

Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de anlodipino em comprimidos e avaliação da equivalência farmacêutica

Development and validation of an analytical method for determination of amlodipine tablets and evaluation of pharmaceutical equivalence

Aline Marques Rosa¹, *Teófilo Fernando Mazon Cardoso*¹, Rúbia Adrieli Sversut¹, Joslaine de Oliveira Nunes¹, Marcos Serrou do Amaral² & Nájla Mohamad Kassab¹

¹Curso de Farmácia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

²Instituto de Física da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

Autor correspondente: Nájla Mohamad Kassab, Avenida Costa e Silva, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, CEP: 79070-900, telefone: (67) 3345-7367, Campo Grande – MS, Brasil, e-mail: nmkassab@gmail.com

RESUMO

Esse trabalho teve como objetivo validar uma metodologia analítica para determinação quantitativa de anlodipino em comprimidos e verificar a equivalência farmacêutica entre os medicamentos referência, genéricos e similares contendo anlodipino. O método foi desenvolvido empregando-se espectrofotometria ultravioleta, comprimento de onda de 366 nm e etanol:HCl 0,01M (50:50 v/v) como solvente. Para a determinação da equivalência farmacêutica executou-se os ensaios de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, doseamento e dissolução. Foi verificada a similaridade dos perfis de dissolução e a bula dos medicamentos genéricos (G1 e G2), similares (S1 e S2) e referência (R). O método desenvolvido mostrou-se linear ($r^2 > 0,99$), preciso (DPR < 1,0%), seletivo e robusto. A recuperação média foi 99,86% e os limites de quantificação e detecção foram 1,0 e 0,2 µg/mL, respectivamente. Os resultados dos ensaios de controle de qualidade demonstraram que as amostras G2 e S2 podem ser consideradas equivalentes farmacêuticos, enquanto que as amostras G1 e S1 reprovaram no ensaio de dureza. As amostras G1, S1 e S2 apresentaram perfis de dissolução estatisticamente diferentes. Diante desses resultados, verificou-se a necessidade de um sistema de fiscalização da qualidade e equivalência dos medicamentos mais atuante e rigoroso para prevenir possíveis danos à saúde da população.

Palavras-chave: Controle de qualidade, Anlodipino, Método analítico, Perfil de dissolução, Espectrofotometria.

ABSTRACT

This study aimed to validate an analytical method for quantitative determination of amlodipine in tablets and assess the pharmaceutical equivalence between pharmaceutical drug reference, generic and similar drugs containing amlodipine. An ultraviolet spectrophotometric method was developed with a detection wavelength of 366 nm; ethanol:HCl 0.01M (50:50 v/v) was used as solvent. Quality control tests of uniformity of weight, hardness, friability, disintegration, test and dissolution profile and analysis of leaflet were performed for commercially available reference (R), generic (G1 and G2), and similar drugs (S1 and S2) containing amlodipine, to determine their equivalence. The developed method was linear ($r^2 > 0.99$), precise (RSD $< 1.0\%$), selective and robust. The average recovery was 99.86% and the limits of detection and quantification were 0.2 and 1.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The results of the quality control tests showed that the samples G2 and S2 can be considered pharmaceutically equivalent, while the samples G1 and S1 were rejected in the hardness test. The samples G1, S1 and S2 showed statistically different dissolution profiles. Given these results, there is a need for a system that monitor the quality and equivalence of drugs more active and rigorous to prevent possible harm to the health of the population.

Keywords: Quality control, Amlodipine, Analytical Method, Dissolution Profile, Spectrophotometry.

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial, a qual está frequentemente associada a alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos como coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos e a alterações metabólicas, com conseqüente aumento do risco de doenças cardiovasculares (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2010; Brasil, 2006).

A alta prevalência e as baixas taxas de controle da HAS trazem grande impacto econômico e social pelo ônus imposto ao sistema de saúde e pelo reflexo na qualidade e expectativa de vida dos indivíduos, tornando-a um problema de saúde pública (Brondani *et al.*, 2012; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2010; Brasil, 2006).

Apesar da gravidade da doença e da exigência de um rigoroso controle de qualidade dos medicamentos usados para o tratamento da HAS, estudos recentes encontraram medicamentos anti-hipertensivos com desvio de qualidade (Abido & Knorst, 2014; Rigobello *et al.*, 2013; Bianchin *et al.*, 2012). Medicamentos produzidos inadequadamente, em desacordo com as normas e os procedimentos adotados pelos órgãos controladores, podem gerar danos incalculáveis na saúde dos usuários. O grande benefício da adequada produção de medicamentos é a garantia de que a população terá acesso a produtos seguros e eficazes (Andrade, Carvalho & Freitas, 2013).

O besilato de anlodipino, classificado como dihidropiridina de terceira geração, é um agente amplamente utilizado no tratamento da HAS e da angina. Atua principalmente nos canais de cálcio das arteríolas periféricas. O bloqueio do influxo de cálcio nas células musculares lisas das arteríolas promove vasodilatação e, conseqüentemente, redução da resistência vascular periférica (Malesuik *et al.*, 2006; Grahame-Smith & Aronson, 2002).

Embora o anlodipino seja um fármaco extensamente empregado na terapêutica anti-hipertensiva em combinação com outros anti-hipertensivos (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2010), ainda não há monografia inscrita nas Farmacopeias Brasileira (2010) e Britânica (2013) para formas farmacêuticas. Métodos de identificação e doseamento para anlodipino em comprimidos é descrito apenas nas Farmacopeias Indiana (2007) e Americana (2011), sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a metodologia de escolha para a determinação quantitativa de anlodipino na forma farmacêutica de comprimidos.

Atualmente, existe um mercado competitivo de medicamentos, com uma diversidade de marcas que beneficia a sociedade devido à possibilidade de escolha e à redução de custos do produto. No entanto, além de metodologias analíticas confiáveis para atestar a qualidade desses medicamentos,

é necessário a realização de testes para verificar a equivalência farmacêutica entre medicamentos de referência, genéricos e similares (Bortoluzi & Laporta, 2008).

A intercambialidade entre os medicamentos baseia-se no conceito de equivalência terapêutica entre os mesmos. Esta é assegurada pela comprovação da equivalência farmacêutica, bioequivalência, boas práticas de fabricação e controle de qualidade (Pugens, Donaduzzi & Melo, 2008).

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da molécula terapeuticamente ativa), dosagem e forma farmacêutica e devem cumprir com os mesmos requisitos da monografia individual, o que pode ser avaliado por meio de testes *in vitro* (Brum *et al.*, 2012; Bortoluzi & Laporta, 2008; Linsbinski, Musis & Machado 2008; Pugens, Donaduzzi & Melo, 2008; Storpirtis *et al.*, 2004).

A capacidade de um fármaco estar disponível para ser absorvido é avaliada através de estudos de dissolução, que permite inferir sobre o perfil de liberação de um fármaco de sua forma farmacêutica de origem, através da análise em tempos pré-determinados. A dissolução pode ser afetada significativamente pelas características do próprio fármaco, bem como pela presença de excipientes que favorecem ou dificultam a dissolução, além das técnicas de fabricação empregadas (Brum *et al.*, 2012).

Apesar da importância do anlodipino no tratamento da hipertensão arterial sistêmica, poucos trabalhos foram encontrados na literatura científica sobre desenvolvimento de metodologias analíticas e avaliação da qualidade desse fármaco. Além disso, as metodologias disponíveis apresentam desvantagens como alto custo dos equipamentos, utilização de solventes orgânicos de difícil descarte, emprego de reações químicas e longo tempo de análise (Basavaiah, Chandrashekar & Nagegowda, 2005; Malesuik, 2005; Baranda, Jiménez & Alonso, 2004).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia analítica empregando a espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) para determinação quantitativa de anlodipino em formas farmacêuticas sólidas de uso oral, verificar a equivalência farmacêutica e comparar os perfis de dissolução entre amostras de medicamento referência, genéricos e similares contendo anlodipino.

MATERIAL E MÉTODOS

Substância química de referência e amostras comerciais

A matéria-prima besilato de anlodipino com teor 100,9%, fator de correção de 1,39, lote ALK1MLJ53A procedente da indústria farmacêutica Gemini e fabricada pela indústria Cadila

Healthcare, foi adquirida de farmácia magistral do comércio local, sendo caracterizada de acordo com os testes descritos na Farmacopeia Indiana (2007) e foi utilizada como substância química de referência (SQR) sem purificação ulterior. As amostras comerciais, designadas como referência (R), genérico 1 (G1), genérico 2 (G2), similar 1 (S1) e similar 2 (S2) foram adquiridas de farmácias e drogarias também do comércio local.

Equipamentos, reagentes e solventes

Para a realização desse estudo foram empregados como solventes: água destilada, ácido clorídrico (Vetec®), etanol (Cromoline®), acetonitrila (Vetec®), metanol (Vetec®) e hidróxido de sódio (Vetec®). Os equipamentos utilizados foram: ultrassom (Unique®), durômetro (Nova Ética®), friabilômetro (Marconi®), desintegrador (Nova Ética®), dissolutor (Logen Scientific®), balança analítica (Shimadzu® AY220), espectrofotômetro UV/VIS (Thermo scientific®) e cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

Validação da metodologia analítica

Para o desenvolvimento do método foi empregado espectrofotometria na região do ultravioleta, utilizando comprimento de onda de 366 nm e como solvente a mistura de ácido clorídrico 0,01 M e etanol na proporção 50:50 v/v.

O método proposto foi validado conforme a International Conference on Harmonization (ICH, 2005), a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006) e a Resolução 899/2003 (Brasil, 2003) avaliando parâmetros como: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limites de quantificação (LQ) e detecção (LD).

Seletividade

Preparou-se uma solução de placebo, utilizando os excipientes presentes na amostra comercial referência, na concentração usualmente empregada em comprimidos (celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio) a fim de determinar possíveis interferências dos excipientes contidos nesta formulação, em relação à metodologia analítica desenvolvida (Rowe, Sheskey e Quinn, 2009).

Linearidade

A linearidade foi determinada através da curva de calibração preparada da seguinte forma: diluiu-se 27,8 mg da SQR besilato de anlodipino (equivalente a 20,0 mg de anlodipino) com o solvente (HCl 0,01 M : etanol, 50:50 v/v) em balão volumétrico de 100 mL e obteve-se a solução

estoque de 200,0 µg/mL. Diluições seriadas foram realizadas a fim de resultar nas concentrações de 2,0; 6,0; 10,0; 14,0; 18,0; 22,0; 26,0 e 30,0 µg/mL.

Com os valores das absorvâncias resultantes plotados no eixo y em função da concentração (eixo x) foi calculado o coeficiente de correlação e a equação da reta.

Precisão

Este parâmetro foi avaliado através dos métodos de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi determinada pela análise de seis determinações da mesma solução preparada a partir da amostra comercial, de concentração 10,0 µg/mL. A precisão intermediária foi determinada em sextuplicata, durante três dias, na concentração anteriormente mencionada. A partir dos resultados obtidos foram calculados o desvio padrão (DP) e o desvio padrão relativo (DPR).

Exatidão

A exatidão expressa, em porcentagem, foi avaliada a partir da adição e recuperação de quantidades conhecidas de anlodipino (SQR), na amostra. Foram preparadas soluções contendo anlodipino SQR e proveniente da amostra comercial nas concentrações finais de 10,0; 14,0; 16,0 e 18,0 µg/mL, sendo a concentração da amostra constante de 10,0 µg/mL.

O teste foi realizado em triplicata e a porcentagem de recuperação foi calculada como indicado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006).

Robustez

Para a avaliação da robustez do método as condições consideradas ideais (comprimento de onda de 366 nm, proporção do solvente 50:50 v/v (etanol:ácido clorídrico 0,01 M), temperatura de 25 °C e 10 minutos de tempo de sonicação) foram alteradas da seguinte forma: comprimento de onda, 364 e 368 nm, proporção do solvente, 45:55 e 55:45 ácido clorídrico 0,01M: etanol, temperatura, 20 e 30 °C, e tempo de sonicação, 5 e 15 minutos.

As análises foram realizadas em triplicata e ao final foi calculado o teor de anlodipino para cada variação e verificado se este se manteve ou não dentro do preconizado pelas Farmacopeias Indiana e Americana, isto é, 90 a 110% (Farmacopeia Americana, 2011; Farmacopeia Indiana, 2007).

Limite de detecção e quantificação

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram determinados por meio de cálculos conforme equações (a) e (b) descritas abaixo (Brasil, 2003). O LQ experimental foi obtido através da diluição seriada a partir da menor concentração da curva de calibração e estabeleceu-se como o LQ a

concentração cuja leitura espectrofotométrica apresentou desvio padrão relativo (DPR) máximo de 5,0%. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

$$a) LQ = (DP \div a) \times 10$$

O limite de detecção foi determinado a partir de cálculos:

$$b) LD = (DP \div a) \times 3$$

Onde: DP = Desvio padrão da curva de calibração, a = inclinação da reta.

Estudos de equivalência farmacêutica

A qualidade das amostras comerciais foi verificada através dos ensaios de peso médio, friabilidade, dureza, desintegração, doseamento, teste e perfil de dissolução. Os quatro primeiros testes foram realizados de acordo com o estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (2010). Para a determinação do teor de anlodipino presente nas amostras empregou-se as condições do método validado neste trabalho.

O teste e perfil de dissolução foram realizados simultaneamente conforme recomendado pela Farmacopeia Indiana (2007), empregando 6 comprimidos de cada produto acabado, meio de dissolução 900 mL de HCl 0,01 M a 37 °C, aparato cesta e velocidade de 75 rpm. Foram coletadas e repostas alíquotas de 10 mL nos tempos 1, 3, 5, 10, 15, 30 e 45 minutos. As porcentagens dissolvidas foram determinadas utilizando a equação da reta ($y = 0,0428x + 0,0077$) da curva de calibração ($r^2 = 0,9999$) construída para esse ensaio em espectrofotômetro a 239 nm, empregando ácido clorídrico 0,01 M para zerar o equipamento. Os perfis de dissolução foram comparados estatisticamente, utilizando os valores de Eficiência de Dissolução (ED%), por Análise de Variância (ANOVA fator único), para avaliar se existia diferença significativa entre os resultados obtidos e, logo após, o Teste t foi aplicado para determinar quais formulações eram semelhantes e quais eram estatisticamente diferentes.

As informações das bulas dos medicamentos também foram verificadas de acordo com o preconizado pela RDC nº 47/2009 (Brasil, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação do método analítico

Para a escolha do solvente e comprimento de onda empregados, preparou-se uma solução de besilato de anlodipino na concentração de 20,0 µg/mL (equivalente a 14,4 µg/mL de anlodipino base) e vários testes foram realizados com diferentes solventes, como ácido clorídrico 1,0 M, 0,1 M e 0,01 M; hidróxido de sódio 1,0 M, 0,1 M e 0,01 M; acetonitrila, acetonitrila:água (50:50 v/v); metanol,

metanol:água (50:50 v/v); etanol, etanol:água (50:50 v/v) e etanol:HCl 0,01 M (50:50 v/v), realizando varredura na região do ultravioleta de 200 a 400 nm. A maior absorvância e o menor DPR foram obtidos em 366 nm com a mistura de etanol e ácido clorídrico 0,01 M na proporção de 50:50 v/v.

Após a análise dos excipientes dos comprimidos, comprovou-se a seletividade e especificidade do método, pois as substâncias inertes não apresentaram valor de absorvância no comprimento de onda de 366 nm, como pôde ser observado na Figura 1, o que possibilitou a continuidade dos ensaios para a validação sem interferências por parte dos excipientes.

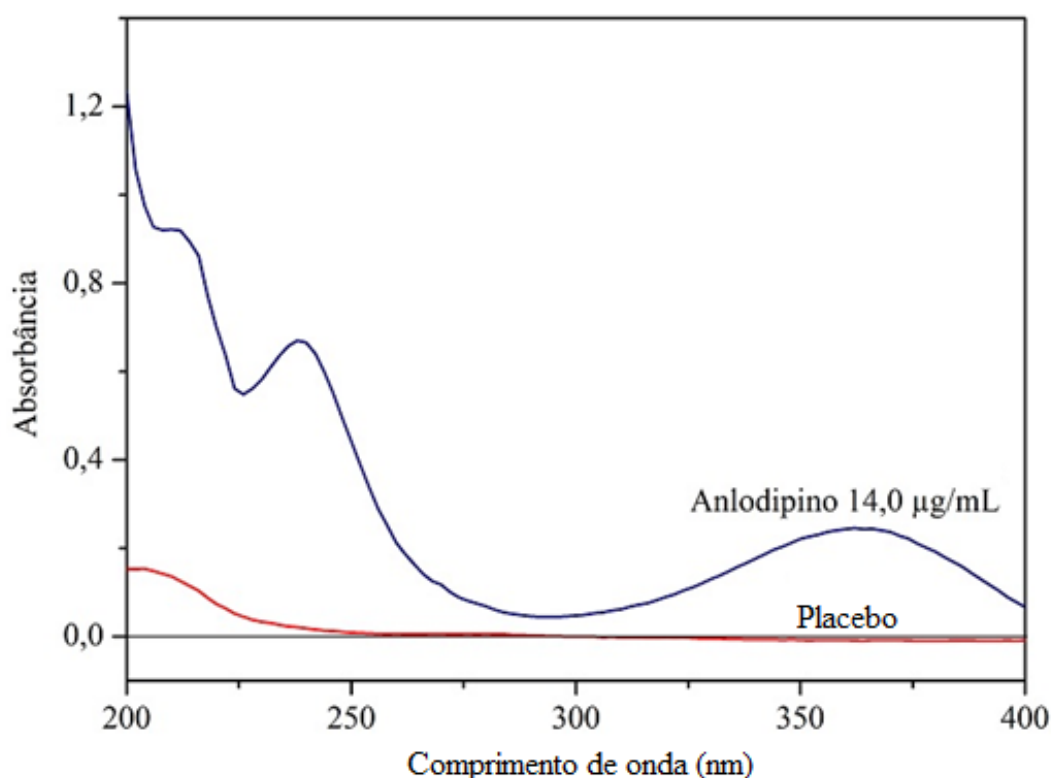


Figura 1: Representação gráfica do espectro de absorção na região do UV dos excipientes (placebo - linha vermelha) e da solução de anlodipino na concentração de 14,0 µg/mL (linha azul escura).

A linearidade do método foi demonstrada através da curva de calibração, com equação da reta $y = 0,0174x - 0,0027$ e coeficiente de correlação $r^2 = 0,9997$, uma vez que a RE 889/2003 considera como critério aceitável coeficiente de correlação igual ou maior que 0,99. A curva analítica obtida, utilizando-se as concentrações de 2,0 a 30,0 µg/mL, demonstrou que os valores de absorvância são diretamente proporcionais às concentrações do analito, o que permitiu a utilização dessa curva para a interpolação dos valores obtidos com as amostras comerciais.

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade e precisão intermediária, ambas apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados obtidos na análise da precisão intermediária e da repetibilidade através do método proposto.

	Concentração teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Teor encontrado \pm DPR (%)
Repetibilidade*	10	96,95 \pm 0,54
Precisão intermediária		
Dia 1*	10	97,53 \pm 0,70
Dia 2*	10	96,95 \pm 0,49
Dia 3*	10	97,53 \pm 0,75
Média \pm DPR (%)**		97,34 \pm 0,28

*média de 6 determinações.

**média dos 3 dias.

Como pôde ser observado, ambos os testes comprovaram a precisão do método, uma vez que o desvio padrão relativo (DPR) foi inferior a 1% e a RE 899/2003 estabelece 5% como limite para o DPR no ensaio da precisão (Brasil, 2003).

Os resultados experimentais obtidos para o teste de exatidão encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados obtidos na análise da exatidão através do método proposto.

Concentração adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração encontrada* ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação (%)	Recuperação média (%)
4,00	3,97	99,14	
6,00	6,03	100,57	99,86 \pm 0,72
8,00	7,99	99,86	

*média de três determinações

De acordo com os dados encontrados, verificou-se que para todas as concentrações experimentais utilizadas os teores percentuais de recuperação encontram-se dentro dos limites especificados, 98-102%, confirmando a adequada exatidão do método (ICH, 2005).

O método mostrou-se robusto, pois as mudanças propositalmente realizadas neste ensaio proporcionou uma pequena variação no teor do fármaco de 96,94 a 99,01%, mantendo-se dentro do

estabelecido pelas monografias oficiais (Farmacopeia Indiana, 2007; Farmacopeia Americana, 2011). Nas condições normais o teor encontrado foi de 97,94%. Portanto, os parâmetros variados no estudo de robustez do método não alteraram significativamente este resultado.

O limite de quantificação teórico e experimental foi de 0,6 µg/mL e 1,0 µg/mL, respectivamente e o limite de detecção teórico para o método proposto foi de 0,2 µg/mL. A realização do ensaio experimental teve como intuito checar se o valor teórico obtido pode ser mesmo alcançado. Os resultados demonstraram uma pequena discrepância entre os valores.

Esses resultados demonstram o quão sensível foi o método desenvolvido, pois conseguiu detectar o fármaco em concentrações muito menores do que outros métodos já desenvolvidos, mesmo utilizando o comprimento de onda de 366 nm, que não é o de absorção máxima. Um exemplo é o método desenvolvido por Malesuik (2005) também por espectrofotometria ultravioleta, onde os limites de quantificação e detecção encontrados foram 4,4 e 1,4 µg/mL, respectivamente.

Outra vantagem do método proposto e validado neste trabalho foi a utilização de equipamentos e solventes de baixo custo e de baixa toxicidade, enquanto a maioria dos métodos encontrados na literatura para determinação de anlodipino utilizam equipamentos de alto valor econômico e solventes tóxicos, como acetonitrila e metanol (Paramita *et al.*, 2012; Kondawar *et al.*, 2011; Patil *et al.*, 2009; Pedroso, 2009; Barman *et al.*, 2007; Basavaiah, Chandrashekar & Nagegowda, 2005; Malesuik, 2005; Baranda, Jiménez & Alonso, 2004).

Estudos de equivalência farmacêutica

De acordo com a RDC 47/2009 deve estar descrito na bula dos medicamentos a composição qualitativa, conforme DCB, quantitativa e a equivalência sal-base, quando aplicável do(s) princípio(s) ativo(s). Ao analisar as bulas das amostras comerciais, constatou-se que a quantidade de besilato de anlodipino foi omitida na descrição da composição do medicamento referência, constando apenas a quantidade de anlodipino base, o que caracteriza uma não conformidade em relação à legislação (Brasil, 2009).

Todas as amostras foram aprovadas nos ensaios de variação de peso, friabilidade e desintegração (Tabela 3), pois cumpriram o especificado pela Farmacopeia Brasileira (2010). No doseamento, os produtos acabados também foram aprovados, uma vez que o teor de anlodipino encontrado esteve dentro do intervalo de 90 a 110%, conforme estabelece as Farmacopeias Americana e Indiana (Farmacopeia Americana, 2011; Farmacopeia Indiana, 2007).

Na determinação da resistência mecânica dos comprimidos pelo ensaio da dureza, as amostras G1 e S1 foram reprovadas, pois os comprimidos racharam e/ou quebraram a uma força menor que 30 N (Buttow *et al.*, 2012; Farmacopeia Brasileira, 1988). Durante a realização dos estudos de

equivalência farmacêutica, alguns comprimidos da amostra G1 se quebraram ao serem removidos manualmente da embalagem primária, demonstrando a fragilidade do produto.

Tabela 3: Resultados de variação de peso, friabilidade, doseamento, desintegração e dureza das amostras R, G1, G2, S1 e S2.

Ensaio	Amostras				
	R	G1	G2	S1	S2
Peso médio (mg) ± DPR (%)	403,3 ± 1,17	242,7 ± 0,81	388,4 ± 2,08	356,5 ± 0,95	322,4 ± 1,20
Friabilidade (%)	0,46	0,26	0,05	0,70	0,05
Teor ± DPR (%)	98,67 ± 0,17	99,75 ± 0,62	99,03 ± 0,62	99,75 ± 0,62	99,75 ± 1,03
Desintegração (segundos)	30	25	29	23	28
Dureza (N)	78	29	56	28	110

Na análise das bulas das amostras comerciais, foi observado que as amostras G1 e S1 não possuem a mesma composição de excipientes do medicamento referência, o que pode explicar a reprovação no ensaio da dureza, já que ambas possuem dióxido de silício como um dos excipientes diferentes e esse adjuvante diminui a fricção interparticular e a tendência à coesão (Sausen, 2007).

Outro fator que pode ter diminuído a dureza e aumentado a friabilidade da amostra S1, é a concentração utilizada do estearato de magnésio, pois de acordo com Sausen (2007) quanto maior a proporção desse excipiente na formulação, maior será o efeito negativo na dureza, diminuindo-a, enquanto que na friabilidade o efeito será positivo, aumentando-a. Dessa forma, dependendo da concentração utilizada, o adjuvante em questão, pode ter influenciado negativamente na resistência mecânica.

No teste de dissolução todas as amostras foram aprovadas, pois ao final dos 45 minutos, já haviam liberado 100% do fármaco, sendo considerado aprovado pela monografia oficial quando ao final do tempo de 45 minutos, 70% ou mais da quantidade de princípio ativo for liberada (Farmacopeia Indiana, 2007).

A comparação de perfis de dissolução é útil para se conhecer o comportamento dos medicamentos antes de submetê-los ao estudo de bioequivalência e é obrigatório para solicitação de

registro de produtos (Rigobello *et al.*, 2013). Os perfis de dissolução das amostras referência (R), genérico 1 (G1), genérico 2 (G2), similar 1 (S1) e similar 2 (S2) estão apresentados na Figura 2.

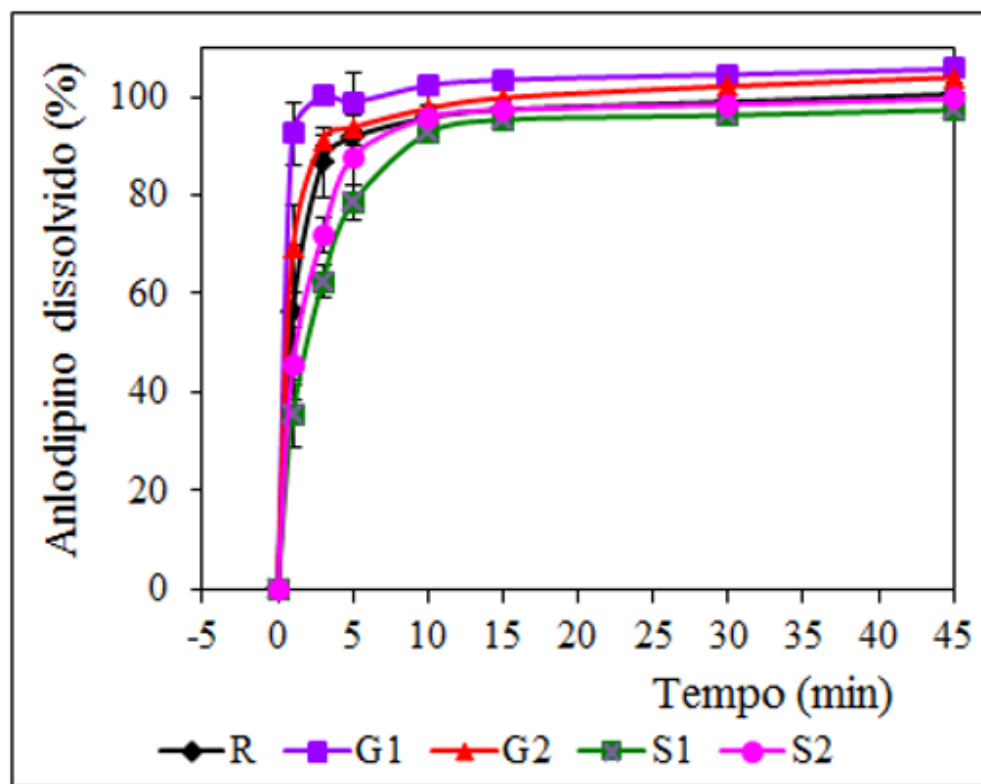


Figura 2: Perfil de dissolução das amostras referência (R), genérico 1 (G1), genérico 2 (G2), similar 1 (S1) e similar 2 (S2) com seus respectivos desvios-padrão representados pelas barras.

De acordo com a RDC 31/2010 que dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo, a comparação da curva obtida no ensaio de perfil de dissolução é comparada empregando-se o Método Modelo Independente Simples em que se emprega um fator de similaridade (F2). Entretanto, as amostras analisadas nesse trabalho são consideradas de dissolução muito rápida, ou seja, quando ocorre dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em até 15 minutos. Para estes casos o fator F2 perde o seu poder discriminativo e, portanto, não é necessário calculá-lo. Entretanto, o coeficiente de variação no ponto de 15 minutos, relativo às médias de liberação do fármaco nas seis cubas, não pode exceder 10%, confirmando a alta solubilidade do composto (Brasil, 2010).

Dessa forma, a determinação da similaridade foi feita pela Eficiência de Dissolução (ED%), calculada pela medida das áreas sob a curva dos perfis de dissolução de cada produto. Os valores de ED% obtidos foram: 96,11, 102,02, 98,04, 89,81 e 93,23% para as amostras R, G1, G2, S1 e S2, respectivamente. Os coeficientes de variação encontrados no ponto de 15 minutos foram 1,90, 1,86,

2,71, 0,92 e 1,42% para as amostras R, G1, G2, S1 e S2, respectivamente, todos abaixo de 10%, conforme preconizado pela RDC 31/2010 (Brasil, 2010).

A análise de variância (ANOVA) e o Teste t, foram realizados a partir dos dados de ED% para comparar os medicamentos genéricos e similares com o medicamento referência separadamente. As amostras G1, S1 e S2 apresentaram diferenças estatisticamente significativas com relação à amostra R (referência), sendo $p < 0,05$ ($0,00026$, $9,83 \times 10^{-6}$ e $0,0051$ para G1, S1 e S2, respectivamente). Para determinar se as diferenças encontradas entre os perfis de dissolução acarretam ou não em alterações da resposta clínica ao tratamento, é necessário a realização dos testes de biodisponibilidade relativa *in vivo* (ANVISA, 2014).

Já a amostra G2 não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao medicamento referência, uma vez que o valor de p encontrado para essa amostra foi 0,098.

A RDC nº 134, publicada em 02 de junho de 2003, determina que todas as classes de medicamentos similares sejam submetidas aos testes de equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa até 2014 para comprovação científica de que produzem o mesmo efeito, na mesma dosagem e no mesmo tempo gasto pelo medicamento de referência (Brasil, 2004).

A RDC nº 58 de 10 de outubro de 2014 determina que será considerado intercambiável o medicamento similar cujos estudos de equivalência farmacêutica, biodisponibilidade relativa/bioequivalência ou bioisenção tenham sido apresentados, analisados e aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essa resolução já entrará em vigor em 1º de janeiro de 2015 (Brasil, 2014), entretanto, a partir dos resultados encontrados, pode-se afirmar que apenas uma das amostras de medicamentos similares analisadas nesse estudo pôde ser considerada equivalente farmacêutico.

Também foi possível evidenciar, com esse trabalho, que o sistema atual de fiscalização da equivalência farmacêutica entre medicamentos genéricos e referência pode ser falho, uma vez que a amostra comercial G1 foi reprovada no teste de dureza. O resultado encontrado para a amostra S1 nesse mesmo ensaio também coloca em dúvida a eficiência do laboratório de controle de qualidade da indústria farmacêutica.

Vários estudos de equivalência farmacêutica de medicamentos genéricos e similares comercializados no mercado nacional têm demonstrado diferença significativa no perfil de liberação do fármaco das diferentes preparações, alertando para a possível falta de intercambialidade (Brum *et al.*, 2012; Mahle *et al.*, 2007).

Malesuik *et al.* (2006) realizaram um estudo comparativo visando avaliar a equivalência de dez medicamentos (comprimidos e cápsulas) contendo anlodipino por meio de testes físicos e físico-

químicos, tais como: variação de peso, desintegração, dureza, friabilidade, identificação, teor, uniformidade de conteúdo, teste e perfil de dissolução. Uma das amostras na forma farmacêutica cápsula foi reprovada no teste de uniformidade de conteúdo, enquanto uma amostra de comprimido foi reprovada no ensaio de dureza.

Linsbinski, Muis e Machado (2008) avaliaram a equivalência farmacêutica de comprimidos de captopril distribuídos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) da cidade de Cuiabá-MT. Nos ensaios para determinação de peso médio, tempo de desintegração e dissolução todas as amostras foram aprovadas. No entanto, um medicamento genérico foi reprovado no teste de friabilidade e um similar não cumpriu as especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira no teste de uniformidade de conteúdo e ambos, genérico e similar, não apresentaram perfil de dissolução semelhante ao medicamento de referência.

Bianchin *et al.* (2012) avaliaram a qualidade dos comprimidos de enalapril e propranolol distribuídos na rede pública de saúde de um município catarinense durante um ano. De um total de sete lotes, cinco apresentaram desvio de qualidade no aspecto visual, peso médio, friabilidade e teor de princípio ativo.

Em 2013, Rigobello e colaboradores avaliaram comprimidos de cloridrato de propranolol 40 mg, por meio de testes físicos e físico-químicos de qualidade. Os resultados obtidos no perfil de dissolução demonstraram que nem os dois lotes distintos analisados do medicamento referência eram estatisticamente semelhantes.

Um estudo recente desenvolvido por Abido e Knorst (2014) avaliou oito especialidades farmacêuticas de comprimidos de captopril, incluindo o medicamento de referência, genéricos e similares, em relação ao peso médio, friabilidade, desintegração, uniformidade de conteúdo, quantificação da substância ativa e dissolução. Ao final das análises, uma amostra de medicamento genérico foi reprovada no teste de friabilidade e uma amostra de medicamento similar não cumpriu o teste de dissolução.

A qualidade para medicamentos é um atributo de caráter não apenas comercial, mas também, legal, ético e moral. Enquanto a qualidade para muitos produtos é uma questão de competitividade, no campo da saúde deve ser obrigatoriamente atendida e o não cumprimento de especificações de qualidade consideradas imprescindíveis, pode ter sérias implicações (Linsbinski, Muis & Machado, 2008).

CONCLUSÕES

O método desenvolvido mostrou-se confiável para a determinação de anlodipino em formas farmacêuticas sólidas de uso oral, uma vez que não houve interferência dos solventes e excipientes no comprimento de onda de 366 nm. O método apresentou-se linear, preciso, exato, eficiente e econômico, o que possibilita seu uso nas análises de rotina dos laboratórios de controle de qualidade.

No estudo de equivalência farmacêutica, as amostras G1 e S1 foram reprovadas no teste de dureza. As amostras G2 e S2 podem ser consideradas equivalentes farmacêuticos, pois foram aprovadas em todos os ensaios. Quanto ao perfil de dissolução, apenas a amostra G2 não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparada ao referencial. O medicamento referencial apresentou desvio de qualidade na bula por omitir a quantidade de besilato de anlodipino e o fator de equivalência empregado na formulação.

Quando se trata de medicamentos, a falta de qualidade pode acarretar em danos incalculáveis e irreparáveis à saúde da população. Diante dos resultados encontrados, pôde-se verificar a necessidade de um sistema de fiscalização da qualidade e equivalência dos medicamentos mais atuante e rigoroso, uma vez que apenas duas das cinco amostras foram aprovadas em todos os testes realizados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FUNDECT (Fundação De Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado De Mato Grosso Do Sul) pelo apoio financeiro concedido (processo nº23/200.265/2014), Chamada FUNDECT N° 11/2014 – UNIVERSAL-MS.

REFERÊNCIAS

Abido A & Knorst, MT. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril comercializados no Brasil. *Rev. Bras. Farm.* 90(1): 529 – 600, 2014.

Andrade DF, Carvalho JS, Freitas MB. Qualidade de cápsulas de fluoxetina disponibilizadas pelo Sistema Único de Saúde: estudo in vitro das condições do ensaio de dissolução. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 34(2): 199 - 205, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Recomendações para realização de ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI). Disponível em

< http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/recomenda/recomenda_dissolucao2.pdf>. Acesso em: 03 dez. 2014.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 18 ed. 2006.

Baranda AB, Jiménez RM, Alonso RM. Simultaneous determination of five 1,4-dihydropyridines in pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography-amperometric detection. *J. Chromatogr. A.* 103(1-2): 275 - 280, 2004.

Barman RK, Islam MAU, Ahmed M, Wahed MII, Islam R, Khan A, Hossain MB, Rahman BM. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of atenolol and amlodipine in pharmaceutical-dosage form. *Pak. J. Pharm. Sci.* 20(4): 274-279, 2007.

Basavaiah K, Chandrashekar U, Nagegowda P. Spectrophotometric and High Performance Liquid Chromatographic Determination of Amlodipine Besylate in Pharmaceuticals. *Sci. Asia.* 31: 13-21, 2005.

Bianchin MD, Blatt CR, Soares AS, Guerreiro ICK. Avaliação da qualidade de comprimidos de propranolol e enalapril distribuídos no sistema público de saúde em uma cidade do sul do Brasil. *Ci. Saúde Col.* 17(2): 491 - 498, 2012.

Bortoluzi P & Laporta LV. Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos contendo cimetidina. *Disc. Scientia.* 9(1): 21 - 38, 2008.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 134: qualidade, segurança e eficácia dos similares. *Bol. Informat.* (50): 4 – 5, 2004.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 31, de 11 de agosto de 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 58, de 10 de outubro de 2014.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 47, de 08 de setembro de 2009.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução (RE) nº 899, de 29 de maio de 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Hipertensão arterial sistêmica para o Sistema Único de Saúde. Cadernos de Atenção Básica nº 15. Brasília, DF, 2006. 51p.

Brondani S, Cadó T, Genehr S, Pereira L, Piloneto A, Silva MR, Frigo FL. Hipertensão arterial: abordagem interdisciplinar na atenção básica, uma revisão bibliográfica. 2012. Disponível em: <<http://www.unifra.br/eventos/forumfisio/Trabalhos/5038.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2014.

Brum TF, Laporta LV, Júnior FRP, Gonçalves CA, Santos MR. Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos genéricos contendo paracetamol. *Rev. Ci. Farm. Básica Apl.* 33(3): 373 - 378, 2012.

Buttow AA, Primo FT, Rocha ASR, Hertzog GI, Ferreira M, Nogueira BB. Avaliação do processo de partição em comprimidos de hidroclorotiazida. *Rev. Ci. Farm. Básica Apl.* 33(4): 555 - 560, 2012.

Farmacopeia Americana. 34 ed. The United States Pharmacopeial Convention, 34. ed. Rockville, Estados Unidos da América, 2011.

Farmacopeia Brasileira. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2010.

Farmacopeia Brasileira. 4. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 1988.

Farmacopeia Britânica. London: Her Majesty's Stationery Office, v.1, 2013.

Farmacopeia Indiana. The Controller of Publication, 5a. Nova Deli, 2007.

Grahame-Smith DG & Aronson JK. Tratado de farmacologia clínica e farmacoterapia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

International Conference on Harmonisation. Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical procedures: Text and Methodology – Q2(R1): Current Step 4 version Parent Guideline. Geneva: ICH Steering Committee; Commission of the European Communities, 2005.

Kondawar MS, Kamble KG, Raut KS, Maharshi KH. UV Spectrophotometric estimation of amlodipine besylate and telmisartan in bulk drug and dosage form by multiwavelength analysis. *Int. J. Chem. Tech. Research.* 3(3): 1274 - 1278, 2011.

Linsbinski LM, Musis CR, Machado SRP. Avaliação da equivalência farmacêutica de comprimidos de captopril. *Rev. Bras. Farm.* 89(3): 214 -n219, 2008.

Mahle F, Goelzer F, Adriano J, Felipe M, Vier N, Carli RBG, Rosa T, Couto AG, Lucinda-Silva RM. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. *Rev. Ci. Farm. Básica Apl.* 28(3): 265 - 271, 2007.

Malesuik MD, Cardoso SG, Lanzanova FA, Barjerski L, Dorigoni E. Desenvolvimento de teste de dissolução e estudo comparativo de comprimidos e cápsulas magistrais contendo anlodipino. *Rev. Ci. Farm. Básica Apl.* 27(1): 37 - 49, 2006.

Malesuik MD. *Desenvolvimento e validação de metodologia para análise de besilato de anlodipino em formas farmacêuticas.* 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria.

Paramita D, Sandip P, Radhika PP, Subramanyam EVS, Sharbaraya A. Simultaneous estimation of aliskiren and amlodipine in tablet dosage form by UV spectroscopy. *Int. J. Drug Develop. Research.* 4(2): 265 - 270, 2012.

Patil PR, Rakesh SU, Dhabale PN, Burade KB. Simultaneous estimation of ramipril and amlodipine by UV spectrophotometric method. *Research J. Pharm. Tech.* 2(2): 304 - 307, 2009.

Pedroso CF. *Desenvolvimento e validação de um método por CLAE, para determinação simultânea de losartano e anlodipino em associações utilizadas no tratamento da hipertensão arterial.* 2009. Curitiba. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná. Paraná.

Pugens AM, Donaduzzi CM, Melo EB. Controle de qualidade total e equivalência farmacêutica de três apresentações de captopril. *Rev. Eletr. Farm.* 5(1): 32 - 45, 2008.

Rigobello C, Gasparetto AV, Diniz A, Rabito MF, Nery MMF. Avaliação da qualidade e perfil de dissolução de comprimidos de cloridrato de propranolol. *Acta Scientiarum.* 35(1): 85 - 90, 2013.

Rowe RC, Sheskey PJ & Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipients. 6. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009. 888p.

Sausen TR. *Desenvolvimento de comprimidos de clozapina obtidos pelo método de compressão direta*. 2007. Porto Alegre. 164 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq. Bras. Cardiol.* 95(1): 1 - 51, 2010.

Storpirtis S, Marcolongo R, Gasparotto FS, Vilanova CM. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. *Infarma.* 16(9-10): 51-56, 2004.