DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAR A DISSOLUÇÃO DE CINARIZINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD TO QUANTIFY THE DISSOLUTION OF CINARIZIN IN CAPSULES COMPOUNDED

COSTA JUNIOR, Gilberto Ferreira da¹; DA SILVA, Derly Oliveira²; CARNEIRO, Wilsione José^{3*}.

^{1,2,3} Universidade Federal de Mato Grosso, Curso de Farmácia, Campus Universitário do Araguaia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Avenida Valdon Varjão, nº 6.390, CEP: 78600-000, Barra do Garças – MT, (fone: (66) 3402-0719)

**Autor correspondente*
e-mail: wilsione.carneiro@hotmail.com

Received 28 October 2018; received in revised form 03 December 2018; accepted 04 December 2018.

RESUMO

A cinarizina (CIN) é usada no tratamento de distúrbios circulatórios cerebrais, circulatórios periféricos e de equilíbrio. Foi desenvolvido e validado um método analítico para determinar a dissolução de cinarizina em cápsulas magistrais, através da espectrofotometria com detecção no ultravioleta. Utilizaram-se as resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária de número 899 de 29 de maio de 2003 e 166 de 24 de julho de 2017 como sendo o guia para validação de métodos analíticos. A CIN apresentou alta solubilidade em ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ a 37°C (9,43 mg mL⁻¹), seletividade/especificidade na presença de outros componentes (0,35 %), espectro de absorção máxima em 251 nm; linearidade ($r = 0,9993$); precisão (DPR _{Precisão rep.}: 0,09 %; DPR _{Precisão inter.}: 1,10 %); exatidão (CQB = 99,9 % , CQM= 99,5 % , CQA= 100,7 %); limites de detecção e quantificação de 0,042 µg mL⁻¹ e 0,42 µg mL⁻¹, respectivamente. No parâmetro robustez foi comprovado que o método proposto não sofre variações significativas. O método analítico validado é de fácil execução e apresenta seletividade/especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção, limites de quantificação e robustez confiáveis. Portanto, o método por espectrofotometria com detecção no ultravioleta é aplicável para determinar CIN em cápsulas magistrais em ensaios de dissolução de modo simples, preciso e com baixo custo.

Palavras-chave: cinarizina, dissolução e validação de método analítico.

ABSTRACT

Cinnarizine (CIN) is used in the treatment of cerebral circulatory, peripheral circulatory and balance disorders. An analytical method was developed and validated to determine the dissolution of cinnarizine (CIN) in capsules compounded by ultraviolet detection spectrophotometry. The resolutions of the Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº. 899 of May 29, 2003 and nº. 166 of July 24, 2017 were used as the guide for validation of analytical methods. CIN showed high solubility in 0.1 mol.L⁻¹ hydrochloric acid at 37 ° C (9.43 mg.mL⁻¹), selectivity / specificity in the presence of other components (0.35 %), maximum absorption spectrum in 251 nm; linearity ($r = 0.9999$); precision (RSD _{repet.}: 0.09%, RSD _{inter.}: 1.10%); accuracy (LQC = 99.9%, MQC = 99.5%, HQC = 100.7%); limits of detection and quantification of 0.042 and 0.42 µg.mL⁻¹, respectively. In the parameter robustness it has been proven that the proposed method does not suffer significant variations. The validated analytical method is easy to perform and has reliable selectivity / specificity, linearity, precision, accuracy, limits of detection, limits of quantification and robustness. Therefore, the ultraviolet detection spectrophotometry method is applicable to determine CIN in capsules compounded in simple, accurate and low cost dissolution assays.

Keywords: cinnarizine, dissolution, validation method analytical.

1. INTRODUÇÃO

A cinarizina (CIN) é usada no tratamento de distúrbios circulatórios cerebrais, circulatórios periféricos e de equilíbrio. Os distúrbios circulatórios cerebrais são conhecidos como acidente vascular encefálico, que é uma alteração da circulação cerebral e pode causar a diminuição temporária ou permanente da atividade de segmentos cerebrais (Oliveira, 2012). Os distúrbios circulatórios periféricos são complicações frequentes de patologias crônicas, afetam as artérias, as veias e os vasos linfáticos das extremidades (Leal *et al.*, 2015). Distúrbios de equilíbrio são transtornos na manutenção do equilíbrio normal que resultam de doenças que afetam as vias vestibulares centrais ou periféricas, o cerebelo ou as vias sensoriais envolvidas na propriocepção (Ruwer, 2005).

A CIN (Figura 1) é derivada do piperazínico e possui propriedade vasodilatadora por bloquear os canais de cálcio no músculo liso situado nos vasos periféricos. É um anti-histamínico, sendo antagonista dos receptores de histamina H1. Tem sua absorção no todo gastrointestinal, a metabolização é hepática, o seu pico plasmático máximo ocorre de duas a quatro horas depois de ingerido e sua excreção é por meio de via renal (Cezarino, 2010).

Figura 1. Estrutura química da CIN

A CIN (1- difenilmetil – 4 – trans – cinamilpiperazina) apresenta fórmula molecular $C_{28}H_{28}N_2$ e peso molecular de 368,5u. Trata-se de um pó branco ou quase branco, próximo de ser insolúvel em água, com pouca solubilidade em álcool e solúvel em éter e este fármaco pode ser encontrado nas formas farmacêuticas de comprimidos e cápsulas (Cezarino, 2010).

Com o surgimento das farmácias houve a possibilidade de se obter medicamentos manipulados com formas farmacêuticas individualizadas, dosagens distintas e com menor custo de mercado. Com isso, é observado que os medicamentos manipulados como as cápsulas apresentam vantagens, mas ainda possuem limitações no seu controle de qualidade, quando

comparados com as produzidas pelas indústrias farmacêuticas, as quais passam por uma inspeção rigorosa e periódica na avaliação da qualidade (Silva, 2010).

Um tratamento terapêutico adequado é conquistado quando o medicamento passa por um controle rotineiro e para garantir a qualidade e a segurança dos produtos farmacêuticos é necessário utilizar métodos analíticos que sejam oficiais ou validados, porque estes irão fornecer resultados confiáveis nas análises dos produtos acabados (Malesuik *et al.*, 2006).

Embora a CIN seja comumente utilizada na terapêutica para distúrbios circulatórios, ainda não há uma monografia específica na Farmacopeia Brasileira que quantifique a dissolução deste fármaco em formulações farmacêuticas sólidas (Malesuik *et al.*, 2006). Por esse motivo, a validação de um método analítico para avaliar a dissolução do fármaco deste trabalho se torna um indicativo importante para determinar a sua solubilidade em cápsulas magistrais.

Diversas instrumentações analíticas são utilizadas para a determinação de CIN. É observado análises por espectrofotometria, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e em camada delgada. Também é encontrado na literatura análises por reações eletroquímicas, de quimiluminescência, de fluorimetria e a eletrocromatografia capilar. Estas diferentes técnicas são utilizadas para detecção e quantificação do fármaco (Gehring *et al.*, 2011).

Diante disso, o presente trabalho teve o objetivo de desenvolver e validar um método analítico para quantificar a dissolução de cápsulas magistrais de CIN por espectrofotometria com detecção no ultravioleta de forma rápida, precisa, segura e de baixo custo

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Substância química de referência (SQR), matérias-primas, reagentes e soluções.

A SQR de CIN da Farmacopeia Brasileira foi cedida por uma indústria farmacêutica, lote: 1089. A matéria prima do fármaco da empresa All Chemistry utilizada para a preparação das amostras simuladas foi obtida por doação de uma farmácia localizada na cidade de Barra do Garças (Mato Grosso), lote:

ALL064419 .

Os reagentes ácido clorídrico (HCl) e o sal fosfato potássico monobásico apresentavam grau de pureza analítica e foram obtidos pela Tédia LTDA, Brasil.

As formulações farmacêuticas manipuladas apresentaram as seguintes matérias primas: CIN, lactose, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal, lauril sulfato de sódio e estearato de magnésio.

As soluções controle de qualidade correspondem a $3,333 \mu\text{g mL}^{-1}$; $6,666 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $9,999 \mu\text{g mL}^{-1}$ de CIN para os controles de concentração baixa (CQB), média (CQM) e alta (CQA), respectivamente.

O HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foi preparado utilizando 8,4 mL de ácido clorídrico 37 % diluído em água com purificação por osmose reversa em quantidade suficiente para 1 L.

A solução lauril sulfato de sódio 1% foi preparada com a solubilização de 2,5 g em 250 mL de água com purificação por osmose reversa.

O tampão fosfato potássico monobásico 0,05 M com pH 6,8 foi preparada transferindo 6,8 g de fosfato de potássio monobásico para um balão volumétrico de 1 L, posteriormente completou o volume com água purificada por osmose reversa, por fim, solubilizou o sal e homogeneizou a solução. Foi ajustado o pH para 6,8 utilizando ácido fosfórico (85%) e hidróxido sódio (40%).

2.2. Equipamentos

Foram utilizados medidor de pH (Mettler Toledo, mPA210); mesa agitadora (novatecnica, NT-145); balança analítica de precisão digital (Eletronicbalance, FA-2104N); ultraSonic clean (Unique, UltraCleaner 1400); espectrofotômetro (Biospectro, Espectrofotômetro SP-220); centrifuga (Excelsa baby I, modelo 206) e micropipeta (High tech lab, Labmate+).

2.3. Preparação das amostras simuladas

Foram manipuladas 3 (três) diferentes formulações de cápsulas contendo 75 mg de CIN, denominadas de A, B e C (Tabela 1). Os excipientes utilizados nas preparações das cápsulas deste trabalho também são encontrados em formulações de comprimidos de

CIN disponíveis no mercado farmacêutico. Cada formulação foi desenvolvida para apresentar um peso médio de 250,0 mg. Para cada formulação A, B e C foi preparado o seu respectivo placebo, conforme as concentrações estabelecidas na Tabela 1, com exceção da CIN.

Tabela 1 – Composição e concentração das matérias primas utilizadas nas formulações farmacêuticas A, B e C das cápsulas com 75 mg de CIN.

Composição	A	B	C
	(%)		
CIN	30,00	30,00	30,00
Lactose	10,00	49,00	34,80
Cel. Mic.	57,00	15,00	30,00
Crosc. Sod.	1,00	1,50	2,00
D. S. C.	0,50	1,00	0,70
L. S. S.	1,00	2,00	1,50
E. M.	0,50	1,50	1,00

Legenda: Cel. Mic.: celulose microcristalina; Crosc. Sod.: croscarmelose sódica; D. S. C.: dióxido de silício coloidal; L. S. S.: lauril sulfato de sódio e E. M.: estearato de magnésio.

2.4. Preparo da solução que contém CIN SQR

A solução contendo a SQR a uma concentração de trabalho de $8,333 \mu\text{g mL}^{-1}$ de CIN foi preparada, solubilizando-se 83,33 mg do fármaco em 100,0 mL de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Foram feitas diluições sucessivas com o mesmo solvente até obter a concentração de trabalho desejada ($8,333 \mu\text{g mL}^{-1}$).

2.5. Preparo de soluções amostrais

O conteúdo de 20 cápsulas magistrais de CIN, preparadas conforme demonstrado na Tabela 1, foi homogeneizado e uma quantidade de pó equivalente a 83,33 mg do fármaco foi pesada e transferida para balão volumétrico de 100,0 mL, foi adicionado 50,0 mL de HCL $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o balão volumétrico foi levado ao ultrassom por 20 minutos. Após a solubilização da CIN a solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta e em seguida, transferiu-se uma alíquota de 1,0 mL do filtrado para um balão volumétrico de 100,0 mL, o qual teve seu volume completado com o solvente HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (concentração de trabalho $8,333 \mu\text{g mL}^{-1}$).

2.6. Padronização analítica do método

As soluções foram analisadas por espectrofotometria no ultra violeta e as absorbâncias das amostras foram obtidas através de um comprimento de onda de 251 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm contendo 1 mL. Para obtenção do branco foi utilizado o solvente HCl 0,1 mol L⁻¹ sem adição de componentes para ajuste do zero. As leituras das soluções foram realizadas em triplicatas e os experimentos foram conduzidos ao abrigo da luz.

2.7. Validação do método analítico por espectrofotometria na região do UV

O método foi validado conforme preconizado nas resoluções de nº 899 de 29 de maio de 2003 e de nº 166 de 24 de julho de 2017, ambas são referentes ao guia para validação de métodos analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. As recomendações da ICH (*The international Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use*) também foram utilizadas neste trabalho. Os parâmetros avaliados foram: solubilidade, seletividade/especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação e robustez.

2.7.1 Solubilidade

A solubilidade foi determinada por acréscimo de excesso de amostra e para executar este teste foram selecionados três meios diferentes que simulam as soluções do trato gastrointestinal (TGI). Os meios utilizados foram: HCl 0,1 mol L⁻¹, solução lauril sulfato de sódio 1,0 % e tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol L⁻¹ pH 6,8. Foram distribuídos 9 erlenmeyer's com capacidade de 50 mL em uma mesa agitadora com ajuste para rotação de 100 rpm. Em cada erlenmeyer foi adicionado 20 mL do respectivo meio que simula o TGI e, posteriormente 10 mg da matéria prima de CIN. O estudo em cada meio foi realizado em triplicata. A cada hora foi adicionado 10,0 mg em todos os erlenmeyer durante o tempo de 24 horas, sob agitação constante e em temperatura ambiente. Após o término do tempo as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 10 minutos e filtradas em papel de filtro faixa preta, separou o sobrenadante e transferiu uma alíquota de 0,1 mL de cada condição para balões volumétricos

de 100,0 mL. As amostras foram diluídas com o seu respectivo meio que simulam as soluções do TGI e, posteriormente fez a leitura no espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 251nm.

A fim de evitar uma velocidade de dissolução lenta de CIN, também foi determinado neste trabalho a condição *Sink* em HCl 0,1 mol L⁻¹, solução lauril sulfato de sódio 1,0 % e o tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L⁻¹ pH 6,8 para um volume de meio de dissolução de 900,0 mL. Este estudo teve a finalidade de impedir que a concentração da CIN no volume do meio de dissolução avaliado aproxime da concentração de saturação do fármaco.

A solubilidade da CIN foi calculada pela fórmula 01, enquanto que a condição *Sink* pela fórmula 02:

$$SOL.(mg/mL) = RA \times CP \times VB / RP \times VP \text{ (Fórm. 1)}$$

Legenda: SOL.= solubilidade; RA= resposta da amostra; CP= concentração da SQR; VB= volume do balão; RP= resposta da SQR e VP= volume pipetado.

$$CS = SOL(mg/mL) \times VM(900,0mL) / DR \text{ (Form.2)}$$

Legenda: C.S.= condição *sink*; SOL.= solubilidade; VM= volume do meio e DR= dosagem rotulada.

2.7.2 Seletividade/Especificidade

A seletividade/especificidade foi determinada através da avaliação da interferência dos excipientes nas formulações A, B e C demonstradas na Tabela 1. Foram analisadas as soluções destas amostras simuladas e a que continha a SQR na concentração de 8,333 µg mL⁻¹ e as soluções placebos referentes as formulações A, B e C. Todas foram diluídas em HCl 0,1 mol L⁻¹. Para obtenção do branco foi utilizado o solvente HCl 0,1 mol L⁻¹ sem adição de componentes para ajuste do zero. As soluções foram filtradas em papel de filtro faixa preta anteriormente às varreduras espectrais na faixa de 200 a 400 nm do ultravioleta.

2.7.3 Linearidade e faixa

Para a determinação da linearidade foram preparadas cinco soluções de CIN SQR em concentrações distintas na faixa de 3,333 µg mL⁻¹ a 9,999 µg mL⁻¹. Para a construção de cada

ponto da curva de calibração foram preparadas as soluções nas concentrações de 3,333; 4,999; 6,666; 8,333 e 9,999 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Após a obtenção dos dados a linearidade foi estimada por regressão linear.

2.7.4 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada pela leitura das soluções referentes ao CQB, CQM e CQA, de modo a compreender a faixa de linearidade do método. Cada concentração foi preparada em triplicata totalizando 9 (nove) determinações. Os valores de recuperação, expressos em porcentagem, foram registrados a partir das respostas analíticas obtidas em função da quantidade teórica de padrão adicionado.

2.7.5 Precisão

O teste foi avaliado pelas precisões do tipo repetibilidade e intermediárias aceitas como as mais recomendáveis, já que possuem um maior fator de representatividade das variações laboratoriais. Foram analisadas as variações de analistas em dias diferentes, com objetivo de garantir que os resultados do método não serão alterados dentro de um mesmo laboratório. Os resultados obtidos foram analisados e foi avaliado o desvio padrão relativo (DPR), respeitando o intervalo linear do método e foram utilizadas neste ensaio de precisão a avaliação do CQB, CQM e CQA. Cada determinação foi preparada em três replicas e lidas em triplicata (Brasil, 2003).

2.7.6 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os LD e LQ foram determinados a partir da leitura em triplicata por espectrofotometria no ultravioleta de concentrações com redução gradativa de concentração com partida em 0,8333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para ambos os limites. Os LD e LQ foram determinados em até $4,16 \times 10^{-3} \mu\text{g mL}^{-1}$ e $4,16 \times 10^{-1} \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. As avaliações dos resultados foram feitas pelo desvio padrão relativo dos resultados obtidos.

2.7.7 Robustez

Foi determinada a partir de soluções na concentração de trabalho de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$, variando-se tempo de extração em minutos (min.) (10 e 20 min.), concentração de ácido clorídrico (0,09 e 0,1 M), comprimento de onda (250 e 251 nm), desaeração (com e sem

aeração), diferentes marcas do solvente (Tedia e Vetec) e pH da solução de HCl 0,1 mol L^{-1} (1,2 e 1,4).

2.7.8 Avaliação da estabilidade de CIN no meio de dissolução

Foram preparadas soluções de CIN com a SQR e com a amostra simulada das cápsulas da formulação A em HCl 0,1 mol L^{-1} na concentração de trabalho de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do fármaco. Ambas as soluções foram mantidas em temperatura ambiente ($25^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$), por um período de 15 horas. As soluções foram analisadas por espectrofotometria no ultravioleta em 251 nm.

2.8 Análises estatísticas

A análise estatística dos dados foi realizada através da resposta dos resultados de cada teste avaliado, por meio de análise de variância (ANOVA). A avaliação estatística dos resultados foi realizada utilizando o software Excell® (Microsoft, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para que um método analítico seja considerado validado é necessário que o mesmo demonstre resultados confiáveis e reprodutíveis, assegurando ser adequado para a sua finalidade planejada, a partir de uma substância amostral específica para este fim (Matioli *et al.*, 2004). Uma vez que o método se torna validado este poderá ser utilizada em estudos de controle de qualidade (Silva *et al.*, 2006).

Ao avaliar o Sistema de Classificação Biofarmacêutica da CIN foi observado que o fármaco apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (Classe II). Diante disso, a dissolução é a etapa limitante da absorção. Neste estudo foi avaliado a solubilidade do fármaco e determinou, nas condições estabelecidas para o ensaio de dissolução, se a condição *Sink* seria cumprida.

Os resultados da solubilidade e da condição *Sink* de CIN pelo teste de saturação em *shake-flask* nos diferentes meios que simulam o TGI estão demonstrados na Tabela 2. De acordo com os resultados encontrados, a CIN apresentou maior solubilidade em HCl 0,1 mol L^{-1} (9,431 mg mL^{-1}), quando comparados com os meios solução lauril sulfato de sódio 1,0 %

(0,2123 mg mL⁻¹) e tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L⁻¹ pH 6,8 (0,0321 mg mL⁻¹). Gu e colaboradores (2005) confirmaram em seus trabalhos que a CIN é uma base fraca com baixa solubilidade em solventes aquosos e sua solubilidade é altamente dependente de pH ácido. Isso é comprovado neste estudo através do resultado de solubilidade encontrado para HCl 0,1 mol L⁻¹ (9,431 mg mL⁻¹) e demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados de solubilidade e condição Sink de CIN em HCl 0,1 mol L⁻¹, lauril sulfato de sódio a 1,0 % e tampão fosfato potássico monobásico 0,05 M, pH 6,8 obtidos no teste de solubilidade ao término de 24 horas.

Meio TGI	Sol.(mg/mL)	C. S.
HCL 0,1 mol L ⁻¹	9,41	112,93
	9,45	113,45
	9,43	113,17
Média	9,43	113,18
L. S. S. 1,00 %	0,22	2,55
	0,21	2,54
	0,20	2,55
Média	0,21	2,55
T. F.P.M 0,05 M pH; 6,8	0,03	0,36
	0,03	0,39
	0,03	0,38
	0,03	0,38

Legenda: HCL: Ácido clorídrico; L. S. S.: Lauril sulfato de sódio; T. F. P. M.: Tampão fosfato de potássio monobásico.

Os valores encontrados de condição Sink nos meios HCl 0,1 mol L⁻¹ (113,1827), solução lauril sulfato de sódio 1,0 % (2,5484) e solução tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L⁻¹ pH 6,8 (0,3860) demonstraram que esta condição é favorável em HCl 0,1 mol L⁻¹. Esta comprovação pode ser confirmada quando se obtém como resultado o valor mínimo de 3 para a condição Sink (USP 38, 2015).

A condição Sink é um parâmetro a ser estudado quando se realiza ensaios de dissolução em controle de qualidade de medicamentos. É definida levando em consideração que o volume do meio de dissolução deve ser no mínimo 3 (três) vezes superior ao necessário daquele utilizado para atingir a saturação do fármaco, e que volumes abaixo desta condição poderiam levar a uma dissolução lenta por causa da aproximação do volume utilizado para atingir a concentração de saturação. Para os ensaios de dissolução é

sugerido que o volume do meio varie entre 500 a 1000 mL (Emmanuel, 2010; Brasil, 2010).

Ao levar em consideração os valores encontrados de solubilidade e condição Sink, é observado que o melhor meio de dissolução para este trabalho é HCl 0,1 mol L⁻¹. Este meio garantirá nos ensaios de dissolução a solubilidade adequada de CIN em cápsulas magistrais. Como está demonstrado na Tabela 2, a solubilidade da CIN nos demais meios foi considerada insatisfatória e os resultados de condição Sink encontrados não atingiram o mínimo de 3 (três) que é o estabelecido pela Farmacopeia Norte Americana (USP 38, 2015).

Os valores de solubilidade e condição Sink encontrados neste trabalho para HCl 0,1 mol L⁻¹, estão em conformidade com o estabelecido pela literatura, e com isso é considerado o meio de dissolução adequado para realizar o desenvolvimento e a validação do método analítico para avaliar a dissolução de CIN em cápsulas magistrais.

Para o desenvolvimento do método analítico de dissolução foi realizado uma varredura entre 200 a 400 nm para determinar o comprimento de onda para a análise de CIN por espectrofotometria na região do ultravioleta. O pico máximo de absorção foi observado em 251 nm e o espectro obtido pela varredura demonstrou eficácia satisfatória na avaliação do fármaco para métodos quantitativos.

A especificidade/seletividade foi determinada e os valores de interferência encontrados para as formulações placebo A (0,35%), B (0,07%) e C (0,21%) com o solvente HCl 0,1 mol L⁻¹, garantiram a não interferência dos excipientes e impurezas em relação a detecção e quantificação de CIN. A resolução de n.º 166 de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre validação de métodos analíticos preconiza interferência menor que 2,0 %. Isso comprova a capacidade deste método analítico de ser seletivo e também demonstra ser específico para quantificar o fármaco em estudo de dissolução, pois os excipientes analisados apresentaram baixa interferência no comprimento de onda de 251nm.

A linearidade demonstra a capacidade do método em apresentar resultados diretamente proporcionais à concentração de analito adicionados na amostra. Este parâmetro foi demonstrado através da curva analítica obtida a partir de cinco concentrações entre uma faixa de

3,333 a 9,999 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A curva analítica pode ser descrita por meio da equação $y = 0,0043x + 0,0547$, que foi obtida através do método estatístico dos mínimos quadrados, e retrata um coeficiente de correlação linear de $r = 0,9993$. O valor obtido neste parâmetro está de acordo com o mínimo declarado para aprovação, sendo este de 0,999 (Brasil, 2003). O resultado encontrado conseguiu atender o critério mínimo aceitável, que foi demonstrado pela curva analítica obtida no intervalo de concentrações de 3,333 a 9,999 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Portanto, fornece resultado linear e diretamente proporcional à concentração de CIN na solução de HCl 0,1 mol L^{-1} .

A recuperação foi determinada pela relação da concordância entre os valores teóricos do analito adicionados a solução e a quantidade real que foi recuperada pelo método analítico. Os resultados da recuperação estão expressos na Tabela 3. De acordo com os dados obtidos, os valores de recuperação encontrados ficaram na faixa de 99,5 a 100,7 %. É recomendável uma recuperação entre 98,0 a 102,0 % (Brasil, 2017). Os resultados obtidos são inferiores aos 2 % de variação que é preconizado pela resolução de validação de método analítico em 2017, sendo aceitável para análise estatística do método proposto. Pela análise dos dados foi concluído que este parâmetro possui os resultados dentro das adequações preconizadas, o que garante uma exatidão na aplicabilidade do método para ensaios de dissolução do fármaco.

Os ensaios de repetibilidade e precisão intermediária do método analítico foram realizados com três níveis de concentrações diferentes (CQB; CAM e CQA), em dias e com analistas diferentes e apresentaram DPR que variaram entre 0,09 a 1,10 %. Na Tabela 4 está representado o DPR dos controles de qualidade avaliados para os testes de repetibilidade e de precisão intermediária. Os resultados apresentaram valores de DPR inferiores a 5,0 %, que é o aceitável pelo guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos da resolução 899 de 29 de maio de 2003. Assim, os valores obtidos pela análise estatística neste ensaio demonstraram uma precisão aceitável e está em conformidade com a literatura.

Os resultados de LD e LQ foram de 0,042 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. A avaliação foi feita pelo DPR dos resultados obtidos não podendo ultrapassar 5,0 % do preconizado como ideal (Brasil, 2017). Estes

valores obtidos, demonstram que as análises realizadas nas concentrações referentes ao intervalo da linearidade (3,333 a 9,999 $\mu\text{g mL}^{-1}$), proporcionam confiabilidade nos resultados encontrados, e assegura que o método proposto pode detectar e quantificar concentrações baixas com segurança e é adequado aos objetivos propostos deste trabalho.

A robustez demonstra a capacidade que o método apresenta em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos, e caso haja alteração no procedimento os resultados devem permanecer confiáveis. Foram verificados o comportamento dos dados obtidos em relação ao tempo de extração em minutos, concentração de ácido clorídrico, comprimento de onda, desaeração (com e sem aeração), diferentes marcas do solvente e pH da solução de HCl 0,1 mol L^{-1} . Os dados experimentais obtidos para robustez estão demonstrados na Tabela 5.

Os valores encontrados foram submetidos à análise estatística, realizada através do DPR, e os resultados obtidos ficaram menores que 2,0 %, o que demonstra que o método proposto mantém as respostas confiáveis mesmo com deliberadas variações. Pode-se constatar que o método analítico por espectrofotométrico no UV é robusto nas condições avaliadas e não apresentou modificações significativas após análise das amostras.

A estabilidade da CIN em HCl 0,1 mol L^{-1} foi avaliada, a fim de verificar possível degradação do fármaco. O resultado encontrado na variável estabilidade das soluções e que está apresentada na Tabela 5, demonstra que as soluções que contém a SQR e amostras com CIN são estáveis por até 15 horas após o preparo. A avaliação foi feita pelo DPR dos resultados obtidos não podendo ultrapassar 2,0 % do preconizado como ideal (Brasil, 2017) Por este dado obtido, é possível quantificar o fármaco de maneira robusta até o limite de tempo estabelecido pelo teste de estabilidade das soluções analíticas.

A partir dos resultados encontrados nos parâmetros avaliados de validação deste trabalho e de acordo com as condições descritas no Teste de Dissolução do Volume I da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, o método espectrofotométrico por UV apresenta como condição analítica o meio de dissolução HCl 0,1 mol L^{-1} (900,0 mL a 37° C), aparato número 1 com rotação de 100 rpm e tempo de dissolução de 60 minutos.

Para a realização do teste de dissolução em análise de rotina no controle de qualidade de cápsulas magistrais que contém cinarizina, deve-se proceder o ensaio da seguinte maneira. Após o tempo de 60 min. de dissolução, deve-se retirar uma alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em HCl 0,1 mol L⁻¹ até concentração 8,333 µg mL⁻¹. As absorbâncias devem ser medidas em 251 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Em seguida, deve-se calcular a quantidade de CIN dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de CIN SQR na concentração de 8,333 µg mL⁻¹, preparada com HCl 0,1 mol L⁻¹. Após o tempo de dissolução a quantidade de CIN em 6 (seis) cápsulas magistrais deve apresentar em 1º Estágio uma tolerância de não menos que 80 + 5 % da sua quantidade declarada para ser considerada aprovada.

4. CONCLUSÃO

O método espectrofotométrico para quantificar a dissolução de CIN em cápsulas magistrais, mostrou-se específico, linear, exato, robusto e sensível no intervalo de concentração de 3,333 a 9,999 µg mL⁻¹. Portanto, o método analítico proposto apresenta validado e é de fácil execução, apresenta reprodutibilidade, baixo custo, confiabilidade e segurança nos resultados. A partir disso, é considerado como uma alternativa para a realização do teste de dissolução em cápsulas de CIN manipuladas em farmácias.

5. REFERÊNCIAS

- BRASIL. Anvisa. RE nº 67, de 08 de outubro de 2007. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF. 09 out. **2007**.
- BRASIL, Anvisa. Resolução Específica – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. *Diário Oficial da União*, 02 de jun. de 2003. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 out. **2016**.
- BRASIL, Anvisa. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução nº 166, *Diário Oficial da União*, 24 de julho de 2017. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 ago. **2017**.
- BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 5.ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **2010**.
- Silva, G. A.; Da Silva, L. A.; Hilário, D. C.; Bueno, P. M. F.; REFACER. **2015**, 2, 4.
- Cezarino, P. Y. A. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, **2010**.
- Scheubel, E. Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas, University Clermont-Ferrand 1, França, **2010**.
- Gehring, P. A. F.; Santos, O. M. M.; Pereira, G. R.; Araújo, M. B.; Bonfilio, R.; Química nova, **2011**, 3, 34.
- Gu, C.-H.; Rao, D.; Gandhi, R. B.; Hilden, J.; Raghavan, K.; Eur. J. J Pharm Sci., **2005**, 94, 199.
- Laporta, L. V.; Brum, T. F.; Pons Júnior, F. R.; Santos, M. R.; Gonçalves, C. A.; Rev Ciênc Farm Básica Apl., **2013**, 33, 373.
- Leal, F. J.; Couto, R. C.; J Vasc Bras. **2015**, 14, 224.
- Malesuik, M. D.; Cardoso, S. G.; Bajerski, L.; Lanza Nova, F. A.; J AOAC, **2006**, 89, 359.
- Marcolongo R.; Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo, **2003**.
- Matioli, G.; Valentini, S. R.; Sommer, W. A.; Acta Scientiarum Health Sci. **2004**, 16, 357.
- Oliveira, D. C.; Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, **2012**.
- Ruwer, S. L.; Rev Bras Otorrinolaringol. **2015**, 71, 298.
- Silva, A. C. P.; Ciênc Saúde Coletiva. **2010**, 15, 3371.
- Silva, C. A.; Controle de Contaminação. **2006**, 85, 30.
- USP 38, The united states pharmacopeia. The National Formulary: NF-33, Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, **2015**.

Tabela 3 – Resultados de recuperação obtidos através da adição de SQR de CIN em três soluções com diferentes níveis de concentração (CQB, CQM e CQA).

Amostra	Conc. teórica ($\mu\text{g mL}^{-1}$) $\pm$ DP (%)	Média de CIN Recuperada		DPR (%)
		($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Exatidão (%) $\pm$ DP (%)	
CQB	3,333 $\pm$ 0,007	3,330	99,9 $\pm$ 0,008	3,396
CQM	6,666 $\pm$ 0,008	6,633	99,5 $\pm$ 0,008	1,904
CQA	9,999 $\pm$ 0,004	10,07	100,7 $\pm$ 0,004	0,715

Legenda: Conc.: concentração; CQB: controle de qualidade baixo; CQM: controle de qualidade médio; CQA: controle de qualidade alto; DP: desvio padrão e DPR: desvio padrão relativo.

Tabela 4 – Resultados de repetibilidade e recuperação intermediárias obtidas por espectrofotométricas no UV de soluções contendo CIN referentes ao CQB, CQM e CQA.

Soluções	Leitura	Precisão					
		Repetibilidade	(μg mL ⁻¹)			Intermediária ¹⁾	(μg mL ⁻¹)
			CQB	CQM	CQA		
1	1	3,33	6,77	9,92	3,35	6,66	9,92
	2	3,33	6,67	9,98	3,35	6,66	9,99
	3	3,33	6,71	9,79	3,35	6,66	9,96
2	1	3,33	6,55	10,03	3,29	6,54	9,96
	2	3,34	6,56	9,95	3,29	6,54	9,99
	3	3,33	6,58	9,97	3,29	6,54	9,99
3	1	3,33	6,66	10,02	3,38	6,61	10,12
	2	3,33	6,66	10,02	3,38	6,63	10,10
	3	3,33	6,66	10,02	3,37	6,69	10,10
Média		3,33	6,65	9,97	3,34	6,61	10,01
DP		0,00	0,07	0,07	0,04	0,06	0,07
DPR (%)		0,09	1,04	0,71	1,10	0,86	0,67

Legenda: CQB: controle de qualidade baixo; CQM: controle de qualidade médio; CQA: controle de qualidade alto; DP: Desvio padrão; DPR: Desvio padrão relativo.

Tabela 5. Resultados referentes à robustez do método por espectrofotometria no UV.

Variável	Condição nominal	Condição alterada	DPR (%)
Tempo de extração	10 min.	20 min.	0,6
Concentração de HCl	0,1 mol L ⁻¹	0,09 mol L ⁻¹	0,8
λ	251 nm	250 nm	1,8
Desaeração	Com	Sem	0,7
Diferentes solventes	Tédia	Vetec	0,4
Ph	1,2	1,4	1,2
Estabilidade das soluções	Tempo 0	15 horas	1,5

Legenda: HCL: Ácido clorídrico.