodisponibilidade (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

## **1.4. Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisenções**

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) foi criado em 1995 por Amidon e colaboradores, sendo baseado nas propriedades fundamentais que governam a absorção de fármacos (AMIDON *et al.*, 1995).

Os fármacos podem ser classificados em 4 classes quanto suas características de solubilidade e permeabilidade (AMIDON *et al.*, 1995). Os medicamentos de classe I apresentam características ideais, possuindo alta solubilidade e alta permeabilidade. Para formas farmacêuticas de liberação imediata, o fator limitante para a absorção destes medicamentos será, principalmente, o esvaziamento gástrico. Os de classe II apresentam baixa solubilidade e alta permeabilidade, sendo a etapa limitante para a biodisponibilidade destes fármacos a dissolução. Os de classe III possuem alta solubilidade e baixa permeabilidade, sendo a etapa limitante para a biodisponibilidade, o processo de absorção. Por sua vez, o fármaco de classe IV, apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade (BONAMICI, 2009).

Para que um fármaco seja considerado de alta solubilidade, a sua maior dose deve ser solúvel em volume igual ou menor do que 250 mL de meio aquoso dentro da faixa de pH de 1 a 7,5. A permeabilidade é considerada alta quando a extensão da absorção em humanos é superior a 90% (BONAMICI, 2009).

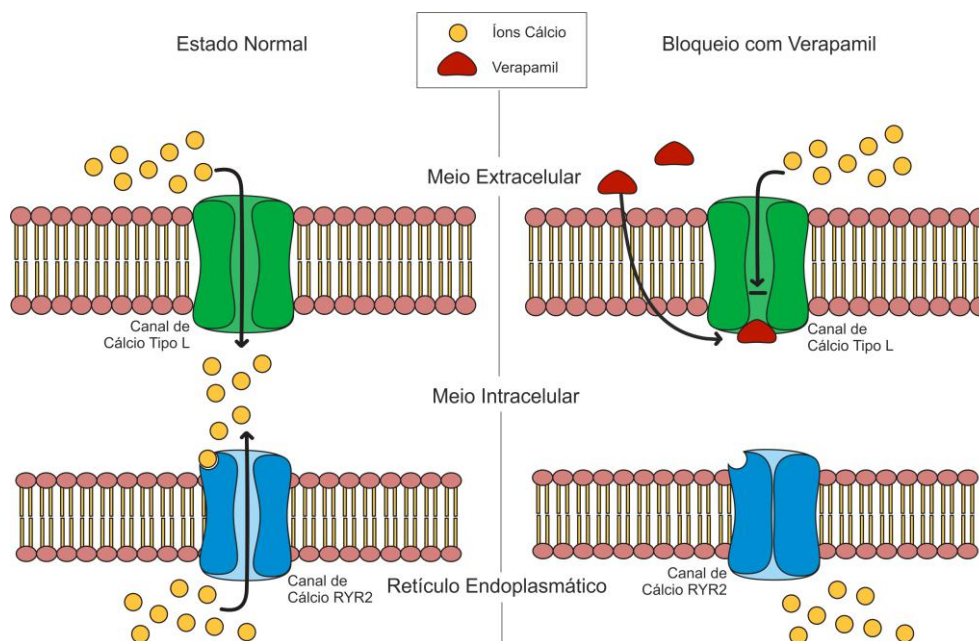
Desde a introdução do SCB, Agências Regulatórias têm utilizado esse sistema para permitir que testes de dissolução *in vitro* sejam utilizados para estabelecer a bioequivalência no caso de fármacos de classe I, ou seja, altamente solúveis e altamente permeáveis. Sendo assim, o principal objetivo do SCB é estimar o perfil farmacocinético de um medicamento a partir de dados de permeabilidade e solubilidade, visando identificar casos em que seja possível a isenção dos estudos de bioequivalência (BONAMICI, 2009).

## **1.5. Verapamil**

### **1.5.1. Mecanismo de ação**

O cloridrato de verapamil é um antagonista de canais de cálcio, sendo utilizado para o tratamento da angina de esforço, arritmia supraventricular e hipertensão. O cálcio é um íon essencial para a contração muscular e com o

bloqueio destes canais, acarretará, portanto, num efeito inotrópico negativo, diminuição da condução atrioventricular, efeito cronotrópico negativo e bradicardia, sendo também considerado um antiarrítmico de classe IV (**Figura 2**). O bloqueio de canais de cálcio pelo verapamil pode ocorrer na musculatura lisa vascular, agindo como anti-hipertensivo ou na musculatura cardíaca, causando uma diminuição da força de contração e frequência cardíaca (VOGELPOEL *et al.*, 2004).



**Figura 2** Esquema ilustrando o mecanismo de ação do verapamil na musculatura cardíaca (VOGELPOEL *et al.*, 2004).

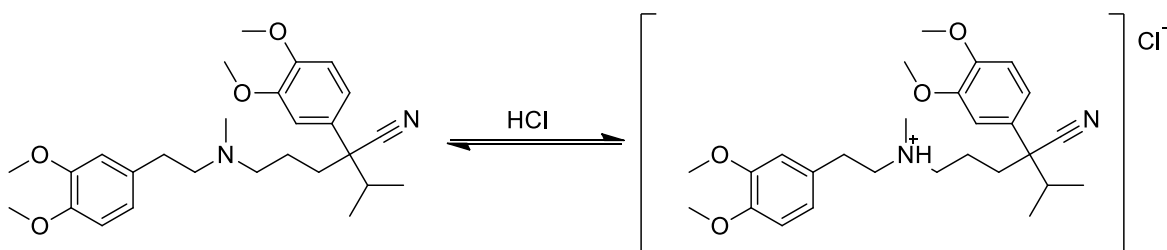
### 1.5.2. Propriedades Físico-químicas

O cloridrato de verapamil é um fármaco de caráter básico. Apresenta em sua estrutura uma amina terciária ionizável (**Figura 3**), que lhe confere um pKa de 8,6 a 8,9 (SANDCASTRO, *et al.*, 1998).

Além disso, seu coeficiente de partição octanol/água, calculados por Kasin e colaboradores, para sua forma não ionizada, apresentou valores entre 4,74 e 5,69, indicando, portanto, uma maior afinidade pela fase apolar (KASIM *et al.*, 2004).

Segundo a classificação biofarmacêutica, a maior dose disponível do fármaco deve ser solúvel em 250 mL de solução aquosa com pH variando de 1 a 7,5. Considerando-se que a maior dose de cloridrato de verapamil disponível no mercado é de 240 mg, seria necessária uma solubilidade superior ou igual a 0,96

mg/mL para que o verapamil seja considerado um fármaco solúvel. Contudo, o verapamil apresenta solubilidade reduzida em valores de pH maiores ou iguais a 6,76 (**Tabela 1**) (CHANG, 2007). Desta forma, quando aplicada a regra para a caracterização de um fármaco solúvel segundo a classificação biofarmacêutica, o verapamil não atende aos critérios, sendo classificado como fármaco de baixa solubilidade (STORPIRTIS *et al.*, 1999).



**Figura 3** Verapamil em sua forma ionizada (VOGELPOEL, *et al.*, 2004).

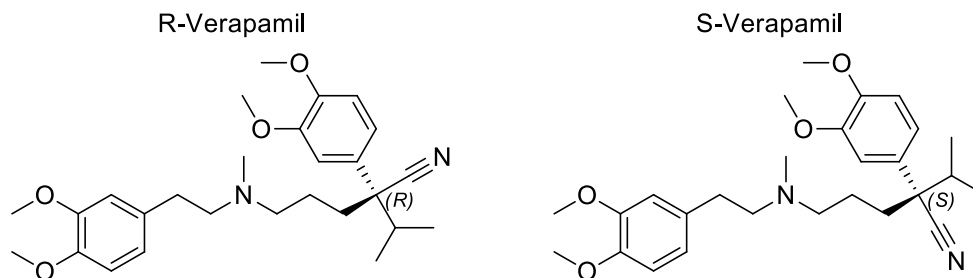
**Tabela 1** Solubilidade do verapamil em sua forma neutra em soluções aquosas com diferentes pHs (CHANG, 2007).

Solvente	Solubilidade (mg/mL)
Água, pH 2,32	82
Água, pH 4,65	89
Água, pH 5,59	76
Água, pH 6,54	46
Água, pH 6,59	29
Água, pH 6,76	11
Água, pH 7,32	0,44
Água, pH 8,09	0,17
0,1 N NaOH, pH 12,6	0,025

Além disso, não foram encontradas referências na literatura quanto a presença de polimorfos para o cloridrato de verapamil (VOGELPOEL *et al.*, 2004) que possam influenciar sua solubilidade.

### 1.5.3. Farmacocinética

A partir da fórmula estrutural do verapamil, é possível identificar a presença de um carbono quiral, indicando a existência de isômeros ópticos *R* e *S* (**Figura 4**) (SANDCASTRO, *et al.*, 1998).



**Figura 4** Isômeros *R* e *S* do verapamil (VOGELPOEL *et al.*, 2004).

A biodisponibilidade absoluta do verapamil após administração oral é de apenas 10 a 20%, o que indica um extenso metabolismo de primeira passagem. Sendo uma molécula quiral, ou seja, com uma assimetria óptica, foi demonstrado que o metabolismo do isômero *S* é maior, uma vez que após a administração racêmica do fármaco por via oral, observa-se uma maior concentração do isômero *R* no plasma, o que indica um metabolismo de primeira passagem estereosseletivo (SANDCASTRO *et al.*, 1998).

O metabolismo do verapamil ocorre principalmente por O-metilação e N-dealquilação. O Nor-Verapamil (**Figura 5**) é o único metabólito ativo formado, sendo que os metabólitos subsequentes são excretados na forma de conjugados inativos (VOGELPOEL *et al.*, 2004).



**Figura 5** Reação do metabolismo do verapamil, formação do nor-verapamil por N-dealquilação.

A distribuição do verapamil por outro lado, é similar para ambos os enantiômeros, apresentando uma ligação a proteínas plasmáticas, moderada (cerca de 90%), não dependendo da concentração, se esta for superior a faixa entre 10-2000 ng/mL (VOGELPOEL *et al.*, 2004).

Cerca de 70% dos metabólitos do verapamil são excretados pela via renal, sendo que apenas 3% do verapamil não metabolizado é excretado pela urina. Outra via de excreção relevante do verapamil e seus metabólitos é a via fecal, que representa cerca de 13%. O tempo de meia-vida para a eliminação é de 4 a 5 horas e similar para os dois enantiômeros (VOGELPOEL, *et al.*, 2004).

## 2. Justificativa

A equivalência de medicamentos genéricos é particularmente importante para medicamentos da classe II do SCB, pois estes medicamentos possuem como fator limitante para a entrada na corrente sanguínea, a sua dissolução, uma vez que ao ser dissolvido, este será rapidamente absorvido.

Além disso, pacientes que fazem uso de medicamentos de uso contínuo podem necessitar da utilização de medicamentos genéricos produzidos por laboratórios farmacêuticos diferentes ao longo do tratamento. Uma vez que não há estudos de equivalência farmacêutica entre medicamentos genéricos, esta troca pode ocasionar uma alteração da farmacocinética que seja perceptível ao usuário, como um maior ou menor tempo para que ocorra o efeito desejado.

O verapamil foi o fármaco de escolha por se enquadrar nestes dois fatores críticos, sendo um fármaco da classe II do SCB e um medicamento de uso contínuo. Além disso, o verapamil é um medicamento constante na Relação Nacional de Medicamentos (RENAME) (BRASIL, 2010), assim como na Relação Municipal de Medicamentos do município de Macaé (REMUME), sendo assim, amplamente empregado na rede pública de saúde. Além disso, afim de fornecer maior confiabilidade aos resultados obtidos, a forma farmacêutica comprimidos, do cloridrato de verapamil, apresenta monografia individual presente na FB 5 de 2010 (**Anexo I**).

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Avaliação da qualidade e comparação dos perfis de dissolução de comprimidos genéricos e referência de cloridrato verapamil.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Análise da qualidade de comprimidos de cloridrato de verapamil disponíveis no mercado por meio dos seguintes testes:
  - Identificação;
  - Determinação de Peso;
  - Uniformidade de Doses Unitárias;
  - Doseamento;
  - Dureza;
  - Friabilidade;
  - Desintegração;
  - Teste de dissolução.
- Comparação dos perfis de dissolução dos medicamentos genéricos com o medicamento referência e entre os genéricos.



## **4. Materiais**

### **4.1. Substância Química de Trabalho**

Foi utilizada a Substância Química de Trabalho (SQT) do cloridrato de verapamil, fornecido pelo laboratório farmacêutico Prati-Donaduzzi, que foi padronizado pela Piramal HealthCare Ltda, frente a Substância Química de Referência (SQR) da Farmacopeia Americana (USP), apresentando teor de 100,5% (**ANEXO II**).

### **4.2. Produtos Farmacêuticos**

Segundo a listagem de medicamentos de referência disponibilizada pela ANVISA e atualizada em agosto de 2009, o medicamento de referência para comprimidos revestidos de cloridrato de verapamil é o Dilacoron<sup>®</sup>, produzido pelo laboratório Abbott. Desta forma, foram adquiridos 90 comprimidos revestidos de Dilacoron, 80 mg, sendo todos do mesmo lote.

Foram adquiridos ainda, a mesma quantidade de comprimidos revestidos de dois medicamentos genéricos de cloridrato de verapamil de 80 mg, sendo denominados neste estudo de “Genérico A” e “Genérico B”.

### **4.3. Materiais de Consumo e Vidrarias**

Foram utilizados diversos reagentes e solventes, entre eles: cloreto de mercúrio II P.A. VETEC QUÍMICA<sup>®</sup>, permanganato de potássio, ácido sulfúrico grau P.A. ÊXODO CIENTÍFICA<sup>®</sup>, clorofórmio e ácido clorídrico grau P.A. LSCHEMICALS<sup>®</sup>, acetato de sódio anidro IMPEX<sup>®</sup>, água ultrapura MiliQ, acetonitrila grau HPLC marca ISO FAR<sup>®</sup>, dietilamina P.S. marca VETEC QUÍMICA<sup>®</sup> e fosfato de sódio dibásico anidro P.A. NEON<sup>®</sup> e água destilada.

Para o preparo das amostras foram utilizados também papel filtro quantitativo, seringas, filtros de seringa com membrana de nylon com poro de 0,45 µm e 25 mm de diâmetro da ALLCROM<sup>®</sup>. Além disso, foram utilizadas uma série de vidrarias analíticas, como balões e pipetas volumétricas, provetas, funis, bécheres, coluna cromatográfica (C18, 15 cm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno, tamanho de partícula de 4 µm SYNERGY<sup>®</sup> da marca

PHENOMENEX), sistema de filtração a vácuo (copo graduado, funil com junta esmerilhada para vácuo, frasco de filtração, bomba de vácuo e membrana filtrante de nylon, 0,45 µm e 25 mm de diâmetro da ALLCROM®).

#### **4.4. Equipamentos**

As análises realizadas neste estudo foram em sua maioria executadas no Laboratório de Análises Farmacêuticas e Controle de Qualidade de Medicamentos do Curso de Farmácia da UFRJ, Campus Macaé. Os equipamentos utilizados deste laboratório foram:

Espectrofotômetro UV/Vis Lambda 35, da PERKIN ELMER®; durômetro para comprimidos da ETHIK TECHNOLOGY®; friabilômetro da ETHIK TECHNOLOGY®; desintegrador com 3 cubas da ETHIK TECHNOLOGY®; dissolutor de comprimidos da NOVA ÉTICA® com 8 cubas; banho ultrassônico da UNIQUE®, modelo 1600A e balança analítica digital da SARTORIUS®, modelo MSU2245-1CE-DU.

Os ensaios de CLAE foram realizados no Instituto Macaé de Ciência e Tecnologia onde foi utilizado o cromatógrafo líquido SHIMADZU® equipado com controlador de sistema CBM-20A operado pelo programa LC Solution Versão 1.25. O equipamento é composto de sistema quaternário de bombas LC-20AT, detector de arranjo de fotodiodos (DAD) SPD- M20A, forno CTO-20A, auto-injetor SIL-20A e desgaseificador DGU-20A<sub>5</sub>.

## 5. Métodos

Os métodos utilizados para a avaliação da qualidade dos comprimidos testados foram em sua totalidade oriundos da FB 5; enquanto o perfil de dissolução comparativo foi realizado conforme a resolução nº 31 de 2010.

### 5.1. Preparo de Soluções

#### 5.1.1. Solução de HCl 0,01 M

Para o preparo de 1 L da solução, foram adicionados cerca de 300 mL de água destilada em balão volumétrico de 1 L. Em seguida, dentro da capela, foi retirada uma alíquota de 0,83 mL do ácido clorídrico a 37% (p/v) e transferida para o balão volumétrico, que foi preenchido com água destilada até sua marca.

#### 5.1.2. Solução de HCl 0,1 M

Para o preparo de 1 L da solução, foram adicionados cerca de 300 mL de água destilada em balão volumétrico de 1 L. Em seguida, dentro da capela, foi retirada uma alíquota de 8,3 mL do ácido clorídrico a 37% (p/v) e transferida para o balão volumétrico, que foi preenchido com água destilada até sua marca.

#### 5.1.3. Tampão Acetato 0,01 M

Para o preparo de 1 L de tampão acetato 0,05 M, foram pesados 4,10 g de acetato de sódio, que foi transferido para balão volumétrico de 1 L. Em uma proveta foram aferidos 33 mL de ácido acético glacial. Este foi transferido para o balão, que foi então preenchido com água ultrapura até sua marca.

#### 5.1.4. Solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 M

Para o preparo de 100 mL da solução, foram adicionados cerca de 30 mL de água destilada em balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, dentro da capela, foi retirada uma alíquota de 163 µL do ácido sulfúrico a 98% (p/v) e transferida para o balão volumétrico, sendo preenchido com água destilada até sua marca.

#### 5.1.5. Solução de HgCl<sub>2</sub> 5% (p/v)

Para o preparo de 5 mL da solução, foram pesados 250 mg de cloreto de mercúrio II, que foi transferido para balão volumétrico de 5 mL, sendo preenchido com água destilada até sua marca.

#### 5.1.6. Solução de KMnO<sub>4</sub> 1% (p/v)

Para o preparo de 5 mL da solução, foi pesado 50 mg de permanganato de potássio, que foi transferido para balão volumétrico de 5 mL, sendo preenchido com água destilada até sua marca.

#### 5.1.7. Tampão acetato 0,05 M (pH 4,5)

Para o preparo de 1 L de tampão acetato 0,05 M, foram pesados 4,10 g de acetato de sódio, que foi transferido para balão volumétrico de 1 L, sendo preenchido com água destilada até sua marca. A solução resultante foi analisada em pHmetro e seu pH foi ajustado para 4,5 utilizando-se ácido acético glacial para reduzir o pH e hidróxido de sódio para elevar o pH.

#### 5.1.8. Tampão fosfato 0,05 M (pH 6,8)

Para o preparo de 1 L de tampão acetato 0,05 M, foram pesados 26,81 g de fosfato de sódio heptahidratado, que foi transferido para balão volumétrico de 1 L, sendo preenchido com água destilada até sua marca. A solução resultante foi analisada em pHmetro e seu pH foi ajustado para 4,5 utilizando-se ácido fosfórico para reduzir o pH e hidróxido de sódio para elevar o pH.

### **5.2. Identificação**

Segundo a monografia individual de comprimidos de cloridrato de verapamil da FB 5 (**Anexo I**), o teste de identificação pode ser realizado por quatro métodos (A, B, C e D), sendo que se realizados os testes A (tempo de retenção em HPLC-UV) e B (espectroscopia de infravermelho), os testes C (Reação com Cloreto de Mercúrio) e D (Reação com permanganato de potássio) não são necessários.

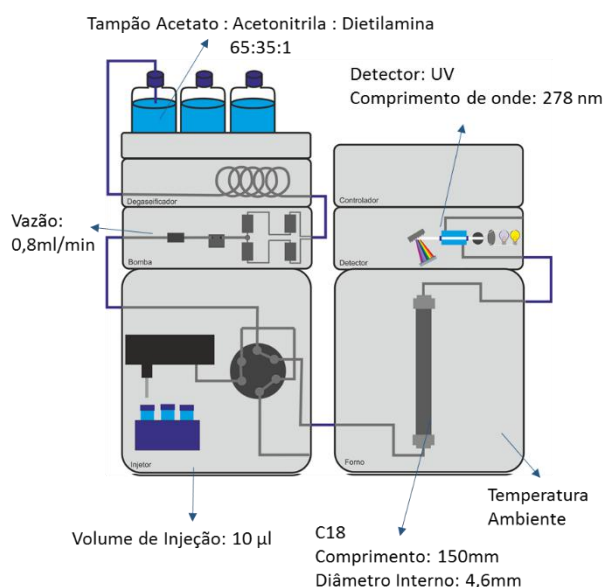
Desta forma, foram realizados os testes A, C e D, não sendo possível a realização do espectro IV devido a limitações instrumentais. Além dos testes

farmacopeicos, realizou-se também, adicionalmente, a sobreposição de espectros de ultravioleta.

### 5.2.1. Identificação pelo tempo de retenção

O teste de identificação pelo tempo de retenção foi realizado no cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu) do laboratório do IMCT (Instituto Macaé de Ciência e Tecnologia).

**Parâmetros utilizados no ensaio:** Fase móvel constituída de tampão acetato 0,01 M: acetonitrila: dietilamina na proporção de 65:35:1; vazão de 0,8 mL/min; coluna C18 com 150 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e tamanho de partícula de 4 µm; temperatura ambiente; volume de injeção de 10 µL e detecção no UV a 278 nm (**Figura 6**).



**Figura 6** Representação esquemática do CLAE e os parâmetros utilizados.

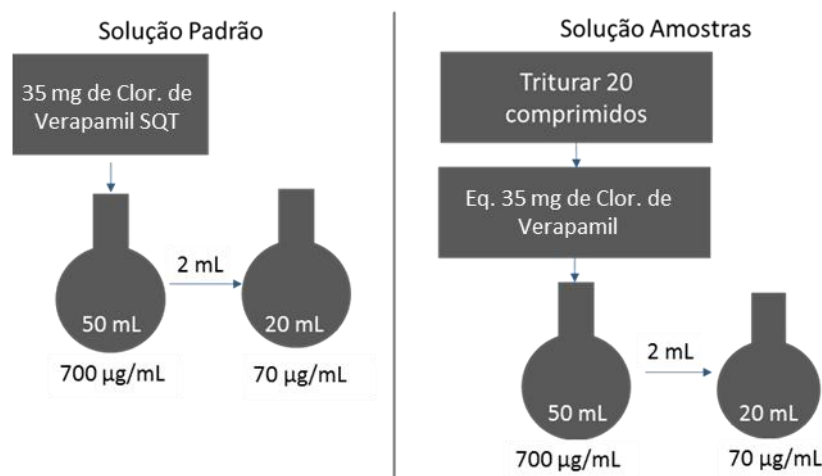
**Preparo da fase móvel:** Em provetas separadas, foram aferidos 650 mL de tampão acetato 0,01 M, 350 mL de acetonitrila e 10 mL de dietilamina. Os três componentes foram então transferidos para um Erlenmeyer, seguida de uma homogeneização.

Foi realizada a filtração da fase móvel utilizando-se um sistema de filtração para CLAE, composto por um copo graduado, funil com junta esmerilhada para vácuo, frasco de filtragem, bomba de vácuo e membrana filtrante.

**Preparo de amostras:** Para o teste foram triturados 20 comprimidos de cada amostra. Em seguida foram pesados do triturado dos comprimidos o equivalente a 35 mg de cloridrato de verapamil, ou seja, desconsiderando a massa correspondente aos excipientes e considerando que cada comprimido continha 80 mg de princípio ativo. Em seguida, a massa pesada foi transferida para balão volumétrico de 50 mL. Completou-se o balão com a fase móvel, seguida de agitação para a dissolução do fármaco por 5 minutos. A mistura foi então filtrada em papel filtro e do filtrado foi retirada uma alíquota de 2 mL que foi então transferida para balão volumétrico de 20 mL, que foi posteriormente completado com a fase móvel e homogeneizado, obtendo-se uma solução final com concentração teórica (uma vez que a concentração foi calculada considerando teor de 100% do fármaco) de 70 µg/mL. Uma alíquota desta solução foi aspirada por seringa e filtrada por membrana filtrante acoplada a mesma, sendo o filtrado simultaneamente transferido para vial.

**Preparo do padrão:** Para o preparo da solução padrão foram pesados 35 mg da SQT de cloridrato de verapamil e transferidos para balão volumétrico de 50 mL e este foi completado com a fase móvel. Uma alíquota de 2 mL desta solução foi transferida para balão de 20 mL e completado com a fase móvel. Com uma seringa de vidro e membrana filtrante, uma alíquota da solução foi filtrada e transferida para vial (**Figura 7**).

As amostras tanto de padrão quanto dos comprimidos foram preparadas em duplicatas, sendo a injeção de cada amostra realizada em triplicata.



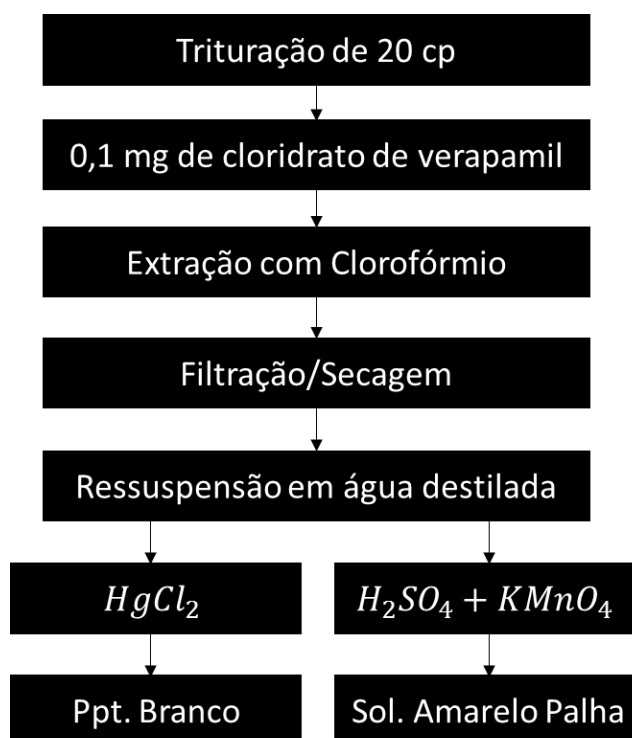
**Figura 7** Representação esquemática do preparo das soluções das amostras e padrão para análise em CLAE.

### 5.2.2. Identificação por reações químicas

Foi pesado o equivalente à 100 mg de cloridrato de verapamil a partir dos comprimidos triturados. Em seguida, foi realizada uma extração com 10 mL de clorofórmio. A solução obtida foi filtrada em papel filtro e o filtrado foi seco a temperatura ambiente. Em seguida foi realizada uma ressuspensão em água destilada.

Para o método C, foi adicionado 0,2 mL de solução de cloreto de mercúrio II (5% p/v) em 10 mL da suspensão obtida acima. Para a confirmação deste teste, deve-se observar a formação de precipitado branco.

Para o método D, foi adicionado 0,2 mL permanganato de magnésio e 0,5 mL de ácido sulfúrico 3M em 10 mL da suspensão obtida acima. Para a confirmação deste teste, deve-se observar a formação de solução amarelo-palha (Figura 8).



**Figura 8** Esquema para realização das reações de identificação.

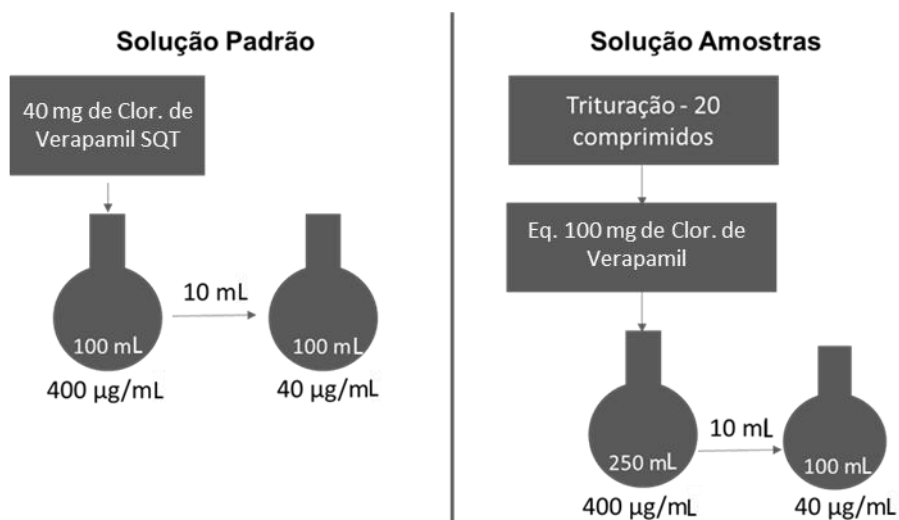
### 5.2.3. Identificação por Espectrofotometria no UV

**Preparo das amostras:** 20 comprimidos foram triturados e deste triturado foram pesados o equivalente a 100 mg de cloridrato de verapamil e transferidos

para balão volumétrico de 250 mL, que foi preenchido com HCl 0,01 M. Foi retirada uma alíquota de 10 mL desta solução e transferida para balão de 100 mL, que também foi preenchido com HCl 0,01 M, obtendo-se solução final com concentração teórica do verapamil de 40 µg/mL.

**Preparo da solução padrão:** Foram pesados 40 mg do padrão de cloridrato de verapamil e transferidos para balão volumétrico de 100 mL, que foi preenchido com HCl 0,01 M. Uma alíquota de 10 mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e preenchido com HCl 0,01 M, obtendo-se solução final de 40 µg/mL (**Figura 9**).

As soluções obtidas foram analisadas em espectrofotômetro UV/Vis de duplo feixe (Perkin-Elmer), utilizando-se como branco uma solução de HCl a 0,01 M. Foi obtido o espectro de absorção das amostras na faixa entre 200 e 400 nm.



**Figura 9** Esquema para o preparo da solução padrão e amostras para identificação por espectrofotometria no UV.

### 5.3. Determinação de Peso

A determinação de peso é realizada para se verificar se as unidades de um mesmo lote apresentam uniformidade de peso.

Para este teste, foram pesados 20 comprimidos de cada amostra em balança analítica e com isso foi obtido seus respectivos pesos médios. Segundo a FB 5ª edição, não mais que dois comprimidos podem estar acima do limite de variação especificado e nenhum pode estar além do dobro deste limite. O limite de variação para comprimidos revestidos com peso médio inferior ou igual a 80

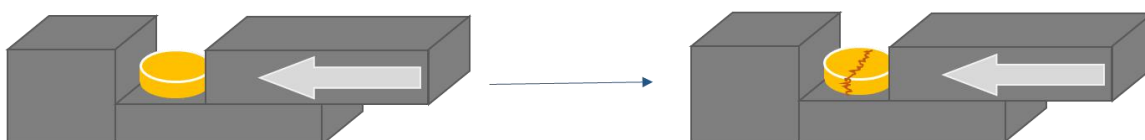


mg é de 10%; com peso médio entre 80 mg e 250 mg é de 7,5% e se o peso médio for maior ou igual a 250 mg a variação permitida é de 5%.

#### 5.4. Dureza

A dureza é um teste informativo e não é critério para a reprovação de um lote de comprimidos, de acordo com a FB 5. Este parâmetro indica a resistência do comprimido ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial (**Figura 10**). Apesar de ser um teste apenas informativo é importante para o controle do processo de compressão, sendo a dureza inversamente proporcional a porosidade do comprimido e diretamente proporcional a força de compressão empregada em sua produção.

Para a realização deste teste utilizou-se um durômetro (Ethik Technology), que mede a força em Newtons necessária para romper o comprimido. Para este teste foram utilizados 10 comprimidos, sendo calculados a média e o desvio padrão relativo desta força. Uma vez que se trata de um método informativo, não há limites de aceitação farmacopeicos para a força média ou sua variação.



**Figura 10** Representação esquemática do teste de dureza.

#### 5.5. Friabilidade

O teste de friabilidade avalia a resistência dos comprimidos a choques mecânicos, sendo importante para garantir a integridade dos comprimidos do momento de sua fabricação até o momento de sua utilização. Apesar de não ser exigido pela FB para comprimidos revestidos, o teste foi realizado em caráter informativo.

Para este teste se utilizam 20 comprimidos caso o peso médio seja igual ou inferior a 650 mg ou 10, caso seja superior a 650 mg.

Os comprimidos foram inicialmente pesados e então inseridos no friabilômetro (Ethik Technology), por 4 minutos a 25 rpm, totalizando-se 100

rotações. Após este tempo, os comprimidos foram retirados do equipamento, foi realizada uma remoção dos resíduos com pincel e então os comprimidos foram novamente pesados.

Segundo a FB 5, não pode ocorrer uma perda maior do que 1,5%, sendo este valor calculado como a seguir:

$$Perda = \frac{(P_{inicial} - P_{final})}{P_{inicial}}$$

Onde,  $P_{inicial}$  = Peso Inicial de 20 comprimidos;  $P_{final}$  = Peso dos 20 comprimidos após teste.

## 5.6. Uniformidade de Doses Unitárias

O teste de uniformidade de doses unitárias é realizado para analisar se a quantidade de fármaco presente em cada unidade farmacotécnica (comprimido) é uniforme entre a totalidade das unidades testadas.

Para a verificação da uniformidade de doses unitárias, podem ser adotados dois métodos distintos, segundo a FB 5ª edição, o método pela variação de peso (VP) ou pela uniformidade de conteúdo (UC). O método pela VP é feito pela estimativa das doses individuais pelo peso do comprimido e seu teor obtido pelo teste de doseamento, enquanto no método de UC, os comprimidos são doseados individualmente. Para a escolha entre estes dois métodos levam-se em consideração a forma farmacêutica, a dose e a proporção de princípio ativo no comprimido.

Para comprimidos revestidos de liberação imediata, utiliza-se o método de VP se a dose for maior ou igual a 25 mg e a proporção de fármaco no comprimido for maior do que 25%. Caso contrário, o método a ser utilizado deverá ser a uniformidade de conteúdo.

No caso deste estudo, foi utilizado o método de uniformidade de conteúdo para as amostras, uma vez que uma das formulações apresentou proporção de fármaco inferior a 25%. Como se trata de um estudo de comparação entre comprimidos de diferentes fabricantes, é desejável a utilização do mesmo método para todas as amostras.

Para o doseamento do teste de uniformidade de conteúdo cada comprimido foi inserido em um balão volumétrico de 100 mL. O balão foi preenchido com HCl 0,01M até a metade e foi agitado até a completa desintegração do comprimido. Após a desintegração, o balão foi preenchido até sua marca de 100 mL e homogeneizado. Em seguida realizou-se uma filtração em papel filtro e 1 mL do filtrado foi transferido para balão volumétrico de 20 mL. O balão foi preenchido com HCl 0,01 M obtendo-se concentração teórica de 40 µg/mL.

O doseamento foi realizado em espectrofotômetro no UV (Perkin-Elmer) a 278 nm, onde as absorvâncias das amostras foram comparadas com a absorvância do padrão de cloridrato de verapamil preparados na concentração de 40 µg/mL.

O teor percentual obtido no doseamento foi então utilizado para o cálculo do valor de aceitação (VA). Segundo a FB 5ª edição, este valor deve ser menor ou igual a 15% e é calculado utilizando-se a seguinte fórmula:

$$VA = |M - \bar{X}| \times k s$$

Onde, M = Valor de Referência (depende de T e de  $\bar{X}$ );  $\bar{X}$  = Média dos teores individuais; Constante de aceitabilidade (se n=10, k=2,4; se n=30, k=2); s = desvio padrão das amostras. T= Média dos limites especificados na monografia individual para a quantidade ou potência declarada, expressa em porcentagem.

Os limites especificados para comprimidos de cloridrato de verapamil na FB 5 são de no mínimo 90% e no máximo 110%. Uma vez que “T” é a média destes valores, o valor de “T” para o cloridrato de verapamil é de 100%. Para medicamentos com T<101,5% (situação presente), utiliza-se M= $\bar{X}$  se a média dos teores individuais estiverem entre 98,5% e 101,5%, M=98,5 se a média dos teores individuais forem menores ou iguais a 98,5% ou M=101,5 se a média dos teores individuais forem superiores a 101,5%.

Se após a realização do teste com 10 comprimidos se obtiver um VA acima de 15, será necessário obter as doses unitárias de mais 20 unidades de cada amostra, totalizando 30 para a análise final do teste.

## 5.7. Desintegração

O teste de desintegração é realizado para assegurar que o comprimido se desintegre dentro do tempo especificado, uma vez que a desintegração é uma etapa biofarmacêutica que influencia a velocidade de dissolução do fármaco e conseqüentemente sua absorção.

Para este teste utilizam-se 6 comprimidos de cada amostra, que são inseridos em aparelhagem específica. Utilizaram-se 900 mL de HCl 0,01 M como líquido de imersão a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A desintegração é definida, neste teste, como o estado no qual nenhum resíduo dos comprimidos testados permanece na tela metálica do aparelho de desintegração.

Ao final de 30 minutos de ensaio, o movimento das cestas foi cessado, e foi analisado se houve a permanência de algum resíduo na tela metálica dos tubos. Para fins informativos, foram obtidos os tempos necessários para a desintegração de todos os 6 comprimidos de cada amostra.

## 5.8. Doseamento

Segundo a FB 5ª edição, o doseamento pode ser realizado por CLAE-UV ou espectrofotometria no UV. A realização do doseamento por apenas um destes métodos é suficiente para o cumprimento do teste, entretanto foram realizadas as determinações pelos dois métodos citados.

### 5.8.1. Doseamento por Espectrofotometria no UV

O preparo das soluções das amostras e do padrão de verapamil foram realizados conforme descrito para o teste de identificação por espectrofotometria no UV, e pode ser observado no item 5.2.3.

O doseamento foi realizado em triplicata, realizando a leitura a 278 nm e a absorvância das amostras foram comparadas com a absorvância do padrão para se obter o teor percentual, conforme fórmula a seguir:

$$Teor\%_{amostra} = \frac{Abs_{amostra} \times 100\%}{Abs_{padrão}}$$

Onde,  $Abs_{amostra}$  = Absorvância da amostra a 278 nm;  $Abs_{padrão}$  = Absorvância de verapamil SQR a 40 µg/mL.

Foram calculados também a média, desvio padrão amostral e coeficiente de variação percentual.

### 5.8.2. Doseamento por CLAE-UV

O doseamento por CLAE foi realizado no cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu) do laboratório do IMCT.

Os parâmetros utilizados no ensaio, assim como o preparo da fase móvel, solução das amostras e solução do padrão de verapamil, foram realizados conforme o descrito no teste de identificação por CLAE no item 5.2.1.

Para a determinação do teor percentual de verapamil nas amostras foi necessária a obtenção das áreas do pico, uma vez que elas são proporcionais a concentração. Para o cálculo da área utilizou-se ferramenta disponível no software LC-Solutions.

A preparação das soluções foi realizada em duplicata, enquanto a injeção das amostras foi realizada em triplicata.

Com a obtenção das áreas dos picos das amostras, estas foram comparadas com a área do pico da solução padrão, obtendo-se assim, o teor percentual das amostras, conforme fórmula a seguir:

$$Teor\%_{amostra} = \frac{AP_{amostra} \times 100\%}{AP_{padrão}}$$

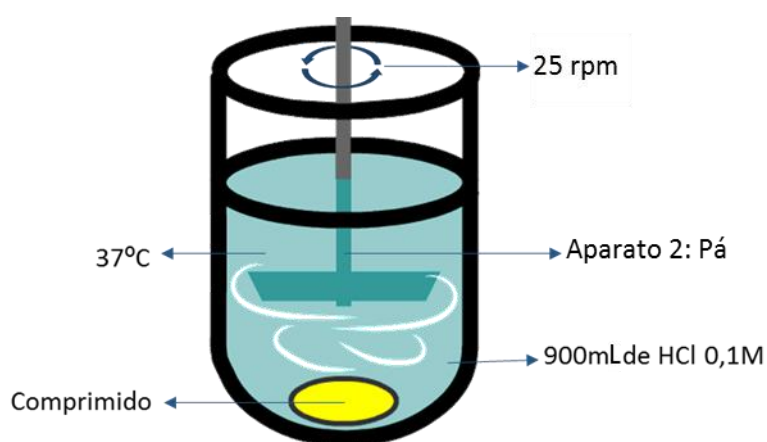
Onde,  $AP_{amostra}$  = Área do pico da amostra;  $AP_{padrão}$  = Área do pico do verapamil SQT a 70 µg/ml.

Foram calculados também a média, desvio padrão amostral e coeficiente de variação percentual.

### **5.9. Teste de Dissolução**

O teste de dissolução permite a determinação da quantidade de fármaco dissolvido no meio de dissolução quando o medicamento é submetido à ação de aparelhagem específica. O aparelho de dissolução consiste basicamente de um sistema composto por uma cuba de vidro boro silicato ou plástico; haste em aço inoxidável para promover a agitação do meio, por meio de pás ou cesta,

principalmente; motor que possibilita o ajuste da velocidade de rotação da haste e banho de água para controle da temperatura a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  (**Figura 11**).



**Figura 11** Representação esquemática do teste de dissolução com os parâmetros utilizados.

A monografia do cloridrato de verapamil da FB 5, indica a utilização do aparato pá, numa velocidade de 50 rpm num tempo de 30 minutos. O meio de dissolução descrito é 900 mL de ácido clorídrico 0,1 M. A tolerância estabelecida é de 75% de dissolução em 30 minutos.

O doseamento das alíquotas retiradas após o tempo de 30 minutos de ensaio foi realizado da seguinte maneira. Retirou-se uma alíquota de 10 mL a qual foi transferida para funil com papel filtro. O filtrado foi então utilizado para o doseamento, onde utilizou-se solução padrão a  $88\text{ }\mu\text{g/mL}$  como comparador.

O doseamento foi realizado em espectrofotômetro, onde foram realizadas leituras das absorvâncias a 278 nm e 300 nm. Para fins de quantificação utilizou-se o valor da diferença entre a absorvância a 278 nm e a 300 nm.

Neste teste são utilizados inicialmente seis comprimidos de cada amostra. Se todos os comprimidos apresentarem uma dissolução maior do que 80%, ou

seja,  $Q + 5\%$  de dissolução, a amostra é aprovada. Caso contrário, deve ser realizado o ensaio utilizando-se mais seis comprimidos e a média do fármaco dissolvido entre os 12 comprimidos testados deverá ser maior ou igual a 75% e nenhuma unidade deve dissolver menos do que 60%. Caso ainda assim a amostra não for aceita, realiza-se o terceiro estágio, onde é realizado o ensaio com mais doze comprimidos, totalizando-se 24. Nesta fase a média da quantidade de fármaco dissolvido deve ser maior ou igual a 75%, apenas dois comprimidos podem apresentar dissolução abaixo de 60% e nenhum abaixo de 50%. Caso a amostra não cumpra este critério, ela estaria reprovada.

## **5.10. Perfil de Dissolução Comparativo**

### 5.10.1. Perfil de Dissolução

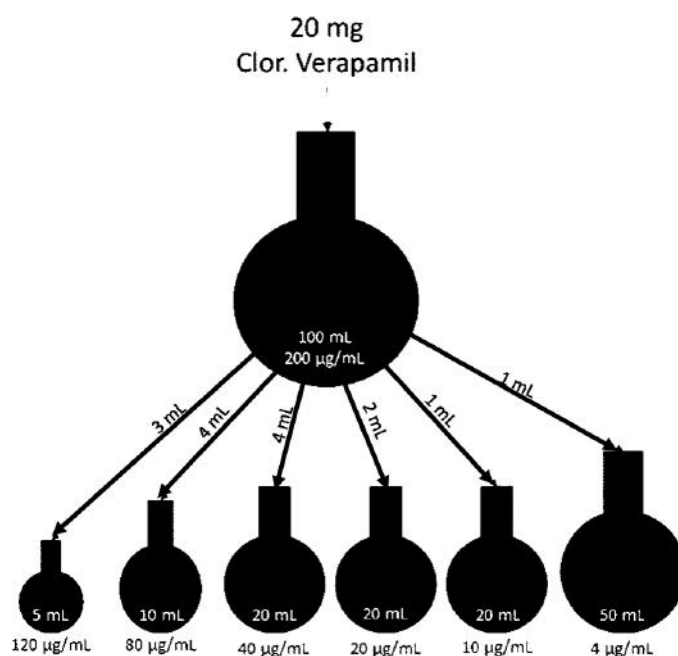
O perfil de dissolução comparativo foi realizado utilizando como base o teste de dissolução descrito na farmacopeia (Meio de dissolução: 900 ml de ácido clorídrico 0,1 M; aparato pá, 25 rpm, 37 °C). Para a obtenção da curva de dissolução, foram coletadas alíquotas de 2 mL nos tempos de 5, 10, 20, 30, 40 e 60 minutos.

A alíquota retirada do meio de dissolução foi prontamente transferida para seringa acoplada a filtro de nylon, onde foi rapidamente filtrada para impedir uma dissolução maior do fármaco.

O doseamento das alíquotas também foi realizado conforme o descrito no teste de dissolução, no entanto, para o cálculo do teor foi realizada uma curva padrão, uma vez que a faixa de concentrações a serem avaliadas era bastante ampla.

Para a construção da curva padrão foram preparadas soluções padrão a 4, 10, 20, 40, 80 e 120  $\mu\text{g/mL}$ . Para isso, foram pesados 20 mg do padrão de cloridrato de verapamil. O material pesado foi transferido para balão volumétrico de 100 mL que foi completado com HCl 0,1 M, resultando numa solução mãe de 200  $\mu\text{g/mL}$ . As soluções utilizadas para a construção da curva foram preparadas conforme esquema a seguir (**Figura 12**).

Após leitura das absorvâncias das soluções da curva de calibração foi calculada a equação linear e a partir dela determinada as concentrações e o percentual dissolvido em cada tempo de coleta.



**Figura 12** Esquema para o preparo das soluções padrão para construção da curva de calibração.

Com a curva da quantidade de fármaco dissolvido em relação ao tempo, foram calculados os fatores F1 (Fator de Diferença) e F2 (Fator de Semelhança) utilizando as seguintes equações:

Fator de Diferença

$$F_1 = \frac{\sum_{i=1}^n |Rf - Tt|}{\sum_{i=1}^n Rf} \times 100$$

Fator de Semelhança

$$F_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \times \sum_{i=1}^n (Rf - Tt)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

Onde, n=número de pontos de coleta; Rf=Quantidade de fármaco do medicamento referência ou comparador dissolvido; Tt=Quantidade de fármaco do medicamento teste dissolvido.



Segundo a RDC nº 31 de 2010, apenas o valor do fator de semelhança é utilizado para se garantir a equivalência entre dois perfis, sendo que F2 deve ser maior ou igual a 50% para que dois medicamentos sejam considerados equivalentes.

#### 5.10.2. Perfil de Dissolução com Diferentes Meios

Conforme a RDC nº 31 de 2010, tem-se como método discriminativo um perfil que contenha pelo menos 2 pontos com quantidade de fármaco dissolvida abaixo de 80% para as duas formulações testadas.

Como forma de obter um método mais discriminativo para a avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de cloridrato de verapamil, foram realizados perfis de dissolução preliminares, utilizando apenas o medicamento referência, com os mesmos parâmetros utilizados no item 5.10.1., variando apenas o meio de dissolução empregado.

Desta forma, foi realizado o perfil de dissolução de dois comprimidos em cada um dos seguintes meios: HCl 0,1 M, HCl 0,01M, tampão acetato (pH 4,5) e tampão fosfato (pH 6,8).

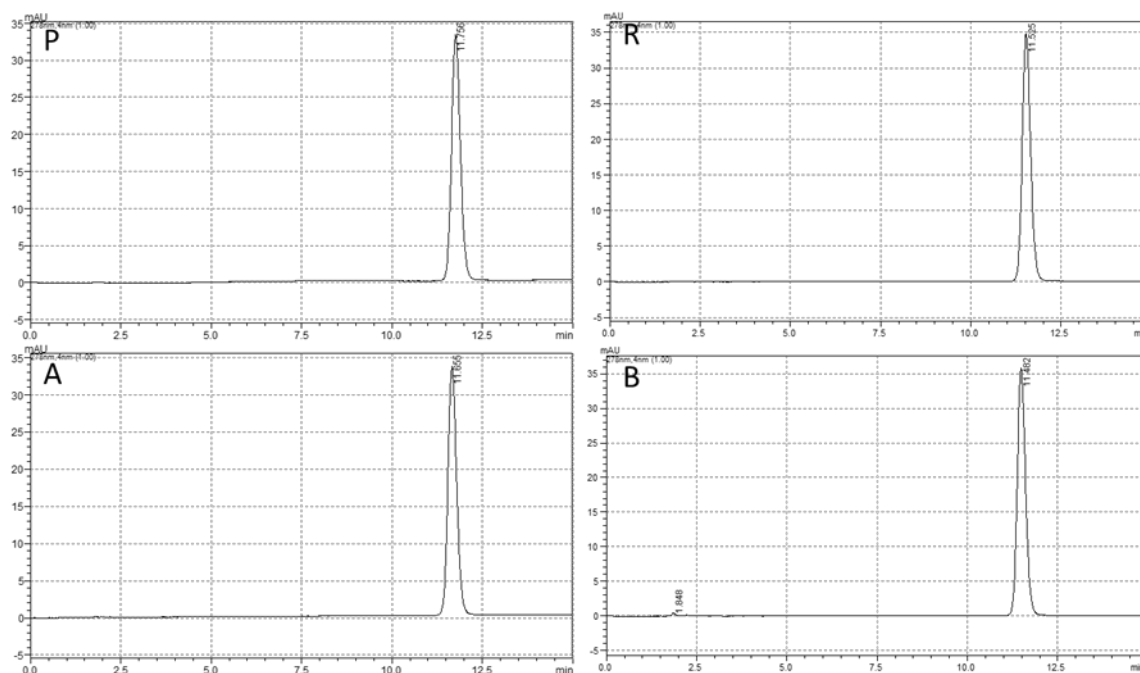
## 6. Resultados e discussão

### 6.1. Identificação

Diferentes métodos ou técnicas foram utilizados na identificação do verapamil nas formas farmacêuticas analisadas. Os métodos preconizados pela FB 5ª edição, bem como o teste usando espectrofotometria no UV foram utilizados para se garantir a presença do fármaco.

#### 6.1.1 Identificação por HPLC-UV

O tempo médio de retenção do padrão de verapamil foi de 11,6 minutos, sendo que as amostras do medicamento referência e do medicamento teste apresentaram tempo de retenção próximo a este valor, conforme o observado nos cromatogramas da **Figura 13**.



\* P=Padrão de Verapamil, R=Medicamento Referência, A=Genérico A, B=Genérico B

**Figura 13** Cromatograma representativo da análise de cloridrato de verapamil em comprimidos revestidos e seus respectivos tempos de retenção.

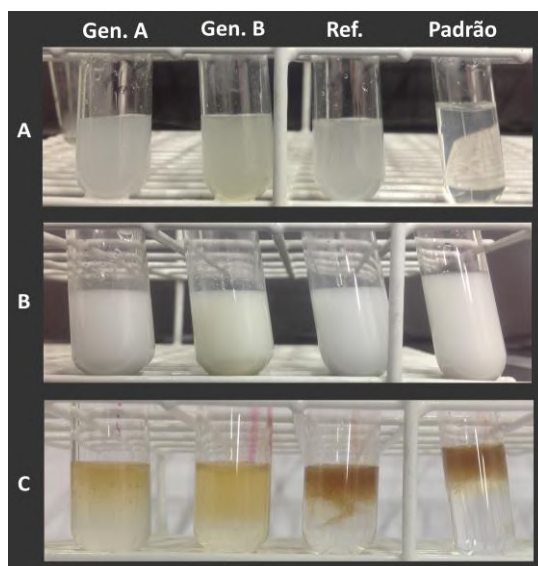
Desta forma, os medicamentos testados foram aprovados no teste de identificação por HPLC-UV, no entanto a identificação empregando o tempo de retenção não é suficiente para confirmar a identidade do verapamil nas

formulações, segundo a FB 5ª edição, sendo necessária, ainda a realização de reações químicas ou comparação de espectros de Infravermelho para inequívoca identificação

### 6.1.2. Identificação por Reações Químicas

Após a adição de cloreto de mercúrio ao extrato aquoso das amostras, ocorreu a formação de precipitado branco, indicando a presença do verapamil em todas as amostras (**Figura 14 B**).

Na reação com permanganato de potássio, observou-se a formação inicial de um halo roxo na superfície seguida de formação de solução amarelo palha em todas as amostras, confirmando mais uma vez a presença do verapamil nas amostras, conforme **Figura 14 C**.

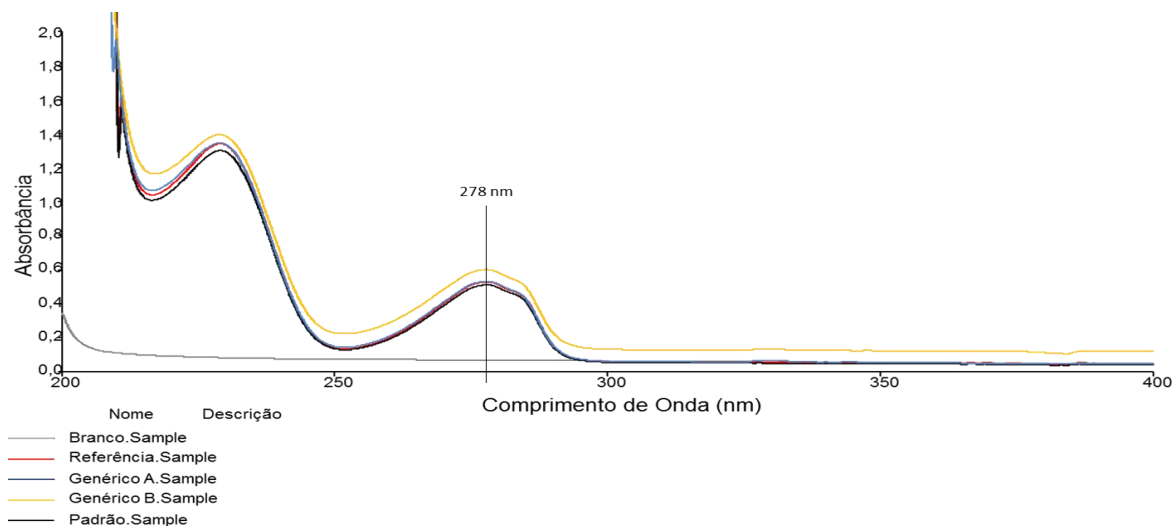


**Figura 14.** (A): Extrato aquoso antes da adição dos reagentes. (B): Solução após a adição de cloreto de mercúrio II 5%. (C): Solução após adição de ácido sulfúrico 3M e permanganato de potássio a 1%(p/v).

Apesar dos métodos clássicos por reações químicas confirmarem a presença de determinados grupos funcionais ou íons na molécula de interesse, é necessária utilização de métodos instrumentais, como a cromatografia e espectrofotometria para se garantir a identidade do analito. Com base nos resultados obtidos no teste do tempo de retenção e testes por reações químicas, pode-se, segundo a FB 5ª edição, se confirmar que as três amostras contêm o cloridrato de verapamil em sua formulação.

### 6.1.2. Identificação por Espectrofotometria no UV

Apesar de não ser exigido pela farmacopeia, foi realizado a comparação dos espectros de UV, em carácter informativo, como meio de fortalecer os resultados de identificação, resultando no gráfico a seguir (**Tabela 15**).



\*Em cinza: Branco (HCl 0,01M); em vermelho: Medicamento referência; em azul: Genérico A; em amarelo: Genérico B; em preto: Padrão de cloridrato de verapamil.

**Figura 15** Comparação de espectros de UV do padrão de verapamil, a das amostras na concentração teórica de 70 µg/mL.

Com base no gráfico obtido, observa-se que os espectros das 3 amostras e do padrão de verapamil, preparados na mesma concentração teórica, apresentaram espectros sobreponíveis, reforçando assim a presença do verapamil na amostra e colaborando com os resultados obtidos anteriormente pelos métodos farmacopeicos.

### 6.2. Determinação de Peso

Partindo-se do princípio que um comprimido mais pesado possuirá uma maior dose, pode-se dizer que a uniformidade de peso está diretamente ligada a uniformidade do conteúdo do princípio ativo de um lote de medicamentos (MESSA *et al.*, 2014).

Após a pesagem de 20 comprimidos de cada fabricante diferente, foram então calculados o peso médio e o desvio padrão das amostras. O medicamento genérico A foi o que apresentou o maior peso médio e também o maior desvio padrão (**Tabela 2**).

**Tabela 2** Valores obtidos da pesagem individual dos comprimidos utilizados para a obtenção do peso médio. Encontram-se também os valores do peso médio de cada amostra, assim como o desvio padrão e o desvio padrão relativo.

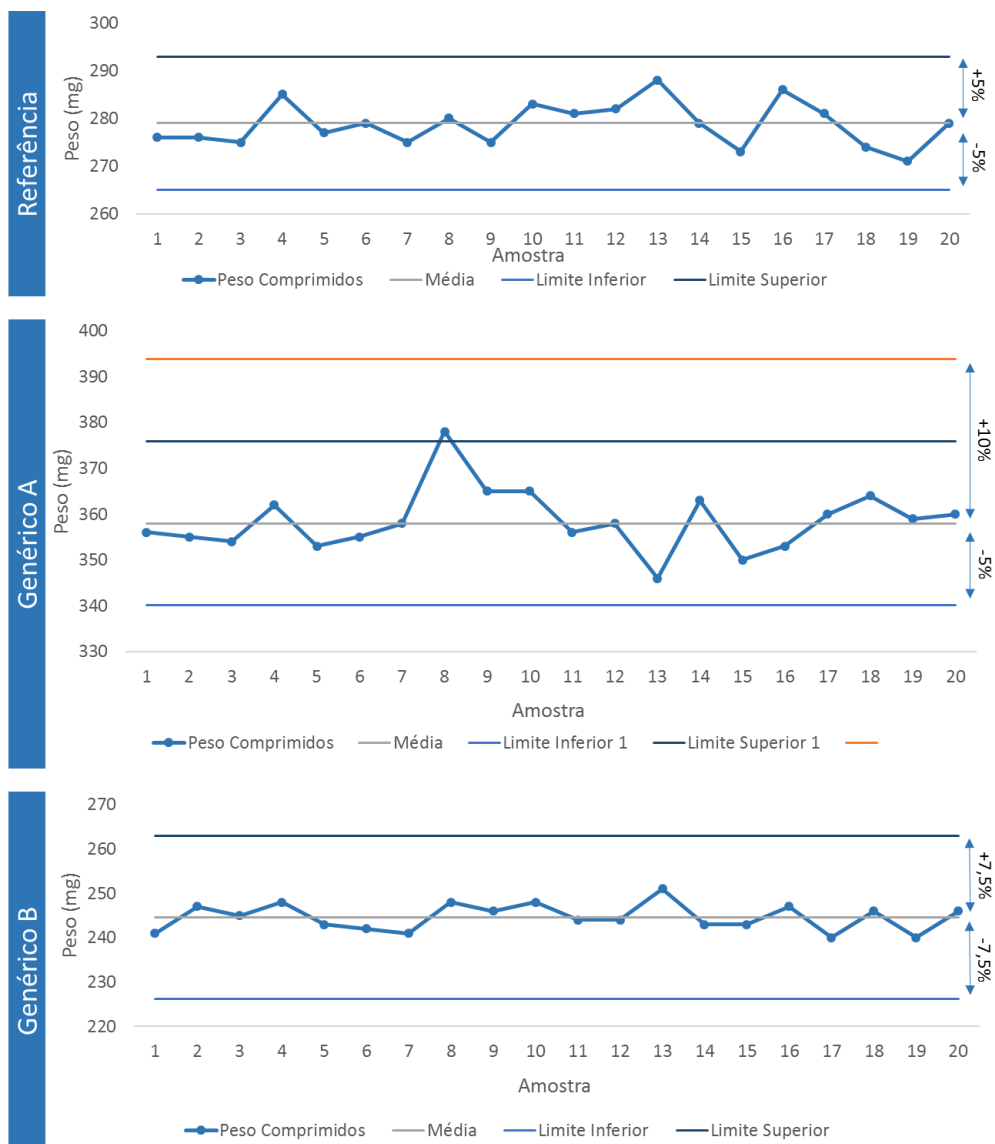
Cp.	Referência	Genérico A	Genérico B	Cp.	Referência	Genérico A	Genérico B
1	276 mg	356 mg	241 mg	11	281 mg	356 mg	244 mg
2	276 mg	355 mg	247 mg	12	282 mg	358 mg	244 mg
3	275 mg	354 mg	245 mg	13	288 mg	346 mg	251 mg
4	285 mg	362 mg	248 mg	14	279 mg	363 mg	243 mg
5	277 mg	353 mg	243 mg	15	273 mg	350 mg	243 mg
6	279 mg	355 mg	242 mg	16	286 mg	353 mg	247 mg
7	275 mg	358 mg	241 mg	17	281 mg	360 mg	240 mg
8	280 mg	378 mg	248 mg	18	274 mg	364 mg	246 mg
9	275 mg	365 mg	246 mg	19	271 mg	359 mg	240 mg
10	283 mg	365 mg	248 mg	20	279 mg	360 mg	246 mg

	Referência	Genérico A	Genérico B
<b>Média</b>	279 mg	358 mg	244,5 mg
<b>Desvio Padrão</b>	4,55	6,80	3,05
<b>Desvio Padrão Relativo</b>	1,63%	1,90%	1,24%

Com base no valor do peso médio, de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, o medicamento de “referência” e o “genérico A” possuem um limite de variação de 5% (possuem P.M. superior a 250 mg), enquanto o “genérico B” possui um limite de variação de 7,5% (possui P.M. superior a 80 mg e inferior a 250 mg) (**Figura 16**).

Para o medicamento referência e o genérico B não houve comprimidos fora do limite de variação. Para o genérico A, o comprimido número 8 passou do limite de variação superior, entretanto, segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, tolera-se que no máximo dois comprimidos estejam acima ou abaixo dos limites determinados sendo que nenhum pode estar acima do dobro deste limite. Como não houve nenhum comprimido com peso acima do dobro do limite especificado, todos os medicamentos testados cumpriram o teste de peso médio.



**Figura 16.** Gráficos com os pesos de cada comprimido do medicamento de referência, genérico A e genérico B, utilizado no teste de peso médio, apresentando também os limites de variação superior e inferior tolerados.

### 6.3. Dureza

A dureza de um comprimido não é critério para aprovação ou reprovação de um lote de medicamentos, entretanto, a dureza pode afetar a dissolução por ser inversamente proporcional à porosidade do comprimido. Em geral os comprimidos devem ser suficientemente duros para resistir à ruptura durante o manuseio e frágeis o bastante para se desintegrar no trato gastrointestinal. Sendo

assim, o monitoramento da dureza do comprimido é importante se para garantir a biodisponibilidade do fármaco (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

Os valores de dureza obtidos, assim como a média e desvio padrão relativo das amostras, encontram-se na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Valores obtidos de dureza de cada comprimido testado, juntamente com os valores de média, desvio padrão e desvio padrão relativo.

<b>Comprimido</b>	<b>Referência</b>	<b>Genérico A</b>	<b>Genérico B</b>
<b>1</b>	6,5	10,1	5,9
<b>2</b>	5	8,7	7,4
<b>3</b>	7,9	7,3	7,2
<b>4</b>	6,9	8,4	7,3
<b>5</b>	8,6	9,4	7,3
<b>6</b>	6,3	5,5	8,5
<b>7</b>	6,8	9	7,2
<b>8</b>	6,3	8,6	7,6
<b>9</b>	8	6,8	8,1
<b>10</b>	8	10,6	4,9
	<b>Referência</b>	<b>Gen. A</b>	<b>Gen. B</b>
<b>Média</b>	6,85	8,65	7,30
<b>Desvio Padrão</b>	1,09	1,54	1,04
<b>Desvio Padrão Relativo</b>	15,90	17,82	14,19

#### **6.4. Teste de Friabilidade**

O teste de friabilidade é importante para se garantir que o comprimido testado chegará íntegro ao consumidor e que não haja perda considerável da quantidade de fármaco da formulação (ANVISA, 2010).

O teste de friabilidade não é exigido pela FB 5ª edição, para comprimidos revestidos, uma vez que o revestimento faz com que o comprimido seja mais resistente a abrasão, entretanto, o teste foi realizado em caráter informativo.

Após a pesagem antes e após o ensaio, foi calculada a porcentagem perdida, conforme tabela a seguir (**Tabela 4**):

**Tabela 4** Valores do peso de 20 comprimidos de cada amostra antes e depois do ensaio de friabilidade, assim como o valor da perda percentual de massa.

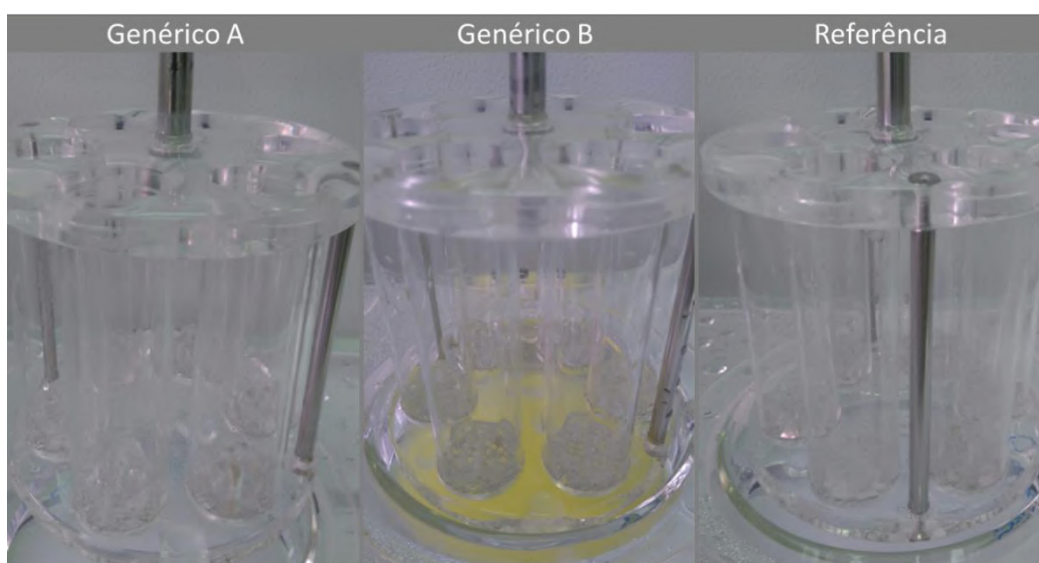
	Peso Inicial	Peso Final	Diferença	Perda %
<b>Referência</b>	5,611g	5,605g	6 mg	0,11 %
<b>Genérico A</b>	7,107g	7,105g	2 mg	0,03 %
<b>Genérico B</b>	4,938g	4,936g	2 mg	0,04%

Não houve perda superior a 1,5% e tão pouco quebras, rachaduras ou desprendimento de lascas em nenhuma das amostras, portanto, todas foram aprovadas pelo teste de friabilidade.

#### 6.5. Teste de Desintegração

A desintegração de comprimidos pode influenciar na absorção, na biodisponibilidade e na ação terapêutica do fármaco, pois para que o princípio ativo de comprimidos de liberação imediata seja absorvido e exerça a sua ação farmacológica rapidamente, é necessário que ocorra a desintegração adequada do comprimido em partículas menores, favorecendo, portanto, a sua dissolução e a biodisponibilidade adequada do fármaco no organismo (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

Após 30 minutos de ensaio, todos os comprimidos das 3 amostras se desintegraram, sendo assim, todos estariam de acordo com o especificado.



**Figura 17.** Cestas do desintegrador após 30 min de ensaio



Apesar de não ser exigido pela FB 5, foram obtidos o tempo de desintegração de cada comprimido, conforme a **Tabela 5**.

**Tabela 5.** Tempos observados para a desintegração dos seis comprimidos utilizados no teste de desintegração.

<b>Comprimido</b>	<b>Referência</b>	<b>Genérico A</b>	<b>Genérico B</b>
<b>1</b>	00:13 min	00:12 min	02:12 min
<b>2</b>	00:13 min	00:14 min	02:25 min
<b>3</b>	00:15 min	00:14 min	04:44 min
<b>4</b>	00:25 min	00:16 min	06:21 min
<b>5</b>	00:34 min	00:29 min	07:03 min
<b>6</b>	00:37 min	00:41 min	07:20 min
<b>Média</b>	00:22 min	00:21 min	05:00 min
<b>Desvio Padrão</b>	0,008 min	0,008 min	0,095 min
<b>DPR %</b>	49%	55%	46%

Para a dissolução do fármaco, é necessário que ocorra previamente a desintegração, uma vez que a quantidade de fármaco dissolvido é insignificante antes deste processo. Foi observada uma diferença grande no tempo de desintegração do genérico B em relação as demais amostras, bem como uma elevada variabilidade entre as unidades testadas para do genérico B.

#### **6.6. Uniformidade de Doses Unitárias**

O teste de uniformidade de doses unitárias é realizado para garantir que a quantidade de fármaco presentes em comprimidos do mesmo lote seja uniforme. A ausência de uniformidade de um lote de medicamentos pode acarretar na produção de comprimidos em doses abaixo da dose terapêutica ou acima da dose tóxica, levando desta forma ao comprometimento da segurança e eficácia do medicamento (ANVISA, 2010).

Os principais pontos que afetam a uniformidade de dose são o processo de mistura antes da compressão e a variação de peso das unidades farmacotécnicas. A farmacopeia permite a utilização de dois métodos para avaliar a uniformidade de doses unitárias: uniformidade de conteúdo ou por variação de peso. O método por uniformidade de conteúdo é mais completo, uma vez que consegue detectar caso ocorra problemas na homogeneização do pó ou grânulos antes da compressão. Medicamentos com baixa proporção de fármaco em

relação a excipientes possuem uma maior chance de apresentar problemas de homogeneização, desta forma, o método por variação de peso não é indicado nestes casos (ROESCH *et al.*, 2010).

Segundo a FB 5, caso a proporção de princípio ativo por comprimido for menor que 25%, deve ser utilizado o método de uniformidade de conteúdo. Como o genérico B apresentou 21,74% de princípio ativo, determinou-se a utilização do referido método para a avaliação da uniformidade de dose unitária para os três medicamentos testados. Os valores dos teores individuais encontrados estão apresentados na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Valores obtidos de teor individual (cada comprimido) pelo método de uniformidade de conteúdo, com valores de média, desvio padrão e desvio padrão relativo.

Comprimido	Referência	Genérico A	Genérico B
1	00:13	00:12	02:12
2	00:13	00:14	02:25
3	00:15	00:14	04:44
4	00:25	00:16	06:21
5	00:34	00:29	07:03
6	00:37	00:41	07:20
<b>Média</b>	00:22	00:21	05:00
<b>Desvio Padrão</b>	0,008	0,008	0,095
<b>DPR %</b>	49%	55%	46%

#### 6.1.1. Medicamento referência

Com base nos valores obtidos no doseamento individual dos comprimidos do medicamento referência, temos que o valor de “M” é igual a 98,5 pois o valor da média ( $\bar{X}$ ) é inferior a 98,5% e a constante de aceitabilidade (k) é igual a 2,4, pois foram utilizados 10 comprimidos (ANVISA, 2010). Sendo assim, temos:

$$V.A. = |M - \bar{X}| + k \times s$$

$$V.A. = |98,5 - 96,71| + 2,4 \times 3,02$$

$$V.A. = 9,05 \text{ (Medicamento Referência)}$$

### 6.1.2. Medicamento genérico A

Com base nos valores obtidos no doseamento individual dos comprimidos do medicamento genérico A, temos que o valor de “M” é igual a 98,5 pois o valor da média ( $\bar{X}$ ) é inferior a 98,5% e a constante de aceitabilidade (k) é igual a 2,4, pois foram utilizados 10 comprimidos (ANVISA, 2010). Sendo assim, temos:

$$\begin{aligned}V.A. &= |M - \bar{X}| + k \times s \\V.A. &= |98,5 - 92,29| + 2,4 \times 1,14 \\V.A. &= 8,93 \text{ (Genérico A)}\end{aligned}$$

### 6.1.3. Medicamento genérico B

Com base nos valores obtidos no doseamento individual dos comprimidos do medicamento genérico B, temos que o valor de “M” é igual a 101,5 pois o valor da média ( $\bar{X}$ ) é superior a 101,5% e a constante de aceitabilidade (k) é igual a 2,4, pois foram utilizados 10 comprimidos (ANVISA, 2010). Sendo assim, temos:

$$\begin{aligned}V.A. &= |M - \bar{X}| + k \times s \\V.A. &= |101,5 - 103,69| + 2,4 \times 2,62 \\V.A. &= 8,50 \text{ (Genérico B)}\end{aligned}$$

O valor aceitação, segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, deve ser menor do que “15”. Desta forma, todas as amostras em questão estão dentro dos limites especificados.

## **6.7. Doseamento**

A FB 5 disponibiliza dois métodos analíticos para realização do doseamento do verapamil em comprimidos. Neste estudo foram utilizados os dois métodos descritos, tanto por CLAE-UV quanto por espectrofotometria no UV.

### 6.7.2 Doseamento por CLAE-UV

As áreas dos picos obtidas das amostras e do padrão encontram-se na tabela a seguir (**Tabela 7**).

As amostras foram preparadas em duplicata (1 ou 2) para a análise de erros no processo de produção das amostras (pesagem, dissolução). Além disso, cada amostra foi injetada em triplicada (a, b e c) para evidenciar possíveis erros instrumentais referentes a injeção.

Não houve desvios padrão significativos entre as amostras e nenhuma amostra apresentou teor abaixo de 90% ou acima de 110%, sendo assim as amostras foram aprovadas pelo teste de doseamento em UV.

**Tabela 7** Valores das áreas dos picos obtidas de cada amostra, contendo o desvio padrão e seus respectivos teores médios.

*	Área	Média	DPR%	Média Total	Teor
<b>Padrão 1</b>	570776,6				
<b>Padrão 2</b>	571386,6	571482,6	0,132733	571482,6	100%
<b>Padrão 3</b>	572284,6				
<b>R1a</b>	558161,1				
<b>R1b</b>	557923,8	557962	0,032798		
<b>R1c</b>	557801,1			562934,7	98,5%
<b>R2a</b>	568240,2				
<b>R2b</b>	568653,6	567907,4	0,168522		
<b>R3c</b>	566828,4				
<b>GA1a</b>	561485,3				
<b>GA1b</b>	561020,9	561349,8	0,051013		
<b>GA1c</b>	561543,3			563415,7	98,6%
<b>GA2a</b>	565304,6				
<b>GA2b</b>	565733,2	565481,5	0,039594		
<b>GA2c</b>	565406,8				
<b>GB1a</b>	576097,1				
<b>GB1b</b>	575346,6	575843,0	0,074663		
<b>GB1c</b>	576085,2			572914,1	100,3%
<b>GB2a</b>	570191,0				
<b>GB2b</b>	569476,0	569985,2	0,077846		
<b>GB2c</b>	570288,7				

\*Amostras iniciadas com "R", são referentes ao medicamento referência, com "GA" são referentes ao medicamento genérico A e com GB são referentes ao genérico B.

### 6.7.2. Doseamento por espectrofotometria em UV

Foi realizado o doseamento em triplicata das amostras e em seguida, foram calculadas as médias dos teores obtidos, desvio padrão amostral e desvio padrão relativo, conforme a tabela a seguir.

A absorvância do padrão de verapamil na concentração de 40 µg/mL foi de 0,438. Foram preparadas amostras na mesma concentração teórica e o doseamento foi realizado considerando-se que para um teor de 100% a amostra deve apresentar absorvância de 0,438. Os resultados encontram-se na **Tabela 8**.

Conforme demonstrado na tabela acima, nenhuma amostra apresentou teores acima de 110% ou abaixo de 90%, sendo assim, estaria aprovada pelo método de doseamento por espectrofotometria por UV.

**Tabela 8** Valores do desvio padrão, desvio padrão relativo e teor percentual obtido no doseamento por espectrofotometria em UV.

	<b>Média da Absorvância</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>DPR</b>	<b>Teor%</b>
<b>Referência</b>	0,444	0	0	101,59%
<b>Genérico A</b>	0,423	0,0014	0,334%	98,85%
<b>Genérico B</b>	0,458	0,0007	0,154%	104,78%

### **6.8. Dissolução**

O ensaio de dissolução de comprimidos é essencial para avaliar se o fármaco é liberado adequadamente da forma farmacêutica, entrando em solução tornando-se disponível para ser absorvido. A dissolução do comprimido está relacionada com a absorção e a biodisponibilidade do fármaco, já que ela é um fator limitante para que o fármaco esteja presente nos meios fisiológicos para assim exercer sua ação terapêutica (STOPIRTIS *et al.*, 1999).

No teste de dissolução todos os comprimidos apresentaram uma dissolução superior a 80%, conforme a tabela a seguir (**Tabela 9**).

Desta forma, todas as amostras estavam de acordo com as especificações descritas na FB 5ª edição para o teste de dissolução. Apesar de serem aprovados por estes testes, notou-se uma diferença nos parâmetros utilizados em outros compêndios oficiais, conforme tabela a seguir (**Tabela 10**):

Considerando-se que o Verapamil é uma base fraca, estima-se que em pH mais baixo ocorra a ionização do verapamil, tornando-o mais solúvel em água.

**Tabela 9** Valores da média dissolvida após 30 min e seus respectivos coeficientes de variação.

	Referência	Genérico A	Genérico B
<b>Cuba 1</b>	102,14%	89,19%	101,42%
<b>Cuba 2</b>	104,91%	107,74%	105,20%
<b>Cuba 3</b>	104,91%	105,63%	105,83%
<b>Cuba 4</b>	107,05%	104,37%	106,25%
<b>Cuba 5</b>	105,98%	106,06%	105,83%
<b>Cuba 6</b>	107,69%	96,99%	104,36%
<b>Média</b>	105,45%	105,00%	105,52%
<b>CV %</b>	1,97%	7,17%	1,79%

Nas farmacopeias americana e argentina, utiliza-se um meio menos ácido comparando-se com o meio indicado pelas farmacopeias brasileira e britânica.

**Tabela 10** Comparação dos métodos de dissolução utilizados por compêndios oficiais.

	Meio de Dissolução	Aparato	RPM*	Tempo de Ensaio
<b>FB, 2010</b> <b>(Farmacopeia Brasileira)</b>	HCl 0,1 M	Pá	25	30 min
<b>USP, 2014</b> <b>(Farmacopeia Americana)</b>	HCl 0,01 M	Pá	25	30 min
<b>BP, 2013</b> <b>(Farmacopeia Britânica)</b>	HCl 0,1 M	Pá	25	30 min
<b>FA, 2014</b> <b>(Farmacopeia Argentina)</b>	HCl 0,01 M	Pá	25	30 min

\*Rotações por minuto

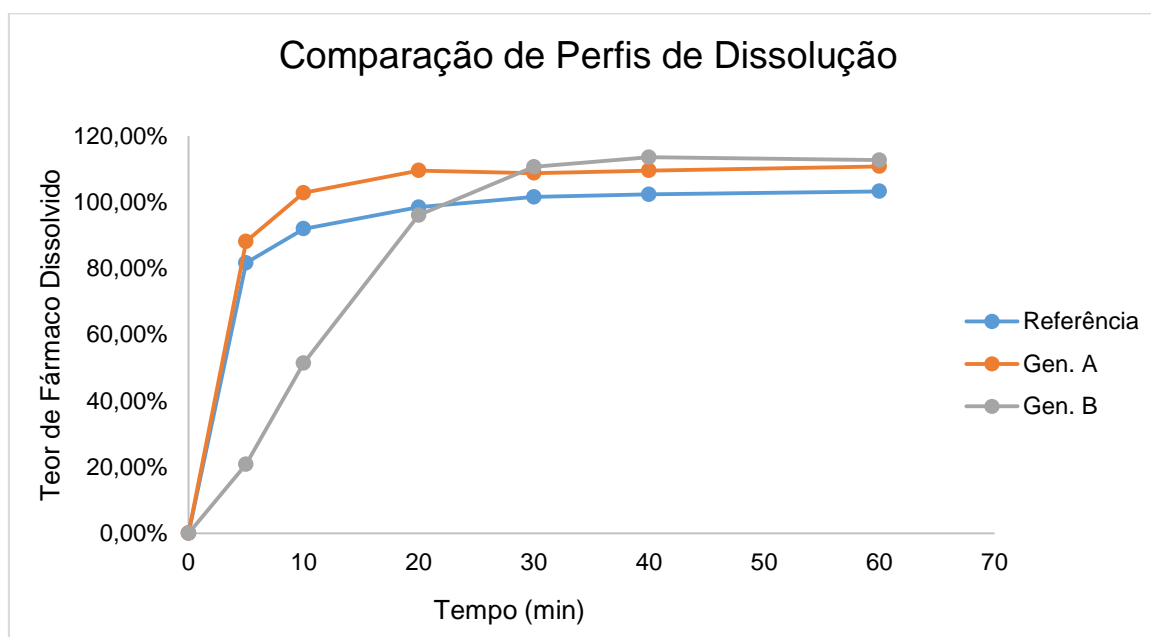
Um meio de dissolução mais ácido, no caso do verapamil, pode resultar em método menos discriminativo, uma vez que a solubilidade do verapamil em pH mais ácido é aumentada (VOGELPOEL *et al.*, 2004).

### 6.9. Perfil de Dissolução Comparativo

O perfil de dissolução comparativo é um dos testes exigidos durante o registro de um medicamento genérico ou similar para se assegurar a equivalência farmacêutica de comprimidos. A velocidade de dissolução pode ser alterada por características intrínsecas ao fármaco ou por presença ou não de excipientes que dificultam ou facilitam a dissolução. Além disso, outros fatores como método de compressão, dureza e mudança dos fornecedores da matéria prima podem afetar a velocidade de dissolução (STOPIRTIS *et al.*, 1999).

Fármacos que apresentam uma baixa solubilidade em água, como o verapamil, e que, portanto, se espera uma velocidade de dissolução mais lenta, o teste de perfil de dissolução é particularmente importante, uma vez que a dissolução destes fármacos é limitante para a sua absorção, afetando consequentemente, a biodisponibilidade (STOPIRTIS *et al.*, 1999).

Após a coleta das alíquotas em 6 tempos e doseamento destas, foi obtido gráfico do teor de fármaco dissolvido versus tempo (**Figura 18**).



**Figura 18** Gráfico do perfil de dissolução comparativo das três amostras de medicamento.

Para ser considerado um método discriminativo, devem haver ao menos 2 pontos com teor dissolvido abaixo de 85% para todas as amostras (BRASIL, 2010).

Além disso, para que a média dos valores obtidos possa ser utilizada para o cálculo do fator de semelhança, não deve haver um coeficiente de variação superior a 20% nos dois primeiros pontos de coleta ou superior a 10% nos pontos restantes (BRASIL, 2010). Houveram pontos em que tanto o genérico B como o A apresentaram um coeficiente de variação superior ao permitido (**Tabela 11**). A alta variação observada para o genérico B pode ser facilmente explicada pela sua alta variação também notada no teste de desintegração. No teste de desintegração foi notado que alguns comprimidos se desintegraram antes de 5 minutos (primeiro ponto de coleta) enquanto outros levaram tempo superior, o que explica os altos coeficientes de variação nos primeiros pontos de coleta.

**Tabela 11** Limites de variação especificados para cada ponto de coleta e seus respectivos valores obtidos para cada amostra.

	<b>Limite Especificado</b>	<b>Referência</b>	<b>Genérico A</b>	<b>Genérico B</b>
<b>5 min</b>	20%	13.6%	16.8%	36.7%
<b>10 min</b>	20%	7.6%	14.5%	27.7%
<b>20 min</b>	10%	4.7%	12.3%	12.5%
<b>30 min</b>	10%	4.7%	9.9%	3.5%
<b>40 min</b>	10%	4.0%	9.8%	2.3%
<b>60 min</b>	10%	3.1%	8.2%	2.0%

Apesar de não obter um método discriminativo e obter coeficientes de variação elevados, foram calculados o fator de diferença e fator de semelhança em carácter informativo entre todas as amostras (**Tabela 12**).

**Tabela 12** Valores do fator de diferença e fator de semelhança calculados.

<b>Comparação</b>	<b>Fator de Diferença (F1)</b>	<b>Fator de Semelhança (F2)</b>
Referência/Genérico A	9.44%	50.55%
Referência/Genérico B	38.17%	18.69%
Genérico A/Genérico B	44.01%	15.25%

Mesmo com a utilização de um método não discriminativo, o medicamento referência e genérico A foram os únicos que apresentaram perfis semelhantes,



com valor de F2 de 50,5%. O genérico B não apresentou perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência e nem com o genérico A, apresentando F2 de 18,69% e 15,25%, respectivamente.

Um fator que pode ter levado a esta diferença são os excipientes utilizados em cada formulação. Na **Tabela 13**, encontram-se todos os excipientes presentes em cada formulação de acordo com o descrito em suas respectivas bulas.

Entretanto, sem os dados da matéria prima utilizada, processo de produção, e estocagem, é difícil determinar o real motivo pelo qual houve um desvio da qualidade dos comprimidos do genérico B após o seu registro junto a ANVISA.

**Tabela 13** Componentes das formulações dos medicamentos analisados com suas respectivas funções (ROWE, *et al.*, 2009).

	Referência	Genérico A	Genérico B	Função
Celulose microcristalina	S	S	N	5-15% Desintegrante 20-90% Diluente
Croscarmelose sódica	S	S	S	0,5-5% Desintegrante
Dióxido de silício coloidal	S	S	S	0,1-1% Promotor de fluxo
Estearato de magnésio	S	N	S	0,25-5% Promotor de fluxo
Fosfato de cálcio	S	S	S	Desintegrante
Hipromelose	S	N	N	Revestimento
Lauril sulfato de sódio	S	N	N	Lubrificante ou molhante
Polietileno glicol 6000	S	S	S	Revestimento
Talco	S	S	S	Diluente
Dióxido de Titânio	S	S	N	Pigmento – Revestimento
Amido	N	N	S	3-25% Desintegrante
Amarelo de Tartrazina	N	N	S	Pigmento amarelo
Povidona	N	N	S	0,5-5% Diluente, promotor de fluxo ou revestimento
Lactose			S	Promotor de fluxo

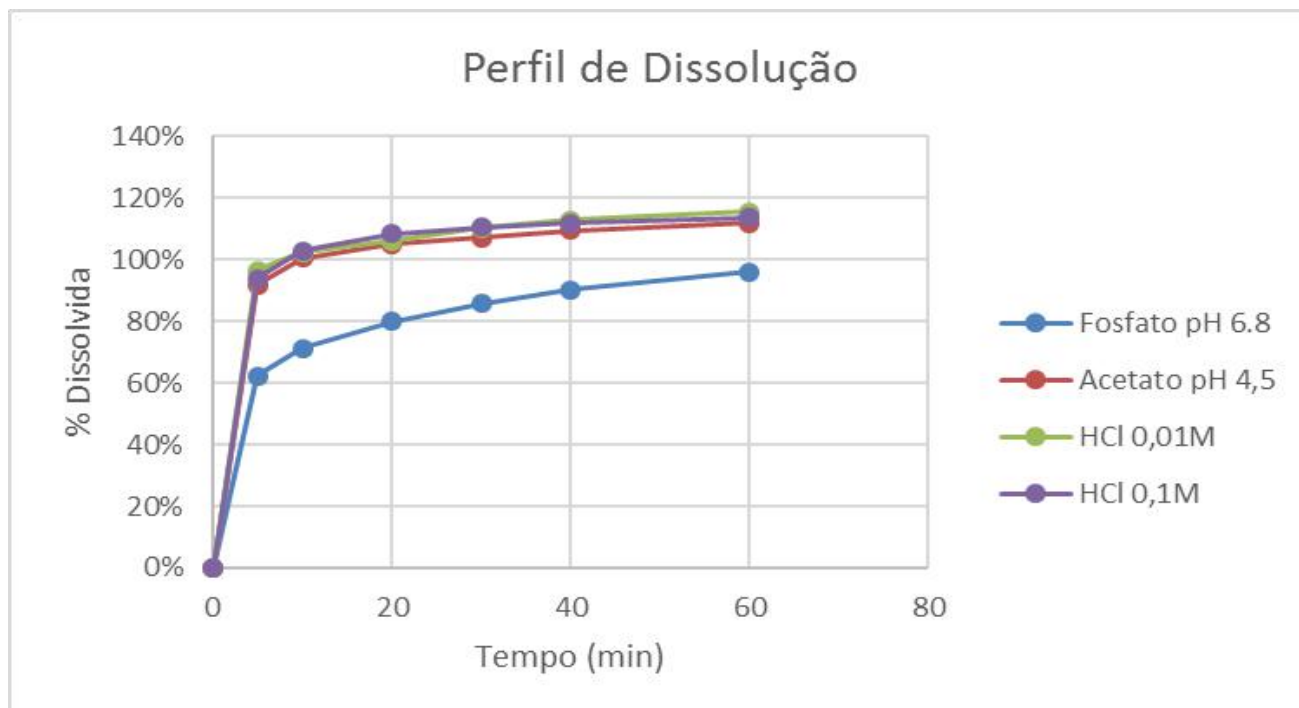
S=Excipiente presente na formulação; N=Excipiente ausente na formulação

Visando o desenvolvimento de um método discriminativo, foram realizados testes preliminares com o medicamento referência, mantendo todos os parâmetros do método utilizado, com exceção do meio de dissolução.

Desta forma, foi realizado o perfil de dissolução utilizando HCl 0,1M, HCl 0,01M, tampão acetato (pH 4,5) e tampão fosfato (pH 4,5). Neste teste preliminar, foram utilizados apenas dois comprimidos para cada meio testado (**Figura 19**).

Com base nos perfis obtidos, foi observado que entre HCl 0,1M, HCl 0,01M e tampão acetato, não houveram diferenças entre os perfis e, portanto, também não seriam discriminativos.

No tampão fosfato, no entanto, foram obtidos três pontos de coleta com porcentagem dissolvida inferior a 85%, o que caracteriza, segundo a RDC 31 de 2010, como um método discriminativo para perfil de dissolução comparativo, desde que o medicamento teste também obtenha ao menos dois pontos com porcentagem dissolvida abaixo de 85%.



**Figura 19** Gráfico do perfil de dissolução de comprimidos referência de cloridrato de verapamil em diferentes meios.

## 7. Conclusões e Perspectivas

Apesar dos medicamentos terem sido aprovados por todos os testes descritos na FB 5, um dos medicamentos não obteve um perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência. Desta forma, os resultados obtidos podem advertir limites de aceitação farmacopeicos demasiadamente brandos e/ou métodos de dissolução farmacopeicos pouco discriminativos, indicando a necessidade do fortalecimento do setor de farmacovigilância e a estruturação de políticas públicas visando a realização de análises fiscais.

Uma vez que a realização do perfil de dissolução é exigida para a obtenção do registro de um medicamento genérico, a presença de um medicamento que não cumpre os requisitos especificados esteja disponível no mercado é alarmante. Tal fato vai contra os princípios da intercambialidade prevista na política nacional dos medicamentos genéricos.

Já que o período de duração de um registro é de 5 anos, durante este período antes da renovação deste, são realizados somente os testes de controle da qualidade descritos na FB 5, que muitas vezes podem ser insuficientes para a determinação de um desvio da qualidade dos comprimidos testados.

Os fatores que podem gerar uma alteração no perfil de dissolução de um comprimido incluem a composição de excipientes, porosidade, fornecedor de matéria prima, armazenamento, entre outros. Sem os dados da matéria prima utilizada, processo de produção, e estocagem, é difícil determinar o motivo pelo qual houve um desvio da qualidade dos comprimidos do genérico B após o seu registro junto a ANVISA.

Desta forma, sugere-se a realização de inspeções periódicas dos produtos disponíveis no mercado para garantir que a equivalência farmacêutica esteja mantida no período entre registros. Outra alternativa, seria, a criação de critérios de aceitação farmacopeicos mais específicos, como a determinação do desvio padrão entre os comprimidos no teste de desintegração. Além disso é proposta a utilização de métodos de dissolução mais discriminativos.

## 8. Referências Bibliográficas

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a Biopharmaceutics Drug Classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharm Res**, v. 12, p. 413-420, 1995.

ANVISA. **Farmacopeia Brasileira 5ª Edição**. Fundação Oswaldo Cruz. Brasília. 2010.

ARGENTINA. **Farmacopea Argentina**. 7. ed., 2002.

BONAMICI, D. **Sistema de classificação biofarmacêutica e bioensaios**. USP. São Paulo. 2009.

BRASIL. **Lei nº 9.789 de 10 de Fevereiro de 1999**. 1999. p. Estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências.

BRASIL. **RDC nº 134 de 29 de Maio de 2003**. Dispõe sobre o registro de Medicamento Similar e dá outras providências. 2003.

BRASIL. **RDC nº 1.170 de 19 de Abril de 2006**. Determina a publicação do "Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos". 2006.

BRASIL. **RDC nº 31 de 11 de Agosto de 2010**. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. 2010.

BRASIL. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, 7ª edição**. Ministério da Saúde, Conselho Federal de Farmácia. 2010.

BRASIL. **RDC nº 56 de 08 de Outubro de 2014**. Dispõe sobre a Certificação de Boas Práticas para a realização de estudos de Biodisponibilidade/Bioequivalência de medicamentos e dá outras providências. 2014.

BRASIL. **RDC nº 58 de 10 de Outubro de 2014**. Dispõe sobre as medidas a serem adotadas junto à Anvisa pelos titulares de registro de medicamentos para a intercambialidade de medicamentos similares com o medicamento de referência. 2014.

BRASIL. **RDC nº 60 de 29 de maio de 2014**. Dispõe sobre os critérios para a concessão renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. 2014.

CHANG, Z. L. Analytical profiles of drug substances. **UK: Academic Press**, Londres, v. 17.

FDA. **United States Pharmacopoeia**. 32. ed, 2014.

HENRY, P. D. Comparative Pharmacology of Calcium Antagonists: Nifedipine, verapamil and diltiazem. **The American Journal of Cardiology**, v. 46, n. 5, 1980.

KASIM, N. A. et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional Biopharmaceutical Classification. **Mol. Pharm**, 2004.

MALESUIK, M. D. et al. Desenvolvimento de teste de dissolução e estudo comparativo de comprimidos e cápsulas magistrais contendo anlodipino. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, v. 27, n. 1, p. 37-49, 2006.

MHRA. **British Pharmacopeia**. London, 2013.

QUENTAL, C.; DE ABREU, J. C.; GADELHA, C. A. Medicamentos Genéricos no Brasil: impacto das políticas públicas sobre a indústria nacional. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 13, Janeiro 2008.

RODRIGUES, W. C. V.; SOLER, O. Licença compulsória do efavirenz no Brasil em 2007: contextualização. **Rev Panam Salud Publica**, 2009.

ROESC, G. C.; VOLPATO, N. M. A Harmonização da Avaliação Farmacopeica da Uniformidade de Doses Unitárias de Medicamentos. **Infarma**, 2010.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P.; QUINN, M. E.. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. [S.l.]: Pharmaceutical Press, 2009.

SANDSTRO, R. et al. Jejunal absorption and metabolism of R/Sverapamil in humans. **Pharm Res**, v. 15, p. 856-862, 1998.

STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V.O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Revista de farmácia e bioquímica da universidade de São Paulo*. v.31, n.2, p.63-70, 1995.

STORPIRTIS, S. et al. Biopharmaceutical considerations in the manufacturing of generic drug products: Aspects related to drug. **Rev. Bras. de Ciências Farm.**, v. 35, n. 1, 1999.

STORPIRTIS, S. et al. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. **Infarma**, v. 16, n. 9-10, 2004.

VALENTIM, J.; DI GIOVANNI, G. **Política de medicamentos genéricos: um estudo do caso brasileiro**. Unicamp. Campinas. 2003.

VOGELPOEL, H. et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutics Classification System (BCS) Literature Data: Verapamil hydrochloride, propranolol, hydrochloride and atenolol. **Wiley InterScience**, 2004.

# ANEXO I – Monografia individual para Comprimidos de Cloridrato de Verapamil, da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010.

Farmacopeia Brasileira, 5ª edição 873

## CLORIDRATO DE VERAPAMIL COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de  $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ .

### IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação **C.** e **D.** podem ser omitidos se forem realizados os testes **A.** e **B.**

**A.** Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 25 mg de cloridrato de verapamil para funil de separação. Adicionar 25 mL de água e agitar por 30 minutos. Adicionar 1 mL de hidróxido de sódio *M* e extrair com 25 mL de clorofórmio, agitando por 10 minutos. Filtrar através de filtro contendo sulfato de sódio anidro e evaporar até a secura. Secar a 105 °C por 2 horas. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) do resíduo, disperso em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de verapamil SQR, preparado de maneira idêntica.

**B.** O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

**C.** Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 0,1 g de cloridrato de verapamil para um béquer. Adicionar 10 mL de cloreto de metileno e homogeneizar. Filtrar, evaporar o filtrado até a secura e dissolver o resíduo em 10 mL de água. A 2 mL da solução resultante, adicionar 0,2 mL de solução de cloreto de mercúrio(II) a 5% (p/v). Produz-se precipitado branco.

**D.** A 2 mL da solução obtida no teste **C.** de *Identificação*, adicionar 0,5 mL de ácido sulfúrico 3 *M* e 0,2 mL de permanganato de potássio a 1,0% (p/v). Produz-se precipitado violeta que se dissolve rapidamente produzindo uma solução amarelo pálido.

### CARACTERÍSTICAS

**Determinação de peso (5.1.1).** Cumpre o teste.

**Teste de dureza (5.1.3.1).** Cumpre o teste.

**Teste de friabilidade (5.1.3.2).** Cumpre o teste.

**Teste de desintegração (5.1.4.1).** Utilizar 900 mL de ácido clorídrico 0,1 *M* como meio de desintegração. No máximo 30 minutos.

**Uniformidade de doses unitárias (5.1.6).** Cumpre o teste.

### TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

*Meio de dissolução:* 900 mL de ácido clorídrico 0,1 *M*.

*Aparelhagem:* pás, 50 rpm

*Tempo:* 30 minutos

*Procedimento:* após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em ácido clorídrico 0,1 *M* até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 278 nm e em 300 nm (5.2.14), utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de  $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$  dissolvida no meio, por meio da diferença entre as medidas em 278 nm e em 300 nm, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de verapamil SQR na mesma concentração, preparada no mesmo solvente.

*Tolerância:* não menos que 75% (Q) da quantidade declarada de  $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$  se dissolvem em 30 minutos.

### ENSAIOS DE PUREZA

**Pureza Cromatográfica.** Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

*Solução (1):* pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir para balão volumétrico de 25 mL uma quantidade de pó suficiente para se preparar uma solução de 1,9 mg/mL. Adicionar 15 mL de *Fase móvel* e agitar mecanicamente por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar.

*Solução (2):* dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 5,6 µg/mL.

*Solução (3):* dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 9,4 µg/mL.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 10 µL de cada solução. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos obtidos com a *Solução (1)*, exceto a do cloridrato de verapamil, não é maior que a área sob o pico obtido com a *Solução (3)* (0,5%). Nenhum pico apresenta área maior que a do pico obtido com a *Solução (2)* (0,3%).

**Água (5.2.20.1).** No máximo 4,0%.

### TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

**Contagem do número total de micro-organismos mesófilos (5.5.3.1.2).** Cumpre o teste.

**Pesquisa de micro-organismos patogênicos (5.5.3.1.3).** Cumpre o teste.

### DOSEAMENTO

*Empregar um dos métodos descritos a seguir.*

**A.** Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de cloridrato de verapamil para balão volumétrico

de 250 mL e dissolver em ácido clorídrico 0,01 M, com agitação. Completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Transferir 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,01 M. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Medir as absorvâncias das soluções em 278 nm, utilizando ácido clorídrico 0,01 M para ajuste do zero. Calcular a quantidade de  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$  nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

**B.** Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5  $\mu$ m), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

*Tampão acetato*: solução aquosa de acetato de sódio 0,01 M contendo ácido acético glacial a 3,3% (v/v).

*Fase móvel*: mistura de *Tampão acetato*, acetonitrila e dietilamina (65:35:1). Filtrar e desgaseificar.

*Solução amostra*: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 35 mg de cloridrato de verapamil para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 30 mL de *Fase móvel*. Agitar, mecanicamente, por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel*, homogeneizar e filtrar, de modo a obter solução a 70  $\mu$ g/mL.

*Solução padrão*: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de verapamil SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 70  $\mu$ g/mL.

*Solução de resolução*: dissolver quantidade de cloridrato de verapamil SQR e monoclórato de  $\alpha$ -[2-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]etil]-3,4-dimetoxi- $\alpha$ -(1-metiletil)benzoacetonitrila (verapamil composto relacionado B) SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 70  $\mu$ g/mL para cada composto.

Injetar replicatas de 10  $\mu$ L da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,88 para verapamil composto relacionado B e 1,0 para cloridrato de verapamil. A resolução entre os picos de verapamil composto relacionado B e de cloridrato de verapamil não é menor que 1,5. O desvio padrão entre as replicatas de injeção não é maior que 2,0%.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 10  $\mu$ L da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de  $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$  nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

## ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

**ANEXO II – Certificado de análise da Substância Química de Trabalho de cloridrato de verapamil utilizado.**



Piramal Healthcare Limited

knowledge action care

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT : VERAPAMIL HCl	COMPENDIA : USP-35
BATCH NO : VRP/M-12712	QUANTITY : 425 Kg
MFG. DATE : DECEMBER.2012	EXP. DATE : NOVEMBER.2017

QC A.R.No.: FP/140/2012

TESTS	RESULTS	SPECIFICATION
1. DESCRIPTION	White crystalline powder.	White or practically white, crystalline powder. Is practically odorless and has a bitter taste.
2. SOLUBILITY	Soluble in water, freely soluble in chloroform, sparingly soluble in Alcohol, practically insoluble in ether.	Soluble in water, freely soluble in chloroform, sparingly soluble in Alcohol, practically insoluble in ether.
3. IDENTIFICATION		
A. IR absorption	Sample spectrum concordant with working standard.	IR Absorption spectrum of the sample is concordant with that of Verapamil Hydrochloride USP Reference Standard / Working standard.
B. HPLC	Conforms	The retention time of the major peak for verapamil in the chromatogram of the test preparation corresponds to that exhibited in the chromatogram of standard preparation B, as obtained in the test for chromatographic purity. It responds to the tests for chloride.
C. CHLORIDES	Positive	Between 140° C to 144° C
4. MELTING RANGE	142°C - 143°C	Between 4.5 and 6.5
5. pH	4.7	Not more than 0.50% w/w
6. LOSS ON DRYING	0.18% w/w	Not more than 0.1% w/w
7. RESIDUE ON IGNITION	0.0% w/w	
8. CHROMATOGRAPHIC PURITY (By HPLC)		
1. Individual Impurity	0.05%	Not more than 0.10% w/w
2. Total Impurities	0.16%	Not more than 0.50% w/w
9. RESIDUAL SOLVENTS BY GC-MS		
CLASS-1 Residual Solvents	-	Not used in the process
CLASS-2 Residual Solvents		
a) Methanol	Not detected	Not more than 1500 ppm
b) Toluene	0 ppm	Not more than 200 ppm
CLASS-3 Residual Solvents		
a) Isopropyl Alcohol	Not detected	Not more than 5000 ppm
b) Acetone	Not detected	Not more than 5000 ppm
c) Ethyl Acetate	118 ppm	Not more than 5000 ppm
10. ASSAY (By Titration)	100.5% w/w	Not less than 99.0% and Not more than 101.0% w/w of C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> HCl
<b>ADDITIONAL TESTS</b>		
<b>PARTICLE SIZE:</b>		
(By Malvern Master Sizer)		
	d(0.1)	3 Microns
	d(0.5)	10 Microns
	d(0.9)	31 Microns
Average Particle Size		15 Microns

REMARKS: The above product conforms to USP-35 & Customer's specifications

Prepared by  
Executive-QC

Checked by  
Manager-QC

Approved by  
General Manager-QC

Factory - Digwal Village, Konir Mandal, Medak Dist. 502321, Andhra Pradesh, India  
 T. 91 8451 287508 F. 91 8451 207553 W. www.piramalhealthcare.com  
 Admin. Off - 5-9-30 Road # 4, Basheerbagh Palace Colony, Basheerbagh, Hyderabad 500 063, India  
 T. 91 40 2322 8719 F. 91 40 2326 6041 / 82  
 Regd. Off - Piramal Tower, Peninsula Corporate Park, Ganpatrao Kadam Marg, Lower Parel, Mumbai - 400 013  
 T. 91 22 3046 8888 F. 91 22 2493 6708