

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
UNIFAL-MG

TACIANE FERREIRA MENDONÇA

ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE CLORIDRATO
DE DILTIAZEM EM CÁPSULAS MANIPULADAS

Alfenas/MG

2009

TACIANE FERREIRA MENDONÇA

**ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE CLORIDRATO
DE DILTIAZEM EM CÁPSULAS MANIPULADAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Desenvolvimento e avaliação microbiológica e físico-química de fármacos, toxicantes e medicamentos.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Magali Benjamim de Araújo.

Alfenas/MG

2009

TACIANE FERREIRA MENDONÇA

**ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE CLORIDRATO
DE DILTIAZEM EM CÁPSULAS MANIPULADAS**

A Banca examinadora, abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Desenvolvimento e avaliação microbiológica e físico-química de fármacos, toxicantes e medicamentos.

Aprovada em:

Prof^a: Hérica Regina Nunes Salgado

Instituição: Universidade Estadual Paulista **Assinatura:** _____

Prof^a: Gislaine Ribeiro Pereira

Instituição: Universidade Federal de Alfenas **Assinatura:** _____

Prof^a: Magali Benjamim de Araújo

Instituição: Universidade Federal de Alfenas **Assinatura:** _____

Dedico a Deus, por ter me dado forças para alcançar esta vitória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por guiar meus caminhos, estando sempre ao meu lado, me iluminando, dando sabedoria e forças para chegar até o final desta caminhada.

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos e familiares, pelo apoio, amor e compreensão em minha constante ausência na família, por estar dedicando ao trabalho.

Ao Bruno, pelo amor, companheirismo, paciência e pela grande força dada no momento mais difícil por qual passei na fase de conclusão do mestrado.

Agradeço em especial ao Rudy Bonfilio, pela sua ajuda incessante, paciência, boa vontade e amizade. Alguém que me ensinou praticamente tudo que necessitei durante esta etapa, me passando suas experiências e dando suporte do início ao fim do mestrado.

À orientadora professora Dr^a Magali Benjamim de Araújo, pela confiança depositada, compreensão e conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Centro de Equivalência Farmacêutica - Núcleo Controle de Qualidade da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), pela amizade e o ótimo convívio de trabalho.

Ao Eliézer Giannini de Barros, aluno de IC, pela colaboração na parte experimental.

Ao Márcio Silva, por ter me incentivado a fazer o mestrado.

À CAPES pelo apoio financeiro concedido à UNIFAL-MG através do Programa Reuni.

Aos amigos do mestrado, aos amigos conquistados recentemente, aos antigos amigos e a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram e torceram pelo meu sucesso.

“O que for a profundidade do teu ser, assim será o teu desejo.

O que for o teu desejo, assim será a tua vontade.

O que for a tua vontade, assim serão os teus atos.

O que forem os teus atos, assim será o teu destino.”

Brihadaranyaka Upanishada

RESUMO

O cloridrato de diltiazem é um bloqueador de canal de cálcio pertencente ao grupo das benzotiazepinas, usado principalmente no tratamento de angina, hipertensão e arritmias supraventriculares, disponibilizado no mercado nacional na forma farmacêutica de comprimido simples e de liberação prolongada, cápsula de liberação imediata e de liberação prolongada e injetáveis. Até o presente momento, não há método oficial descrito em farmacopeia para quantificação do fármaco, em cápsula de liberação imediata. O objetivo deste estudo foi estabelecer as condições do ensaio de dissolução e validar o ensaio e a metodologia analítica para quantificação do cloridrato de diltiazem em cápsula de liberação imediata. A fim de estabelecer as condições de dissolução para o cloridrato de diltiazem 60 mg, em cápsulas, os medicamentos manipulados A, B e C, respectivamente, foram testados utilizando 900 mL de três meios de dissolução (água, HCl 0,1 mol L⁻¹ e tampão fosfato pH 6,8), aparatos USP 1 e 2 e velocidades de agitação de 50, 75 e 100 rpm. Alíquotas de 10 mL das amostras foram retiradas em 5, 10, 15, 30 e 60 minutos de ensaio com reposição do meio de dissolução. As concentrações do fármaco no meio de dissolução foram determinadas tanto por espectrofotometria por UV a 237 nm quanto por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando coluna Hypersil BDS RP-18 (10,0 cm x 4,0 mm) com tamanho de partícula de 3 µm. A fase móvel foi acetonitrila – tampão fosfato pH 6,2 – trietilamina (45:55:0,2, v/v/v) na vazão de 1,0 mL min⁻¹ e detecção UV a 240 nm. O uso de tampão fosfato pH 6,8 como meio de dissolução, pá como aparato a uma velocidade de agitação de 50 rpm e 30 minutos de teste forneceram resultados satisfatórios para a determinação da dissolução de cloridrato de diltiazem em cápsula de liberação imediata. Os métodos analíticos e o ensaio de dissolução foram validados e demonstraram ser estáveis, lineares, seletivos, precisos e exatos. Finalmente, a aplicação do ensaio às amostras A, B e C, respectivamente, mostraram-se condizentes aos parâmetros exigidos pelos órgãos regulatórios.

Palavras-chave: anti-hipertensivos, dissolução, cromatografia líquida de alta eficiência, espectrofotometria, estudos de validação.

ABSTRACT

Diltiazem hydrochloride is a benzothiazepine calcium channel antagonist, mainly used in the treatment of angina, hypertension and supraventricular arrhythmias and is commercially available in tablets, extended release tablets, immediate release capsules, extended release capsules and injectable dosage forms. At the present moment, there is no official methods described in any pharmacopoeia for the quantification of the drug in immediate release capsules. The aim of this study was to establish dissolution conditions and to validate the analytical methods for diltiazem hydrochloride quantification in pharmaceutical immediate release capsules. Different conditions such as dissolution media (water, 0.1 mol L⁻¹ HCl and pH 6.8 potassium phosphate buffer), apparatus (USP apparatus 1 and 2) and rotation speeds (50, 75 and 100 rpm) were evaluated in order to establish dissolution conditions for 60 mg diltiazem hydrochloride in pharmaceutical capsules. 10 mL sample aliquots were withdrawn at 5, 10, 15, 30 and 60 minutes and replaced. The drug concentrations in dissolution media were determined by both UV spectrophotometry at 237 nm and by a HPLC method, using a Hypersil BDS RP-18 (10.0 cm×4.0 mm), 3 μm particle size column. The mobile phase was acetonitrile-potassium phosphate buffer pH = 6.2- triethylamine (45:55:0.2, v/v/v), at a flow-rate of 1.0 mL min⁻¹ and UV detection at 240 nm. The use of potassium phosphate buffer pH 6.8 as dissolution medium, paddle as apparatus at the stirring speed of 50 rpm and 30 minutes of test provided satisfactory results for assessment of dissolution diltiazem hydrochloride immediate release capsules. The described analytical methods and dissolution procedures were validated presenting stability, linearity, selectivity, precision and accuracy. Finally, all the methods were used for quality control assays of the products tests A, B and C, which demonstrated to be in accordance to regulatory demands.

Key words: antihypertensive; dissolution; high performance liquid chromatography; spectrophotometry; validation studies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química do cloridrato de diltiazem	15
----------	--	----

SUMÁRIO

1	REVISÃO DA LITERATURA.....	10
1.1	Agentes anti-hipertensivos.....	10
1.2	Bloqueadores de canais de cálcio.....	13
1.3	Cloridrato de diltiazem.....	15
1.3.1	Características físico-químicas e químicas.....	15
1.3.2	Propriedades farmacocinéticas.....	16
1.3.3	Posologia.....	17
1.3.4	Superdosagem.....	18
1.3.5	Interações medicamentosas.....	18
1.3.6	Indicações.....	19
1.3.7	Advertências e contra indicações.....	19
1.3.8	Farmacodinâmica.....	20
1.3.9	Reações adversas.....	21
1.4	Teste de dissolução.....	22
1.4.1	Fatores que interferem na dissolução relacionados ao fármaco e formulação.....	25
1.4.2	Fatores que interferem na dissolução relacionados ao equipamento.....	27
1.4.3	Fatores que interferem na dissolução relacionados ao meio de dissolução.....	28
1.4.4	Fatores que interferem na dissolução relacionados ao meio ambiente.....	30
1.4.5	Fatores que interferem na dissolução relacionados ao método analítico.....	30
1.5	Validação.....	31
2	OBJETIVOS.....	36
3	RESULTADOS.....	37
3.1	Artigo.....	38
4	CONCLUSÕES.....	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
	APÊNDICE A.....	72

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Agentes anti-hipertensivos

A hipertensão caracteriza-se por uma condição em que há aumento da pressão sanguínea em relação a um nível considerado “normal” (HOFFMAN et al., 2004).

A hipertensão é definida como a pressão sanguínea diastólica permanentemente aumentada acima de 90 mmHg e acompanhada por elevação na pressão sanguínea sistólica (> 140 mmHg). A hipertensão é resultado do tono da musculatura lisa dos vasos periféricos, o que leva ao aumento da resistência arteriolar e redução da capacitância do sistema venoso (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

Cronicamente, a pressão sanguínea elevada está associada com um risco aumentado de dano renal, cardíaco e cerebral, bem como de outras patologias como a aterosclerose (HOFFMAN et al., 2004).

A redução da pressão arterial em pacientes com hipertensão crônica moderada ou grave diminui consideravelmente os riscos de acidente vascular cerebral, insuficiência renal e insuficiência cardíaca e também pode reduzir o risco de isquemia do miocárdio (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

O diagnóstico de hipertensão baseia-se em medidas repetidas e reproduzíveis de elevação da pressão arterial e serve principalmente para prever as consequências do distúrbio para o paciente; raramente inclui um relato sobre a causa da hipertensão (KATZUNG, 2006).

Apesar de a hipertensão poder ocorrer secundariamente a outros processos patológicos, mais de 90% dos pacientes apresentam a hipertensão chamada essencial: alteração de origem desconhecida que altera o mecanismo de regulação da pressão sanguínea. A hipertensão essencial ocorre com frequência quatro vezes mais em negros que em brancos e mais frequentemente em homens de meia-idade que em mulheres de meia-idade (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

No Brasil, aproximadamente 65% dos idosos são portadores de hipertensão arterial sistêmica, sendo que, entre as mulheres com mais de 65 anos, a prevalência pode chegar a 80%. Considerando que em 2025 haverá mais de 35 milhões de idosos no país, o número de portadores de hipertensão arterial tende a crescer (LYRA JÚNIOR et al., 2006).

Há algumas décadas, as doenças do aparelho circulatório ou cardiovasculares são a primeira causa de morte no Brasil. Dentro deste contexto, a hipertensão arterial representa uma das situações clínicas que atingem o aparelho circulatório, e também, é um dos principais fatores de risco para outras doenças como as cerebrovasculares, as vasculares, as isquêmicas do coração e a diabetes mellitus, contribuindo para elevar os índices de morbidade e mortalidade (CHAVES et al., 2006).

Vários fatores de risco estão associados com a hipertensão primária (ou essencial), dentre eles a predisposição genética, consumo elevado de álcool e inatividade física. Fatores ambientais, como modo de vida estressante, elevada taxa diária de ingestão de sal, obesidade e fumo são fatores predisponentes à ocorrência de hipertensão (HOFFMAN et al., 2004; MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

Verificou-se que certos sais minerais – potássio, cálcio e magnésio – protegem contra o desenvolvimento da hipertensão. Por outro lado, a cafeína pode aumentar a pressão arterial, mas se desenvolve rapidamente tolerância a este efeito pressor. Não encontra-se efeitos consistentes sobre a pressão arterial causados por ingestão de proporções variadas de carboidratos ou proteínas na dieta ou consumo aumentado de cebola ou alho (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

A hipertensão secundária contribui para 5-10 % dos casos e resulta de uma causa identificável, geralmente uma patologia renovascular, que eleva a pressão sanguínea por ativar o sistema renina-angiotensina-aldosterona. Pode ser subdividida em quatro diferentes formas: renal, neurogênica, endócrina e cardiovascular (HOFFMAN et al., 2004; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

A incidência da morbidade e da mortalidade diminuem significativamente quando a hipertensão é diagnosticada precocemente e tratada apropriadamente (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

A hipertensão arterial sistêmica (HA) é o agravo mais comum na população adulta em todo o mundo e um fator de risco muito importante para as doenças cardiovasculares. O uso clínico de medicamentos para o controle dos níveis pressóricos na hipertensão arterial surgiu por volta de 1947, o que torna essa prática, do ponto de vista histórico, recentíssima (SILVA, 2006).

O tratamento não medicamentoso é a terapia de primeira linha ideal. Os pacientes com hipertensão são aconselhados a evitar atividades que podem predispor à doença

cardiovascular. As principais recomendações são: atividade física; redução do peso corporal, se em excesso; em alguns casos, restrição do sal na dieta; abandonar o tabagismo; restringir a ingestão de etanol em alguns pacientes; tratar cuidadosamente os distúrbios de lipoproteínas (HOFFMAN et al., 2004).

Foi constatado que a redução do peso, mesmo sem restrição de sódio, normaliza a pressão arterial em até 75% dos pacientes acima do peso normal com hipertensão leve a moderada. Em alguns estudos, mas não em todos eles, verificou-se que a prática regular de exercício físico reduz a pressão arterial em pacientes hipertensos (KATZUNG, 2006).

Sendo a hipertensão arterial sistêmica uma doença crônica, ela pode ser controlada, mas não curada, requerendo tratamento por toda a vida. Um fato preocupante é que muitos indivíduos só descobrem que são portadores da doença quando apresentam complicações graves, haja vista que a hipertensão pode evoluir por um longo período sem ocasionar sintomas. De toda a população de hipertensos, cerca de um terço não sabe que tem a doença e, dentre os que sabem, apenas a metade adere, efetivamente, ao tratamento. Segundo a Sociedade Brasileira de Hipertensão, estudo concluído pela OMS revelou que a manutenção do tratamento por parte dos pacientes portadores de doenças crônicas nos países desenvolvidos é realizada por apenas 50% dos doentes. Mas nos países em desenvolvimento esse número é muito menor (ARAÚJO; GARCIA, 2006).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Hipertensão, estudo realizado pela OMS ressalta, como prejuízos do não-cumprimento do tratamento, as complicações médicas e psicossociais da enfermidade, a redução da qualidade de vida dos pacientes, a maior probabilidade de resistência aos fármacos e o desperdício dos recursos assistenciais (ARAÚJO; GARCIA, 2006).

Com frequência, os agentes anti-hipertensivos em altas doses não são muito eficazes durante a administração crônica e quase sempre causam efeitos colaterais. Os efeitos adversos são particularmente importantes uma vez que a maioria dos pacientes hipertensos não apresenta sintomas, exceto durante uma emergência. Somente quando surgem complicações secundárias como derrame, é que a doença se torna sintomática. Portanto, qualquer fármaco com um efeito adverso faz o paciente sentir-se pior e com isso sua submissão ao tratamento é frequentemente inadequada (RANG et al., 2004; HOFFMAN et al., 2004).

A primeira escolha de tratamento baseia-se no princípio geral que o fármaco menos tóxico seja capaz de exercer controle efetivo da pressão sanguínea devendo ser utilizado em primeiro

lugar de modo a maximizar a submissão do paciente ao tratamento. Vários tipos diferentes de fármacos podem ser escolhidos como forma inicial de terapia de acordo com a apresentação de cada paciente individualmente. Se o fármaco for inadequado, deve ser substituído por outro de outra classe, ou um fármaco de outra classe deve ser utilizado além do primeiro fármaco (HOFFMAN et al., 2004).

Os fármacos anti-hipertensivos podem ser assim divididos: 1) agentes anti-hipertensivos iniciais: diuréticos, inibidores adrenérgicos, inibidores da ECA, antagonistas de cálcio e antagonistas do receptor da angiotensina II; 2) agentes anti-hipertensivos suplementares: antagonistas alfa 2 de ação central, antagonistas adrenérgicos de ação periférica, agonistas dos receptores imidazolínicos e vasodilatadores diretos e 3) agentes anti-hipertensivos pulmonares: bosentana e sildenafil (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

Os bloqueadores de canais de cálcio estão recomendados quando os agentes de primeira linha estão contra-indicados ou são ineficazes. Apesar de seu amplo uso, não está claro o efeito desta terapia anti-hipertensiva na prevenção das moléstias a ela associadas. Em hipertensos, um estudo retrospectivo sugere que o uso de bloqueadores de canais de cálcio de curta duração, especialmente em doses elevadas, está associado com aumento no risco de infarto de miocárdio (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

1.2 Bloqueadores de canais de cálcio

Desde o final da década de 1800, sabe-se que é necessário haver um influxo de cálcio para contração do músculo liso e do músculo cardíaco. A descoberta de um canal de cálcio no músculo cardíaco foi seguida do achado de vários tipos distintos de canais de cálcio em diferentes tecidos. Como resultado da descoberta desses canais, tornou-se possível desenvolver fármacos bloqueadores de utilidade clínica. Embora os bloqueadores terapêuticos bem-sucedidos desenvolvidos até o momento tenham sido exclusivamente bloqueadores dos canais do tipo L, os bloqueadores seletivos de outros tipos de canais de cálcio estão em fase de intensa pesquisa (KATZUNG, 2006).

Os bloqueadores de canais de cálcio inibem a entrada de cálcio para o interior das células estriadas cardíacas e lisas das coronárias e redes arteriais sistêmicas. Todos os bloqueadores de canais de cálcio são, dessa maneira, vasodilatadores que promovem diminuição do tono da musculatura lisa e da resistência periférica. Em doses clínicas, estes agentes afetam

primariamente a resistência da musculatura lisa e o miocárdio (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

A concentração intracelular de cálcio desempenha importante papel na manutenção do tono da musculatura lisa e na concentração do miocárdio. O cálcio penetra nas células musculares através de canais de cálcio voltagem-dependentes especiais. Isto dispara a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático e da mitocôndria, o que aumenta a seguir o nível citólico de cálcio. Os antagonistas de canais de cálcio bloqueiam o movimento de entrada do cálcio ligando-se aos canais de cálcio do tipo L no coração e na musculatura lisa das coronárias e dos vasos periféricos. Isto causa relaxamento da musculatura lisa dos vasos, dilatando principalmente as arteríolas (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998).

Os antagonistas de canais de cálcio do tipo L compreendem três classes quimicamente distintas: as fenilalquilaminas, as diidropiridinas e as benzotiazepinas (por exemplo, diltiazem). Todas as substâncias de cada uma das três classes químicas ligam-se à subunidade alfa 1 do canal de cálcio cardíaco do tipo L, porém em sítios distintos, cada um dos quais interage de modo alostérico entre si e com a estrutura de “comporta” do canal, impedindo indiretamente a difusão do Ca^{2+} através de seu poro no canal aberto (RANG et al., 2004).

Os bloqueadores dos canais de cálcio de liberação prolongada, formulações de liberação lenta com ativações simpáticas mínimas ou aqueles com meias-vidas longas, teriam um efeito positivo maior, pois proporcionam um controle mais uniforme da pressão arterial e são mais apropriados para o tratamento da hipertensão crônica (KATZUNG, 2006; SILVA, 2006).

1.3 Cloridrato de diltiazem

1.3.1 Características físico-químicas e químicas

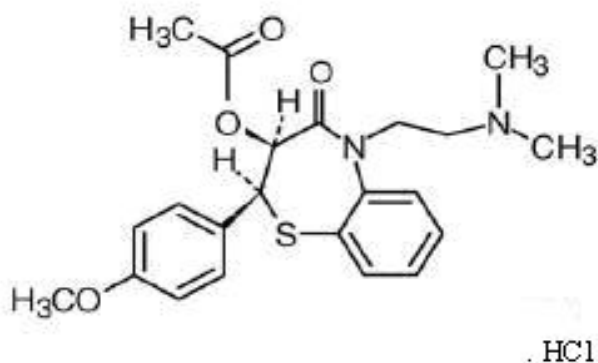


Figura 1- Estrutura química do cloridrato de diltiazem

Fonte: FARMACOPÉIA Portuguesa VII (2002, p. 1158).

O cloridrato de diltiazem é um pó cristalino, branco, inodoro, de fórmula molecular $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$, com peso molecular de 451. Funde a cerca de $213^{\circ}C$, com decomposição. Apresenta teor de 98,5 a 101,0%, calculado sobre a substância seca. Possui valores de pH entre 4,3 a 5,3 solubilizado a 1% (p/v) em água. É facilmente solúvel em água, clorofórmio, ácido fórmico e metanol. Pouco solúvel em etanol, praticamente insolúvel em benzeno e insolúvel em éter. Deve ser armazenado em recipientes fechados e protegido da luz (F. Portuguesa VII, 2002; SWEETMAN, 2005; BUDAVANI et al., 1989).

O medicamento é disponibilizado pelas indústrias farmacêuticas na forma de comprimidos e cápsulas para administração oral e de solução injetável para administração parenteral, nas seguintes dosagens (KATZUNG, 2006; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007; BRASIL, 2010a):

- comprimidos simples: 30 e 60 mg;
- comprimidos de liberação prolongada: 90, 120, 180 e 240 mg;
- cápsulas de liberação prolongada: 90, 120, 180, 240, 300 e 360 mg;
- solução injetável: 5 mg/mL.

O cloridrato de diltiazem é comercializado mundialmente. No Brasil, os principais medicamentos usados são: Angiolong e Angiolong AP (Farmalab-Chiesi), Balcór, Balcór IV e Balcór Retard (Baldacci), Calzem (Cazi), Cardizem, Cardizem CD e Cardizem SR

(Boehringer Ingelheim), Cloridrato de Diltiazem (Apotex, Biosintética, EMS, Germed, Mepha, Nature's Plus, Ranbaxy, Sigma Pharma), Diltiacor (Biolab Sanus), Diltiazem AP (Farmacia), Diltipress (Sigma Pharma), Diltizem (Allergan & Searle), Diltizem e Diltizem AP (Farmacia Brasil), Incoril AP 90, Incoril AP 120, Incoril AP 180 e Incoril AP 240 (Merck Bagó) (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007; BRASIL, 2010a; BRASIL, 2010b).

O medicamento é disponível, também, na forma farmacêutica cápsula em farmácias magistrais, nas dosagens de 30 e 60 mg, sendo de liberação imediata, visto que as farmácias magistrais não possuem ainda recursos tecnológicos para manipulação de cápsula de liberação prolongada.

1.3.2 Propriedades farmacocinéticas

Administrado por via oral, o cloridrato de diltiazem é bem absorvido pelo trato gastrintestinal. Mais de 90% de uma dose são rapidamente absorvidos (RANG et al., 2004; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

É um fármaco que caracteriza-se por apresentar um acentuado efeito de primeira passagem. Apresenta uma biodisponibilidade oral de 40 a 65%, podendo atingir 90% com o uso crônico (KATZUNG, 2006; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

O cloridrato de diltiazem possui meia-vida bifásica: a primeira fase, mais curta, de 20 a 30 minutos e a segunda, mais longa, de aproximadamente 3,5 horas (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007), tendo início de ação em 30 a 60 minutos para comprimidos e 2 a 3 horas para cápsulas de liberação prolongada (CAETANO, 2007).

Este fármaco apresenta alta taxa de ligação a proteínas: 70 a 80% ligados às proteínas plasmáticas; 35 a 40% à albumina, atingindo a concentração máxima em 30 minutos a 3 horas (KATZUNG, 2006; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

O cloridrato de diltiazem é extensamente metabolizado. Apresenta meia-vida de eliminação mais curta devendo ser administrado com um intervalo de dose menor ou à partir de formulações de liberação lenta para permitir a administração de uma única dose ao dia (RANG et al., 2004), sofrendo biotransformação hepática; o principal metabólito é o desacetildiltiazem, que tem 25 a 50% da atividade de dilatação coronariana do diltiazem. Os

metabólitos são excretados 60% pela bile e 40% pela urina (incluindo o desacetildiltiazem), 2 a 4% na forma inalterada (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

1.3.3 Posologia

A administração de comprimidos simples, em adultos, como antianginoso, inicia-se com 30 mg, 4 vezes ao dia, antes das refeições, podendo a dose ser aumentada gradualmente até o máximo de 360 mg diariamente. E como antiarrítmico, 60 a 120 mg, 3 vezes ao dia, antes das refeições (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007). Na hipertensão, a administração deve-se iniciar com 30 mg, 3 ou 4 vezes ao dia, ajustando a dose gradativamente, tendo o limite de dose para adultos de 360 mg ao dia (CAETANO, 2007).

A administração de comprimido ou cápsula de liberação prolongada AP, SR ou RETARD, na hipertensão, deve-se iniciar com 60 a 120 mg, 2 vezes por dia, ajustando a dose após 2 semanas, se necessário, tendo como limite de dose para adultos de 360 mg ao dia, devendo a ingestão ser sem partir ou mastigar. E para cápsula de liberação prolongada CD, deve-se iniciar com 120 a 240 mg, em dose única diária, ajustando a dose após 2 semanas, se necessário, tendo como limite de dose para adultos de 360 mg ao dia, devendo a ingestão também ser sem partir ou mastigar (CAETANO, 2007).

A administração IV, inicia-se com a dose de 0,25 mg/kg administrada durante 2 minutos com monitorização cardíaca e vigilância da PA. Após 15 minutos, se não houver resposta adequada, poderá ser utilizada dose de 0,35 mg/kg. E a administração por via IV contínua, com a finalidade de baixar a frequência cardíaca na fibrilação ou *flutter* atrial, deve ser de 10 mg/h após a administração IV. Doses posteriores podem ser aumentadas de 5 mg/h até o máximo de 15 mg/h. Deverá ser diluído em soro fisiológico (SF) a 0,9% ou soro glicosado a 5% (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

Idosos podem ser mais sensíveis às doses habituais (CAETANO, 2007).

1.3.4 Superdosagem

Nos eventos de superdosagem ou respostas exageradas, medidas apropriadas de suporte devem ser empregadas, além da lavagem gástrica. Os pacientes devem procurar socorro médico imediatamente. As seguintes medidas devem ser consideradas: Bradicardia: administrar atropina (0,6 a 1 mg), não havendo resposta vagal, administrar isoproterenol, cautelosamente. Bloqueio AV de alto grau: tratar como para bradicardia. Insuficiência cardíaca: administrar agentes inotrópicos (isoproterenol, dopamina ou dobutamina) e diuréticos. Hipotensão: vasopressores (dopamina ou bitartarato de levarterenol) (BRASIL, 2010b).

1.3.5 Interações medicamentosas

O cloridrato de diltiazem apresenta uma série de interações medicamentosas. Quando administrado concomitantemente com a digoxina, pode elevar a concentração plasmática desta, através da inibição de sua secreção tubular pela P-glicoproteína, sendo necessário o ajuste de dose da digoxina.

Na associação com antiinflamatórios não-hormonais, especialmente a indometacina, pode diminuir o efeito do cloridrato de diltiazem. E com outros anti-hipertensivos pode ocorrer aumento dos efeitos anti-hipertensivos (BRASIL, 2010b). O cloridrato de diltiazem reduz a depuração do propranolol, devendo-se evitar o uso desta combinação (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

A administração concomitante com beta-bloqueadores pode resultar numa soma de efeitos sobre o funcionamento do coração, podendo ocorrer pressão muito baixa e mau funcionamento do coração (insuficiência cardíaca), principalmente em pessoas com problemas no músculo que envolve o coração (BRASIL, 2010b).

O cloridrato de diltiazem pode interferir no metabolismo hepático da ciclosporina e da carbamazepina, podendo ocorrer nefrotoxicidade e neurotoxicidade, respectivamente. Ele leva a um aumento nas concentrações plasmáticas de ciclosporina no estado de equilíbrio dinâmico ao inibir o seu metabolismo, sendo necessário uma redução na dose de ciclosporina em cerca de 40% (BRASIL, 2010b, GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

O cloridrato de diltiazem pode aumentar o risco de toxicidade de: lítio, quinidina, teofilina, valproato; ter sua ação diminuída por: estrogênios, rifampicina, simpaticomiméticos, suplementos de cálcio; podendo ter efeitos inotrópicos negativos aumentados com: disopiramida, flecainida, procainamida, quinidina; e também, pode aumentar os riscos de queda de pressão com os anestésicos inalatórios hidrocarbonados (CAETANO, 2007).

No uso concomitante de cimetidina pode ocorrer elevação das concentrações máximas de diltiazem no sangue; já associado ao uso de anestésicos, o cloridrato de diltiazem pode aumentar os efeitos cardiológicos e circulatórios dos anestésicos. Desta maneira, o uso concomitante de anestésicos e antagonistas do cálcio deve ser cuidadosamente dosado (BRASIL, 2010b).

1.3.6 Indicações

O cloridrato de diltiazem é indicado no tratamento de hipertensão essencial; tratamento de angina clássica e angina vasoespasmódica (dores fortes no peito e falta de ar); profilaxia e tratamento de taquiarritmias supraventriculares; coronariopatias isquêmicas acompanhadas de aumento da frequência cardíaca e/ou hipertensão arterial (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007; BRASIL, 2010b).

1.3.7 Advertências e contra indicações

A administração de diltiazem pode, ocasionalmente, causar hipotensão arterial sintomática e dose-dependente (BRASIL, 2010b).

O cloridrato de diltiazem deve ser administrado com precaução a pacientes com bloqueio atrioventricular de 1º grau, sendo necessário um acompanhamento clínico constante. Deve ser usado com cautela e vigilância médica frequente em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência renal ou hepática e em pacientes idosos, uma vez que nestes pacientes a meia-vida dos bloqueadores dos canais de cálcio pode estar aumentada (BRASIL, 2010b).

O cloridrato de diltiazem é contra-indicado na síndrome do nódulo sinusal; no bloqueio sinoatrial; bloqueio atrioventricular de 2º ou 3º graus, exceto em pacientes com marcapasso ventricular funcionante; em pacientes com função ventricular diminuída; na hipotensão arterial (valor sistólico inferior a 90 mmHg); na bradicardia acentuada (pulso inferior a 55 bpm); mau funcionamento do coração (insuficiência cardíaca descompensada); infarto agudo do miocárdio com congestão pulmonar; hipersensibilidade ao diltiazem. É também contra-indicado durante a gravidez ou em pacientes com possibilidade de engravidar; no período de lactação e na infância (BRASIL, 2010b; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

1.3.8 Farmacodinâmica

O canal de cálcio do tipo L é o tipo dominante no músculo cardíaco e no músculo liso, e sabe-se que ele possui receptores para diversos fármacos. Os fármacos atuam pelo lado interno da membrana e ligam-se mais efetivamente a canais em membranas despolarizadas. A ligação do fármaco reduz a frequência de abertura em resposta à despolarização. Em consequência, observa-se acentuada redução na corrente de cálcio transmembranosa associada, no músculo liso, a um relaxamento prolongado e, no músculo cardíaco, a uma redução da contratilidade em todo o coração e diminuição na frequência do marca-passo do nó sinusal e na velocidade de condução no nó atrioventricular (KATZUNG, 2006).

O cloridrato de diltiazem é um bloqueador dos canais de cálcio que impede o transporte de cálcio através da membrana da célula miocárdica e da célula muscular lisa vascular. Por conseguinte, prolonga o componente lento do potencial de ação e também prolonga o período refratário efetivo. Esse efeito é observado particularmente nos nós sinoatrial e atrioventricular, comprometendo a condução. O efeito sobre o músculo liso vascular resulta em vasodilatação periférica e redução da pré-carga cardíaca. Esse efeito, associado à redução da contratilidade miocárdica, diminui as necessidades de oxigênio do miocárdio (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

Diminui a concentração de cálcio no interior das células do músculo cardíaco e da musculatura lisa vascular; dilata então as coronárias, as artérias periféricas e as arteríolas; reduz a frequência cardíaca, a contratilidade do miocárdio e a condução atrioventricular (CAETANO, 2007).

Na angina do peito, por espasmos coronarianos o efeito do cloridrato de diltiazem deve-se à dilatação específica das artérias coronarianas epicárdicas e subendocárdicas. O fármaco proporciona aumento da tolerância ao exercício físico na angina de esforço, devido à redução do consumo de oxigênio do miocárdio, promove a redução da frequência cardíaca e da tensão arterial sistêmica à sobrecarga física submáxima e máxima, e, comparado a outros antagonistas do cálcio, apresenta um início de ação menos brusco, facilitando uma adequação posológica e melhor tolerabilidade geral. Promove ainda uma diminuição de tensão arterial e da resistência (BRASIL, 2010b).

1.3.9 Reações adversas

O cloridrato de diltiazem apresenta várias reações adversas, sendo as mais frequentes: inchaço, dor de cabeça, náusea, tontura, fraqueza, erupções cutâneas, distúrbio gastrintestinal (BRASIL, 2010b).

Outros efeitos também relatados, mas com menor frequência, são: vermelhidão do rosto (rubor facial), secura da boca, pressão baixa, alteração nas batidas do coração (arritmia), insuficiência cardíaca, elevação das enzimas hepáticas, insuficiência renal aguda, parada cardíaca, sensação estranha na pele, reações dermatológicas, como necrose epidérmica, edema de tornozelos, sonolência, tremor, aumento da micção noturna, perda de apetite, vômitos, aumento de peso, feridas na pele e nas mucosas, sensibilidade à luz, urticária, síndrome de Stevens-Johnson, doença potencialmente fatal (BRASIL, 2010b; KOROLKOVAS; FRANÇA, 2007).

Os efeitos do diltiazem sobre os nós sinoatrial e atrioventricular podem causar bradicardia sinusal e comprometimento da condução atrioventricular. Por conseguinte, o diltiazem deve ser evitado em pacientes com síndrome do seio enfermo, bradicardia sinusal e bloqueio atrioventricular (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

É teratogênico em animais e, portanto, não deve ser utilizado durante a gravidez (GRAHAME-SMITH; ARONSON, 2004).

1.4 Teste de dissolução

Dissolução é o processo no qual o fármaco ou a substância ativa é dissolvida em um solvente. Em sistemas biológicos, a dissolução do fármaco em um meio aquoso é condição importante para a sua absorção sistêmica (FERREIRA, 2002).

Os compostos para serem administrados oralmente devem ter adequada solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, de forma a atingir sua concentração terapêutica na circulação sistêmica (ÇELIK, 1996; BALIMANE; CHONG; MORRISON, 2000).

Episódios de intoxicação, além da inefetividade de medicamentos levaram aos estudos de biodisponibilidade de produtos farmacêuticos mostrando que variações na formulação ou na técnica de fabricação podem gerar diferenças substanciais na absorção e, conseqüentemente, na resposta terapêutica dos fármacos (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

As modificações decorrentes das variações na formulação ou na técnica de fabricação podem ser monitoradas *in vitro* pelo perfil de dissolução, por meio da quantificação da fração de fármaco dissolvido e *in vivo* pela sua concentração plasmática, ambas em função do tempo. Os dados *in vivo* permitem determinar a biodisponibilidade do fármaco (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

Os testes de dissolução para formas farmacêuticas sólidas foram inicialmente incluídos na Farmacopeia Americana na década de 1960. Estes objetivam avaliar a cedência do fármaco contido ou não (dissolução intrínseca) em uma forma farmacêutica, para um meio similar aos líquidos corpóreos. O obstáculo mais significativo à aplicação universal dos métodos de dissolução foi a padronização das condições necessárias ao teste e que possibilitam a reprodução dos resultados por outros laboratórios. A partir desta constatação foram estudadas diferentes variáveis como: vibração durante o funcionamento do equipamento, alinhamento e velocidade do sistema de agitação, geometria da cuba de dissolução, adsorção, presença de gás dissolvido nos meios de dissolução, centralização dos cestos, posição/local de amostragem, entre outras. Os resultados desses trabalhos originaram o guia de dissolução publicado em 1978, nos Estados Unidos (COX et al., 1978).

Os estudos de dissolução representam uma ferramenta indispensável para as várias etapas dos processos de desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos, permitindo verificar a estabilidade dessas formulações. Na área de produção farmacêutica e controle de qualidade, os resultados do teste de dissolução podem ser empregados para detectar desvios de

fabricação, para assegurar uniformidade durante a produção de um lote e reprodutibilidade lote a lote. Testes de dissolução também podem ser utilizados para avaliar mudanças após o registro do produto e podem auxiliar na decisão para a realização de estudos de bioequivalência (MARQUES, 2002).

A modernização dos processos de produção farmacêutica e as pesquisas sobre diferentes formas de liberação de fármacos, como formas farmacêuticas sólidas de liberação prolongada e/ou retardada, têm suscitado o estudo de novas condições para realização do teste de dissolução. Isto tem ocasionado, também, maior ênfase no uso dos resultados *in vitro* para a previsão dos efeitos da terapêutica *in vivo* (KHAN, 1996; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

O teste de dissolução, que era inicialmente indicado para fármacos com baixa solubilidade, vem sendo mais amplamente utilizado. Para realização do teste é necessário estabelecer condições, como: tipo de agitação, volume e características do meio de dissolução (de acordo com a solubilidade do fármaco e o local do TGI onde ocorre sua absorção) e valor de cedência do fármaco em função do objetivo terapêutico do medicamento. Para isto são consideradas as características físico-químicas da molécula e o poder discriminativo desejável para o teste. Os resultados obtidos devem possibilitar comparar a influência do processo produtivo e das variáveis da formulação com a adequada e completa liberação do fármaco em determinado tempo (SATHE; TSONG; SHAH, 1996; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Baseado no princípio de que o controle da extensão e velocidade de absorção de um fármaco, administrado por via oral, depende basicamente de dois aspectos: a solubilidade do próprio fármaco, e sua permeabilidade através das membranas biológicas, foi proposto o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que divide os fármacos em quatro classes, no qual são contempladas as características de solubilidade e permeabilidade de cada fármaco (AMIDON et al., 1995; PILLAI; DHANIKULA; PANCHAGNULA, 2001; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; BRASIL, 2003b).

Embora o SCB esteja limitado a dois dos quatro fatores condicionantes da biodisponibilidade do fármaco, providencia, no entanto, um ponto de partida muito útil no reconhecimento de quando e como os ensaios de dissolução podem ser úteis no desenvolvimento e avaliação de formas farmacêuticas orais (AMIDON et al., 1995).

Fármacos considerados de alta solubilidade são aqueles que em sua maior dosagem se dissolvem em meio aquoso com variação de pH de 1 a 8, em um volume de 250 mL ou

menos, a 37°C (KAUS et al., 1999). Os compostos pertencentes à Classe I, ou seja, compostos com alta solubilidade e alta permeabilidade, devem ser rapidamente solubilizados quando incluídos em formas farmacêuticas de liberação imediata e, também, ser rapidamente transportados através da parede do trato gastrintestinal. Portanto, espera-se que estes fármacos sejam bem absorvidos a menos que sejam instáveis, formem complexos insolúveis, sejam segregados diretamente a partir da parede do trato gastrintestinal, ou sofram metabolismo de primeira passagem. Portanto, os ensaios de dissolução para as formulações de liberação imediata de fármacos pertencentes à Classe I necessitam apenas da verificação de que o fármaco é de fato rapidamente liberado da sua forma farmacêutica num meio aquoso (DRESSMAN et al., 1998; DRESSMAN; FLEISHER, 1986).

Estão agrupados na Classe II os fármacos de alta permeabilidade, mas baixa solubilidade. Esta é a classe na qual o perfil de dissolução deve estar muito bem definido e ser altamente reprodutível. A dissolução dos fármacos da Classe II é o passo limitante para absorção, desta forma, as condições nas quais o ensaio de dissolução será realizado devem estar muito bem definidas. A adequada comparação das formulações contendo fármacos desta classe, requer ensaios de dissolução com múltiplas amostragens de modo a caracterizar o perfil de liberação. Devem ainda ser considerados meios que reflitam a situação *in vivo*, como a adição de surfactantes. Para se obter boas correlações *in vitro/in vivo*, são particularmente importantes o estudo do meio de dissolução e o emprego de metodologias que reflitam o controle do processo *in vivo* (AMIDON et al., 1995; GALIA et al., 1998). O estabelecimento de correlação *in vitro/in vivo* e o resultado da habilidade em discriminar formulações com diferentes biodisponibilidades irá depender de quão bem os ensaios *in vitro* foram estabelecidos (DRESSMAN et al., 1998; DRESSMAN; FLEISHER, 1986; FDA, 2010).

A Classe III abrange os fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade. Neste caso a permeabilidade é o passo que controla a velocidade de absorção do fármaco. Tanto a extensão quanto a velocidade de absorção podem ser altamente variáveis para esta classe de fármacos, mas se a dissolução é rápida, por exemplo, 85% dissolvido em menos de 15 minutos, esta consideração estará mais susceptível às variações do trato gastrintestinal do que aos fatores da forma farmacêutica (AMIDON et al., 1995).

Fármacos de baixa solubilidade e baixa permeabilidade estão agrupados na Classe IV, e são os que potencialmente podem apresentar problemas de absorção quando administrados por via oral. O estabelecimento de correlações para esta classe de fármacos é muito restrito (AMIDON et al., 1995). Estes fármacos têm uma fraca absorção em geral, mas considera-se

que, tal como no caso dos fármacos de Classe II, uma pobre ou má formulação pode ter uma influência adicional negativa tanto na taxa como na extensão da absorção do fármaco (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Portanto para as quatro categorias, considera-se que ensaios de dissolução bem concebidos podem ser a chave para o prognóstico na determinação da absorção oral e da bioequivalência dos fármacos a partir da sua forma farmacêutica (DRESSMAN et al., 1998).

O estabelecimento de uma correlação entre parâmetros inerentes ao fármaco, determinados *in vitro*, e as consequências de sua absorção determinadas *in vivo*, poderia minimizar custos no desenvolvimento e pesquisa de novas opções terapêuticas. Visando desenvolver modelos *in vitro* para prever a absorção destes novos fármacos, atualmente são realizadas pesquisas objetivando estimar a sua permeação através de membranas biológicas e criar modelos associando dissolução/permeação (GINSKI; POLLI, 1999). Foram descritos na literatura sistemas que mimetizam as mudanças fisiológicas e de pH do TGI. Para tal, o medicamento ou fármaco é adicionado, sob agitação, a um recipiente contendo meio líquido com pH 1, sendo este acoplado a outro recipiente cujo pH do meio foi modificado para 6. Este sistema possibilita avaliar a dissolução e a permeação de fármacos solúveis em água, prevendo sua velocidade de absorção após administração oral em humanos (KOBAYASHI et al., 2001; HE et al., 2003).

Uma série de fatores podem interferir na velocidade de dissolução, descritos a seguir:

1.4.1 Fatores que interferem na dissolução relacionados ao fármaco e formulação

Solubilidade: é um parâmetro termodinâmico que representa a concentração da solução de um fármaco em equilíbrio com o soluto. É o fator que mais afeta a velocidade de dissolução (ABDOU, 1989; STORPIRTIS, 1999). Pode ser determinada por meio da adição de um excesso de fármaco ao meio, seguido de agitação, filtração e quantificação do fármaco dissolvido (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Tamanho de partícula: um fármaco dissolverá mais rápido quanto maior for a sua área de superfície, ou seja, quanto menor for o tamanho de suas partículas. Por essa razão, muitos fármacos se encontram micronizados, de forma a facilitar a sua dissolução e,

consequentemente, sua absorção. Entretanto, existem alguns casos em que a diminuição do tamanho das partículas não apresenta vantagens para a absorção. Nos casos em que há degradação do fármaco nos líquidos gástricos, a redução do tamanho das partículas é contraindicada (LEVY, 1963). Outros fatores que também exercem influência na área de superfície são a forma da partícula e sua densidade (ABDOU, 1989).

Natureza química: estado amorfo, cristalino e a existência de polimorfos (cristais com arranjos espaciais diferenciados que apresentam diferentes propriedades físicas) são alguns dos fatores a se considerar. Geralmente, substâncias amorfas são mais solúveis que as cristalinas, assim como substâncias anidras são mais solúveis que as hidratadas do mesmo fármaco (GIBALDI, 1991; YATES, 1992). A formação de sais (principalmente sódicos e potássicos) é um recurso muito utilizado para aumentar a solubilidade de um ácido fraco. O mesmo acontece com sais ácidos de bases fracas, mas também é possível a formação de um sal pouco solúvel (GIBALDI, 1991). A formação de ésteres geralmente leva a uma redução na dissolução (YATES, 1992). Outro fator a ser considerado é a presença de impureza (STORPIRTIS, 1999).

Forma farmacêutica: cápsulas de gelatina, de modo geral, rompem-se rapidamente expondo seu conteúdo aos líquidos do TGI, mas a tecnologia de fabricação e os diluentes presentes na formulação podem fazer com que a dissolução não ocorra tão rapidamente quanto o esperado. A dissolução de comprimidos depende, primariamente, da desintegração dos comprimidos e dos grânulos (para aqueles comprimidos que desintegram). Comprimidos revestidos, sejam eles de revestimento entérico ou não, devem ter o revestimento rompido antes que possam sofrer desintegração e posterior dissolução (GIBALDI, 1991).

Excipientes: praticamente todos os excipientes envolvidos na formulação exercem alguma influência na dissolução, seja ela negativa ou positiva. Lubrificantes insolúveis, por exemplo, retardam o processo de dissolução, assim como a utilização de goma na granulação úmida (conforme aumenta a concentração utilizada, diminui a dissolução). Já o aumento da concentração de amido que atua como diluente e desintegrante, tende a facilitar a dissolução (WOOD, 1966; ABDOU, 1989). Os diluentes, na realidade, podem aumentar ou diminuir a taxa de absorção conforme suas características físico-químicas. A utilização de polímeros hidrossolúveis e gelatina como ligantes tem mostrado um aumento nas taxas de dissolução de fármacos pouco solúveis (GIBALDI, 1991; BANAKAR, 1992). Um outro fator a ser considerado é a adsorção do fármaco a componentes da formulação (BANAKAR, 1992).

Tecnologia de fabricação: o tipo de granulação utilizada, via seca ou via úmida tem impacto significativo na dissolução. Há relatos, por exemplo, em que foi possível aumentar a solubilidade de compostos pouco solúveis utilizando a técnica de *spray-drying* para aplicar uma solução diluída de solvente ao fármaco contendo desintegrantes adequados (TAKEUCHI; HANDA; KAWASHIMA, 1987). De modo geral, a granulação úmida favorece a dissolução de fármacos pouco solúveis por conferir a eles características mais hidrofílicas (ABDOU, 1989). A força de compressão é uma variável complexa que pode afetar a dissolução de diferentes formas. Uma das possíveis respostas para essa questão foi apresentada por Smith, que afirma que quando as partículas tendem a se ligar durante o processo de compressão, a dissolução pode diminuir. Por outro lado, quando as partículas não se ligam, a taxa de dissolução pode aumentar. Em outras palavras, significa que a taxa de dissolução depende das mudanças no tamanho de partícula ou de área de superfície durante o processo de compressão (SMITH; BAKER; WOOD, 1971). O comportamento da dissolução frente a comprimidos produzidos utilizando diferentes forças de compressão varia conforme a formulação e as características de seus componentes (KHAN; RHODES, 1972).

1.4.2 Fatores que interferem na dissolução relacionados ao equipamento

Aparato utilizado: é reconhecido que os aparatos oferecem condições de trabalho diferentes dependendo do seu mecanismo. Consequentemente, parâmetros como velocidade de agitação e meio de dissolução diferem significativamente de aparato para aparato (BANAKAR, 1992).

Geometria do sistema: o eixo do elemento de rotação (cesta ou pá) deve coincidir em todos os pontos com o eixo central da cuba, sendo permitido no máximo um desvio de +/- 2 mm, desde que isso não afete a velocidade de agitação (PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990). O ideal é que as hastes rodem sem excentricidade (sem se desviar desse eixo) perceptível (ou significativa). De modo geral, desvios superiores aos citados causam um aumento na taxa de dissolução (BANAKAR, 1992).

Vibração do sistema: o ideal é que não haja nenhum tipo de vibração no sistema, uma vez que ela pode alterar o fluxo laminar e introduzir energia dinâmica indesejável, o que, eventualmente, pode causar mudanças significativas na cinética de dissolução de alguns produtos (PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990). Por isso, os aparelhos devem ser posicionados

em bancadas niveladas e livres de vibração oriunda de outros equipamentos (VANKEL, 1999).

Velocidade de agitação: a taxa de dissolução é diretamente afetada pela velocidade de agitação, uma vez que a espessura da camada de difusão é inversamente proporcional à velocidade de agitação (BANAKAR, 1992). Velocidades de agitação baixa e alta podem ser utilizadas para notar diferenças dependendo da formulação a ser testada (WOOD, 1966), já que vários fatores e as características de cada formulação podem influenciar a extensão em que a velocidade de agitação afeta a dissolução (ABDOU, 1989). Uma variação de 4-5% nas velocidades é permitida pelas farmacopeias americana e britânica.

Posição da haste: devem ser observadas as especificações farmacopeicas para posicionamento da haste dentro da cuba, obedecendo-se os limites estabelecidos, já que o mau alinhamento pode causar distúrbios tão significativos no fluxo, que a taxa de dissolução pode variar +/- 25% de teste para teste (BANAKAR, 1992).

Posição e método de amostragem: a posição de amostragem pode interferir em maior ou menor grau nos resultados da dissolução dependendo do tamanho das partículas de desintegração do produto e da diferença de densidade entre as partículas e o meio de dissolução. As farmacopeias trazem a indicação de qual é o local mais apropriado para retirar alíquotas do meio de dissolução (PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990). A introdução de coletores de amostra também pode causar modificações na hidrodinâmica do sistema (BANAKAR, 1992).

Dispositivo para formas farmacêuticas que flutuam: é permitido o uso de um dispositivo para auxiliar que formas farmacêuticas que tendem a flutuar (principalmente cápsulas) permaneçam no fundo da cuba de dissolução. Normalmente essas peças são de aço inoxidável. Embora a hélice seja a forma mais utilizada, existem outras que podem ser aplicadas sem que haja nenhum prejuízo ao processo de dissolução (SOLTERO et al., 1989).

1.4.3 Fatores que interferem na dissolução relacionados ao meio de dissolução

Volume: o volume apropriado do meio de dissolução depende principalmente da solubilidade do fármaco. De forma a minimizar os efeitos do gradiente de concentração e manter as condições *sink*, a concentração do fármaco não deve exceder 10-15% da sua

solubilidade máxima no meio selecionado. Para a maioria dos fármacos, com exceção daqueles pouco solúveis, cerca de 1 litro de meio é suficiente (ABDOU, 1989).

Presença de ar/gases: a presença de gases dissolvidos no meio de dissolução pode gerar vários problemas. Eles podem afetar o pH e impedir o fluxo adequado do meio de dissolução, provocar mudanças no movimento das partículas e diminuir o contato entre o líquido e o sólido formando pequenas bolhas na superfície da forma farmacêutica, uma vez que os gases podem formar bolhas durante mudanças de temperatura (VANKEL, 1999; PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990). A solubilidade de gases no meio de dissolução também depende da temperatura. O meio pode ser devidamente desaerado/desgaseificado por aquecimento a 45°C seguido por filtração a vácuo, por sonificação a 37°C, por ebulição seguida de esfriamento da água, ou por borbulhamento de gás hélio no meio (PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990; QURESHI; MCGILVERAY, 1995).

Presença de bolhas de ar: as bolhas de ar não têm relação com a presença de gases no meio de dissolução e podem aparecer em duas situações: quando se utiliza o aparato cesta, ao descer a cesta no meio pode-se formar uma bolha no fundo da mesma; ou ao redor da forma farmacêutica prejudicando a dissolução (VANKEL, 1999).

pH: o pH no trato gastrintestinal (TGI) varia entre 1,0 e 7,8. Dessa forma, a escolha do pH do meio deve considerar, principalmente, o tipo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica (imediate ou não) e o sítio de absorção do mesmo. Nem sempre o pH que favorece a absorção é aquele em que o fármaco melhor se dissolve (STORPIRTIS, 1999). Permite-se uma variação de 0,05 unidades em relação ao especificado no teste de dissolução de cada monografia. Apesar de combatida por alguns, a utilização de água como meio de dissolução se justifica principalmente porque ela não exerce nenhuma ação corrosiva no equipamento e apresenta frequentemente resultados comparáveis àqueles obtidos quando se utiliza um meio ácido (ABDOU, 1989).

Evaporação do meio: pode ser minimizada aquecendo-se o meio a 37°C antes de introduzi-lo na cuba de dissolução (MARCOLONGO, 2003).

Temperatura: normalmente temperaturas elevadas favorecem a dissolução e solubilidade do fármaco, dessa forma, recomenda-se que a temperatura do teste seja monitorada para não permitir grandes variações, no máximo meio grau, da temperatura considerada adequada (geralmente 37°C) (MARCOLONGO, 2003).

Viscosidade: de modo geral, quanto maior for a viscosidade do meio, mais lenta será a dissolução, uma vez que as moléculas dissolvidas têm seu trânsito dificultado pela viscosidade, principalmente nos processos controlados por difusão (BANAKAR, 1992).

Força iônica/pressão osmótica: essas duas variáveis estão intimamente relacionadas. Geralmente um aumento nos valores de força iônica ou pressão osmótica favorecem a dissolução (ABUZARUR-ALOUL et al., 1997; KHAN, 1996).

Tensoativo: os tensoativos orgânicos (sais biliares) normalmente são aniônicos ou não iônicos, com valores de EHL (equilíbrio hidrofílico-lipofílico) entre 16 e 20 (ABUZARUR-ALOUL et al., 1997). Dessa forma, a opção pelo uso de tensoativos pode levar esses fatores em consideração, quando se deseja aproximar o teste *in vitro* da situação *in vivo*. Os tensoativos diminuem a tensão superficial entre o sólido e o meio de dissolução favorecendo a dissolução, e podem ser utilizados mesmo abaixo da concentração micelar crítica (ABDOU, 1989).

1.4.4 Fatores que interferem na dissolução relacionados ao meio ambiente

Condições de estocagem: durante a estocagem o produto pode passar por mudanças nas suas características físico-químicas que, de alguma forma, podem afetar o seu desempenho *in vitro* e *in vivo* (RODRIGUES, 1999). Por isso é importante que o produto seja mantido nas condições indicadas pelo fabricante. Outro aspecto muito importante em relação à estocagem é a embalagem, que deve proteger o produto da melhor forma possível (MURTHY; GHEBRE-SELLASSIE, 1993). O grau em que os produtos podem ser afetados pela estocagem depende dos componentes da formulação. Um dos principais fatores que afetam a dissolução de produtos estocados é a umidade presente antes da compactação e a sensibilidade dos excipientes a este fator (ABDOU, 1989).

1.4.5 Fatores que interferem na dissolução relacionados ao método analítico

Método de filtração: os filtros utilizados não devem adsorver o fármaco, nem liberar partículas de material para a solução (PEZOA; CONCHA; GAETE, 1990).

Método analítico: deve estar validado para o procedimento. A grande maioria das monografias especifica que pode ser utilizado o método espectrofotométrico, embora tenha aumentado o número de métodos cromatográficos, principalmente CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) (MARCOLONGO, 2003).

1.5 Validação

A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis (RIBANI, 2004).

O objetivo da validação de um método é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida. Para a garantia da qualidade analítica dos resultados, todos os equipamentos utilizados na validação devem estar devidamente calibrados e os analistas devem ser qualificados e adequadamente treinados (BRASIL, 2003a).

Métodos de análise têm certos atributos como linearidade, exatidão, precisão, seletividade/especificidade, sensibilidade, robustez e todos devem ser considerados ao selecionar um que seja apropriado para uma situação específica. Nem sempre é possível ou mesmo desejável otimizar todos estes atributos simultaneamente. De forma resumida, o analista deve avaliar toda a informação disponível e decidir considerando o nível de incerteza aceitável (PINTO; KANEKO; OHARA, 2003).

Antes de prosseguir com a validação do método de dissolução deve-se ter certeza de que o aparato a ser utilizado está calibrado. Os instrumentos são considerados adequados caso a porcentagem de fármaco dissolvido em 30 minutos esteja dentro de uma faixa pré-estabelecida determinada em estudos colaborativos organizados pela United States Pharmacopoeia (USP) (QURESHI; MCGILVERAY, 1995).

A filtração do meio de dissolução antes da quantificação mostra-se necessária para a remoção tanto de partículas não dissolvidas da substância quanto de excipientes insolúveis que podem mascarar o resultado ou obstruir a coluna, no caso de serem utilizados métodos cromatográficos. Normalmente são empregados filtros descartáveis com porosidade entre 0,2

e 10 µm, compatíveis com o meio de dissolução e que não causam alterações significativas na concentração do fármaco em solução (SKOUG et al., 1997).

A avaliação das características dos filtros é necessária para a determinação de quais tipos são aplicáveis ao teste de dissolução. Para essa avaliação são preparadas soluções no meio de dissolução, nas concentrações mais baixa e mais alta estimadas. Estas soluções são filtradas e duas a quatro alíquotas de 5 mL do filtrado são retiradas para análise. Para estimar o volume de filtrado a ser descartado antes da análise, a concentração da substância na solução deve ser determinada antes e após a filtração. Para que o filtro seja considerado aceitável, os resultados obtidos em ambas as soluções devem ser os mais próximos possíveis. As amostras das substâncias ionizáveis devem ser preparadas em meios de dissolução de pH nos extremos da faixa de pH gastrintestinal (SKOUG et al., 1997).

Deve ser realizado um estudo preliminar de validação para determinar a adequação do método de quantificação, da seguinte forma (SKOUG et al., 1997):

1. Preparar cuidadosamente soluções de concentrações apropriadas (por exemplo: concentração de 10 a 110% do valor declarado de um comprimido) da substância em água e divididas em 3 partes. Na primeira parte deve ser feita a dosagem da solução tal qual, a segunda deve ser filtrada antes da quantificação, enquanto à terceira deve ser incorporado um placebo (em quantidade equivalente ou superior ao peso do comprimido teste), sendo que a solução obtida, após suave agitação a 37%, deve ser filtrada e quantificada.

2. A linearidade deve ser determinada graficamente pela plotagem das respostas da solução não filtrada x concentração preparada. A regressão linear deve gerar intervalos de confiança (normalmente 95%) de inclinação e pontos de intersecção que incluam a unidade e o zero, respectivamente. Qualquer desvio significativo em relação a este modelo ideal deve ser considerado e investigado (BRASIL, 2003a).

3. A concentração da substância nas soluções é determinada comparativamente a uma solução padrão, preparada em concentração idêntica àquela usada na dosagem das amostras dissolvidas, normalmente 100% do declarado. O resultado é calculado como a relação entre a concentração em estudo e a preparada. O percentual de retenção do filtro corresponde à diferença entre os valores obtidos com a solução filtrada e a não filtrada; o resultado combinado entre filtro e placebo corresponde à diferença entre os valores obtidos com o filtrado (contendo o placebo) e a amostra não filtrada. Em geral, os valores obtidos entre o

filtrado combinado e o placebo devem apresentar uma variação de até 5% acima dos limites de concentração testados.

4. A seletividade/especificidade é demonstrada graficamente pela sobreposição dos cromatogramas representativos ou espectros UV do branco (somente o meio de dissolução), da solução placebo filtrada, do padrão, da solução de dissolução filtrada ou da amostra recuperada (substância na presença de placebo). A ausência de um pico de interferência no cromatograma ou a falta de absorvância pelo placebo no comprimento de onda estabelecido demonstra a especificidade do método.

A Resolução RE nº 899, de 29/05/2003 determina que a validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar seletividade/especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, limite de detecção e exatidão adequados à análise.

Esses parâmetros são definidos, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária da seguinte forma:

Especificidade/Seletividade: é a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto na presença de outros componentes, tais como: impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (BRASIL, 2003a).

Linearidade: é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (BRASIL, 2003a).

Intervalo: é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e depende da aplicação pretendida do método. É estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequadas quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado (BRASIL, 2003a).

Precisão: é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada em três níveis (BRASIL, 2003a):

- Repetibilidade (precisão intra-corrída): concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. A repetibilidade

do método é verificada por, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada ou um mínimo de 6 determinações a 100% da concentração do teste.

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

- **Reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial):** concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes como em estudos colaborativos, geralmente aplicados à padronização de metodologia analítica, por exemplo, para inclusão de metodologia em farmacopeias. Estes dados não precisam ser apresentados para a concessão de registro. A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas.

Limite de Detecção: é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003a).

Limite de Quantificação: é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação é um parâmetro determinado, principalmente, para ensaios quantitativos de impurezas, produtos de degradação em fármacos e produtos de degradação em formas farmacêuticas e é expresso como concentração do analito (por exemplo, percentagem p/p ou p/v, partes por milhão) na amostra (BRASIL, 2003a).

Exatidão: é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade e da especificidade. É expressa pela relação entre a concentração média determinada e a concentração teórica correspondente (BRASIL, 2003a).

Robustez: é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal. Durante o desenvolvimento da metodologia, deve-se considerar a avaliação da robustez. Constatando-se a susceptibilidade do método a variações nas condições analíticas, estas deverão ser controladas e precauções devem ser incluídas no procedimento (BRASIL, 2003a).

A validação inclui também uma análise estatística dos resultados obtidos. Os métodos estatísticos utilizados devem ser determinados antes do início da validação (FDA, 2010).

2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo o estudo do comportamento *in vitro* do cloridrato de diltiazem, na forma farmacêutica cápsula, manipulado por diferentes farmácias, considerando os diferentes processos e excipientes utilizados, assim como a dosagem, usualmente, empregada na manipulação.

Tendo em vista que as cápsulas manipuladas no mercado brasileiro são de liberação imediata e que não há descrito, até o presente momento, nenhum ensaio de dissolução na literatura e nenhum compêndio oficial descreve uma monografia para esta forma farmacêutica, este trabalho propõe o estabelecimento de adequadas condições de dissolução (meio de dissolução, aparato e velocidade de agitação) que possam ser empregadas em laboratórios de controle de qualidade. Além disso, os métodos analíticos e o ensaio de dissolução a serem empregados serão validados de acordo com as normas estabelecidas por documentos nacionais e internacionais

3 RESULTADOS

Como descrito nas normas do Programa de Pós - graduação em Ciências Farmacêuticas, a critério do orientador e do discente, a dissertação poderá ser apresentada sob a forma de 01 (um) volume contendo: uma revisão e discussão ampla da literatura, seguida de artigo científico referente aos resultados obtidos no desenvolvimento da pesquisa. Para tanto foi redigido 01 (um) artigo que se encontra em fase de submissão.

3.1 Artigo

O artigo consiste no desenvolvimento e validação de um ensaio de dissolução para o cloridrato de diltiazem 60 mg, na forma farmacêutica cápsula de liberação imediata, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência e a espectrofotometria na região do UV como métodos de quantificação do ativo farmacêutico.

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF DISSOLUTION TEST FOR DILTIAZEM
HYDROCHLORIDE IN IMMEDIATE RELEASE CAPSULES**

Taciane Ferreira Mendonça^{1*}, Rudy Bonfilio², Eliézer Giannini de Barros¹, Gislaine Ribeiro Pereira¹ and Magali Benjamim de Araújo¹

¹ *Departamento de Farmácia, Centro de Equivalência Farmacêutica do Núcleo Controle de Qualidade, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714, 37130-000, Alfenas-MG, Brazil.*

² *Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rodovia Araraquara-Jaú, km 1, CEP 14801-902, Araraquara-SP, Brazil.*

**E-mail: tacifarma@hotmail.com*

ABSTRACT

This work describes the development and validation of a dissolution test for 60 mg diltiazem hydrochloride in immediate release capsules. Different conditions such as dissolution media, apparatus and rotation speeds were evaluated and the best dissolution *in vitro* profile was achieved using potassium phosphate buffer at pH 6.8 as dissolution medium and paddle as apparatus at 50 rpm. The drug concentrations in dissolution media were determined by UV spectrophotometry and HPLC. Both analytical methods as well as the dissolution test were developed in our laboratory and validated according to ICH guidelines and all the data meeting acceptance criteria. An assessment of commercial pharmaceutical products show that 30 minutes can be considered satisfactory as a routine quality control test for diltiazem hydrochloride in capsules. Moreover, a comparison of the three commercial products suggested the discriminatory power of the method. A statistical analysis revealed that there were significant differences between HPLC and spectrophotometry and the HPLC method was considered to be more reliable to evaluate the release-time of diltiazem hydrochloride from capsules. This study illustrates the importance of an official method for dissolution test, since there is no official monograph for diltiazem hydrochloride in capsules.

Keywords: antihypertensive; dissolution; high performance liquid chromatography; spectrophotometry; validation studies.

INTRODUCTION

In recent years, more emphasis has been placed on dissolution testing within the pharmaceutical industry and by regulatory authorities [1]. The quality assurance of pharmaceutical products is a wide-ranging concept covering all matters that individually or collectively influence the quality of a product. In this sense, the importance of *in vitro* dissolution tests for immediate release solid oral dosage forms, such as tablets and capsules must be highlighted, since they are essential to evaluate the lot-to-lot quality of a drug product, to guide development of new formulations and to ensure continuing product quality and performance after certain changes, such as changes in the formulation, the manufacturing process, the site of manufacture, and the scale-up of the manufacturing process [2].

Therefore, undoubtedly, there is a real need to develop dissolution tests for pharmaceutical products to assure the quality and to attend the regulatory demands.

Diltiazem hydrochloride (Fig.1), the 1,5-Benzothiazepin-4(5H)-one, 3-(acetyloxy)-5-[2-(dimethylamino)ethyl]-2,3-dihydro-2-(4-methoxyphenyl)-, monohydrochloride, (2S-cis) [3], is a benzothiazepine calcium channel antagonist, mainly used in the treatment of angina, hypertension and supraventricular arrhythmias and is commercially available in tablets, extended release tablets, immediate release capsules, extended release capsules or injectable dosage forms [4].

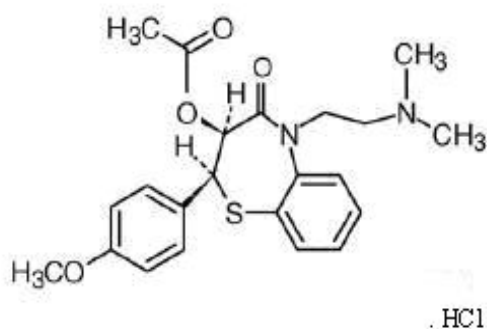


Fig. 1. Diltiazem hydrochloride chemical structure.

Diltiazem hydrochloride has a molecular weight of 451; is a white, odourless, crystalline powder; freely soluble in water, in dichloromethane, in methyl alcohol, in chloroform, and in formic acid; slightly soluble in dehydrated alcohol; sparingly soluble in dehydrated alcohol and insoluble in ether. The pH of a 1% solution in water is 4.3 to 5.3 [4-5].

Many high-performance liquid chromatography (HPLC) methods have been reported for the analysis of diltiazem hydrochloride and its metabolites in human plasma [6-24]. Besides, other methods have been reported; liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) [25] and capillary electrophoresis (CE) [26]. For applications in pharmaceutical products, there are methods that make use of spectrophotometry [27-28], gas chromatography (GC) [29], high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) [30-31], HPLC [32-34], micellar electrokinetic chromatography (MEKC) [35] and supercritical fluid chromatography (SFC) [36]. However, at the best of our knowledge, there is no dissolution tests described in literature for diltiazem hydrochloride in pharmaceutical immediate release capsules and not any pharmacopoeia described an official method for this pharmaceutical product.

This study aims to establish dissolution conditions for diltiazem hydrochloride assessment in pharmaceutical immediate release capsules, to validate the analytical methods used to quantify the drug, to evaluate three different commercial products and to compare HPLC and spectrophotometric methods.

EXPERIMENTAL

Chemical and reagents

All reagents were of analytical grade. Potassium dihydrogenphosphate (KH_2PO_4), phosphoric acid, sodium hydroxide, HPLC grade acetonitrile, triethylamine and 0.1 mol L^{-1} hydrochloride acid were purchased from Vetec[®] (Rio de Janeiro, Brazil). 99.10% purity diltiazem hydrochloride salt was supplied by Galena[®] (São Paulo, Brazil). 60 mg diltiazem

hydrochloride capsules were supplied by three drugstores from three different Brazilian manufactures, codified as A, B and C. The placebo mixtures used in accuracy and selectivity studies were obtained from the drugstores (A, B and C) and they were described as containing the following inactive excipients: magnesium stearate, aerosil[®], sodium lauryl sulfate, talc and starch (Product A); microcrystalline cellulose, starch and aerosil[®] (Products B and C).

Instrumentation

Dissolution tests were performed in an Electrolab[®] TDT-08 L multi bath (n=8) dissolution test system (Mumbai, India), in accordance with the United States Pharmacopoeia (USP) general method [3].

UV visible spectrophotometer used was a Shimadzu[®] model 1601 (Kyoto, Japan), connected to a computer loaded with Shimadzu UVPC version 3.9 software.

The HPLC equipment used was a Shimadzu[®] series LC-10 A (Kyoto, Japan), consisting of a LC AVP pump, a CLASS-VP 5.02 integration system, a DGU-14 A degasser, a 7725i manual injector with a 20 µL loop, (Rheodyne[®], California, United States), a SPD-10 AVP integrated UV detector, a FCV-10 ALVP valve, a CTO-10 AVP column oven and a SCL-10 AVP controller. A Hypersil BDS RP-18 analytical column, 3 µm particle size, 10.0 cm×4.0 mm i.d. was used in this study.

The following equipments were also used: digital pHmeter PA 200 (Marconi[®] S.A., Piracicaba, Brazil); ultrasonic Bath model USC 2800 A (Unique[®], São Paulo, Brazil); analytical balance model 410 (Kern[®], Kern, Germany); reverse osmosis water purifier OS 10 LTH (Gehaka[®], São Paulo, Brazil) and vacuum filtration system (Millipore[®], Bedford, United States).

Solutions

All dissolution media used in this study (water, 0.1 mol L⁻¹ hydrochloric acid and phosphate buffer, pH 6.8) were degassed at 41°C in ultrasonic bath for 30 min prior to use.

A buffer potassium phosphate at pH 6.8 was prepared by adding 13.609 g of potassium dihydrogenphosphate and 22.38 mL of 2 mol L⁻¹ sodium hydroxide in 2.0 L of water. The pH value was checked with the pHmeter.

A 0.1 mol L⁻¹ hydrochloric acid (HCl) was prepared by adding 8.5 mL of hydrochloric acid in 1.0 L of water.

The stock solutions of diltiazem hydrochloride were prepared in a 25 mL volumetric flask by dissolving an accurately weighed amount (16.7 mg) of diltiazem hydrochloride standard (99.10% purity) in potassium phosphate buffer, hydrochloric acid or purified water according to the dissolution medium used. These solutions were filtered in a quantitative VETEC[®] filter paper. Working standard solutions were prepared immediately before use, by appropriate dilutions of the corresponding stock solutions of diltiazem hydrochloride with potassium phosphate buffer, hydrochloric acid or purified water.

Placebo solutions were prepared by dissolving an amount accurately weighed of placebo mixture (containing the same amount of the products A, B and C) in potassium phosphate buffer.

Sample solutions were prepared by putting one capsule in each vessel containing the dissolution medium (900 mL) at the temperature of 37 ± 0.5°C. Samples were collected at the end of the specified time and filtered in a quantitative VETEC[®] filter paper. For the HPLC analysis, samples were directly injected into the HPLC system. In the spectrophotometric analysis, 2.5 mL of the samples were transferred into a 25 mL volumetric flask, later completed with dissolution medium.

To avoid interference from the capsule shell in the spectrophotometric quantitation, blank

solutions were prepared by dissolving capsule shells of each brand (A, B and C) into the same medium and performed the dissolution test in the same manner as the samples. Any absorbance obtained from the blank solutions was subtracted from the absorbance of the sample solutions.

Spectrophotometric measurements

Spectra of diltiazem hydrochloride standard were obtained in the range from 400 to 200 nm using 1 cm quartz cuvettes in the fast scan speed, 2.0 nm data interval and 2 nm bandwidth. The drug release percent (DR%) was assayed at the wavelength of 237 nm.

HPLC analytical procedure

The volume of injection was twenty microliters. All solutions were filtered through a 0.45 μm millex-LCR filter before the injection in the column. The flow rate was set at 1.0 mL min⁻¹ with a mobile phase of acetonitrile-potassium phosphate buffer pH = 6.2- triethylamine (45:55:0.2, v/v/v). The mobile phase was filtered under vacuum through 0.45 μm modified hydrophilic PTFE membrane and degassed ultrasonically for 30 min prior to use. The column temperature was maintained at 30°C. Peak areas were taken as analytical signal, with detection at 240 nm.

Sink conditions

In order to establish *sink* conditions, the solubility of the drug was tested using 6 mg of diltiazem hydrochloride in 30 mL of 0.1 mol L⁻¹ HCl, 0.01 mol L⁻¹ HCl, phosphate buffer at pH 6.8 and water.

Dissolution test optimization

The dissolution experimental conditions were established by submitting products A, B and C respectively, under the following conditions: water, 0.1 mol L⁻¹ HCl and potassium phosphate buffer, pH 6.8 as dissolution media, paddle and basket as apparatus and stirring speed of 50, 75 and 100 rpm. 900 mL volume was used in cubes and the temperature stabilization in test was 37.0 ± 0.5°C. 10 mL samples were withdraw from dissolution medium at 5, 10, 15, 30 and 60 minutes, followed by immediate replacement, analysed by both HPLC and UV methods and employed to dissolution profiles acquisition. Six samples were assayed for each product (A, B and C).

Method validation

After dissolution test optimization, the method was validated according to ICH guidelines [37]. In order to demonstrate whether the method was adequate for dissolution test purposes, it was validated through the analysis of stability, selectivity, linearity, precision, accuracy, detection limit and quantitation limit parameters.

Stability

The standard and each product (A, B and C) sample solutions in phosphate buffer, pH 6.8 at the concentrations of 66.8 and 6.68 mg L⁻¹ of diltiazem hydrochloride were prepared and kept at room temperature for 24 h and evaluated by HPLC and spectrophotometry, respectively.

In order to evaluate the diltiazem hydrochloride stability on dissolution test conditions, amount of standard and a sample of each product (A, B and C) containing 60 mg of diltiazem hydrochloride were transferred to separate vessels containing 900 mL of phosphate buffer, pH 6.8 at 37 ± 0.5°C and stirred for 2 h at 50rpm using paddle as apparatus. Aliquots

were collected and evaluated by HPLC and spectrophotometry.

Selectivity

For selectivity determination, the placebo samples and empty capsules of each product (A, B and C, respectively) were transferred to separate vessels (n=6) containing 900 mL of dissolution medium phosphate buffer pH, 6.8 at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and stirred for 60 min at 150 rpm using paddle as apparatus. Aliquots were collected and the interference of empty capsules and placebo mixture of each formulation was evaluated by HPLC and spectrophotometry [38].

Linearity

Linearity was evaluated by the analysis of standard solutions in the concentrations of 36.0, 48.0, 60.0, 72.0 and 84.0 mg L^{-1} of diltiazem hydrochloride in phosphate buffer at pH 6.8 using HPLC method. The calibration curve using spectrophotometry was obtained in the concentrations of 3.6, 4.8, 6.0, 7.2 and 8.4 mg L^{-1} of diltiazem hydrochloride in phosphate buffer at pH 6.8. The calculation of regression line was employed by the method of least squares.

Repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the analytical methods

Analytical methods repeatability was validated by analysis of six standard solutions of diltiazem hydrochloride dissolved in phosphate buffer at pH=6.8 at the concentrations of 66.8 and 6.68 mg L^{-1} using HPLC and spectrophotometry, respectively. The intermediate precisions of methods were determined similarly at different days by different analysts. The R.S.D. values for determinations were calculated [37].

Repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the dissolution procedure

Dissolution procedure repeatability was accomplished according to literature [39], by submitting six samples of each product (A, B and C) to the optimized dissolution test. Aliquots were collected and evaluated by HPLC and spectrophotometry at 237 nm. The intermediate precisions were determined similarly at different days by different analysts. The R.S.D. values for determinations were calculated.

Accuracy of the analytical methods

Accuracy of the analytical methods was carried out by the addition of diltiazem hydrochloride stock standard solution to placebo mixtures A, B and C in 25 ml volumetric flasks, to obtain three final concentration levels, corresponding to 80, 100 and 120% of target concentration of each quantitation method (HPLC and spectrophotometry). Each solution was prepared in triplicate. The percent recoveries were calculated [37].

Accuracy of the dissolution procedure

Accuracy of dissolution tests was determined according to literature [39], by the addition of 48, 60 and 72 mg of diltiazem hydrochloride (80, 100 and 120% of target concentration) to placebo mixtures A, B and C, respectively, in vessels containing 900 mL of dissolution medium (phosphate buffer, pH = 6.8). The samples were submitted to optimized dissolution test. Aliquots were collected and analyzed by HPLC and spectrophotometry at 237 nm. These studies were performed in triplicate. The percent recoveries were calculated.

Detection limit and quantitation limit

Detection limit (DL) and quantitation limit (QL) of the methods were obtained from the Eq. (1) and Eq. (2):

$$DL = 3(S.D/a) \quad (1)$$

$$QL = 10(S.D/a) \quad (2)$$

where S.D. is intersection standard deviation and a is slope of calibration curves obtained in the linearity study.

Assay of pharmaceutical products

After determination of the best dissolution conditions as well as analytical validation, three different commercial products (A, B and C) were evaluated. The dissolution experimental conditions were: potassium phosphate buffer, pH 6.8 as dissolution media, paddle as apparatus at stirring of 50 rpm. Ten milliliters of dissolution medium (controlled at $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$) were sampled after 5, 10, 15, 30 and 60 minutes, followed by immediate replacement and then analyzed by spectrophotometry and HPLC methods. Six samples were assayed for each product. Additionally, a comparison between the dissolution profiles of the commercial products (A x B, A x C and B x C) using HPLC method was carried out. The similarity of the dissolution profiles was determined by difference factor (f_1) and similarity factor (f_2), calculated from the Eq. (3) and Eq. (4) as follow:

$$F1 = \left\{ \left[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] \right\} / \left\{ \left[\sum_{t=1}^n R_t \right] \right\} \times 100 \quad (3)$$

$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left[(1 + 1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (4)$$

Comparison between HPLC and UV methods

In order to compare the analytical methods (UV spectrophotometry x HPLC), a statistical method based on the analysis of variance (ANOVA) at 0.05 significance level was applied. The drug release percent (DR%) of products A, B and C at each collect time was used considering the analytical methods as treatments and the products as blocks.

RESULTS AND DISCUSSION

Spectrophotometric conditions

The ultraviolet spectrum for diltiazem hydrochloride, in water, hydrochloric acid and potassium phosphate buffer showed maximum drug absorption wavelength at 237 nm (results not showed). Therefore, this wavelength was used for the diltiazem hydrochloride spectrophotometric quantitation throughout the study.

Optimization of HPLC conditions

The chromatographic conditions were optimized to yield an adequate analytical performance in a low run time. After several preliminary experiments, the following parameters were considered adequate for our purpose: acetonitrile-potassium phosphate buffer pH = 6.2- triethylamine (45:55:0.2, v/v/v) as mobile phase, flow rate at 1.0 mL min⁻¹ with column temperature of 30°C, Hypersil BDS RP-18 analytical column, 3 µm particle size, 10.0 cm×4.0 mm i.d., UV detection wavelength at 240 nm and 20 µL of injection volume.

In order to confirm if the chromatographic parameters are in accordance with literature, a system suitability test was carried out by injecting six replicates of a work standard solution of diltiazem hydrochloride containing 66.8 mg L⁻¹. The retention time was 3.89 min; theoretical plates higher than 6000; capacity factor of 2.57 and asymmetry of 1.39. The

relative standard deviation of peak area was 1.28%. Thus, all parameters are in agreement to the United States Pharmacopeia recommendations [3].

Dissolution test optimization

The dissolution test was optimized in terms of dissolution medium, paddle (type II)/basket (type I) apparatus and rotation speed. Regarding dissolution medium, pure water was not considered as an “ideal” dissolution medium because it was experimentally observed that diltiazem capsules showed a low and constant dissolution without reaching a maximum up to 60 min. Besides, the use of water as a dissolution medium is discouraged because test conditions such as pH and surface tension can vary depending on the water source and may change during the dissolution test itself. Additionally, water is not considered a physiologically relevant medium as it is not representative of the gastrointestinal environment.

Two alternative media were employed in our studies: 0.1 mol L⁻¹ HCl, to simulate gastric fluid conditions and phosphate buffer at pH 6.8 to simulate intestinal conditions in terms of pH. When HCl was used as dissolution medium, diltiazem hydrochloride capsules showed a fast dissolution rate, which is not desired because this condition can not reflect in vivo performance and a discriminatory power between sample dissolution profiles can not be observed. The dissolution profiles obtained in phosphate buffer (pH 6.8) were slower and a better discriminatory power should be obtained. Therefore, the phosphate buffer, pH 6.8 was chosen as optimal dissolution medium.

Using phosphate buffer as the dissolution medium, experiments were carried out to compare the performance of basket versus paddle agitation. The experimental results showed that the dissolution rate was too slow when basket (type I) was used. Therefore, paddle (type II) apparatus was selected for further studies.

The effect of the rotation speed of the paddles on the dissolution profile of diltiazem hydrochloride immediate release capsules was examined at 50, 75 and 100 rpm and the experimental results showed a fast dissolution rate at 75 and 100 rpm. Therefore, the rotation speed of 50 rpm was selected for further experiments in order to produce a maximum discriminatory power among products A, B and C.

Thus, the established dissolution conditions for diltiazem hydrochloride immediate release capsules assessment were: 900 mL of phosphate buffer, pH 6.8 at 37°C as dissolution medium and paddle as apparatus at the stirring speed of 50 rpm.

Method validation

Stability

The standard and sample solutions remained stable at room temperature for 24 h and after dissolution test for 2h.

Selectivity

Placebo formulations for products A, B and C did not present absorbance at 237 nm. However, A, B and C capsule shells show UV absorbance at this wavelength (Fig. 2). For this reason, one capsule shell of each product was analyzed in a separate vessel under the same optimized conditions and the absorbance value was subtracted from the sample solution absorbance to eliminate this interference in the spectrophotometric method.

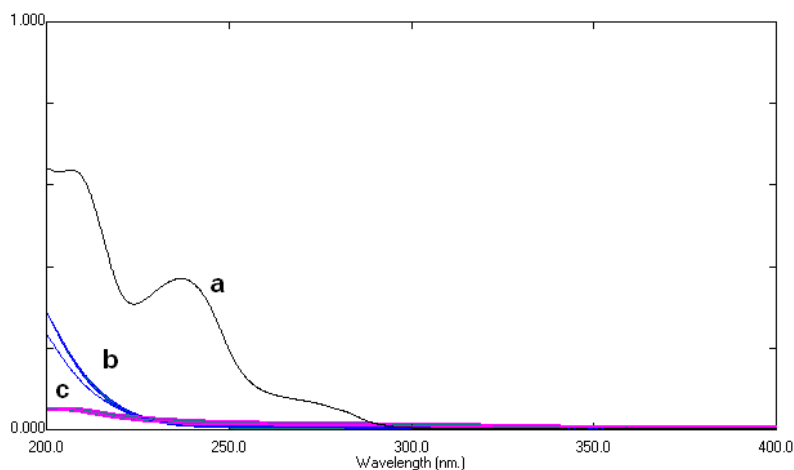


Fig. 2. UV spectrum of diltiazem hydrochloride (a), empty capsules A, B and C (b) and placebo samples A, B and C (c), after dissolution test using paddle at 150 rpm for 60 minutes. The aliquots were diluted 10-fold.

In the HPLC method no additional chromatographic peaks from the placebo formulations and empty capsules were observed with the same retention time for diltiazem hydrochloride, which demonstrates the selectivity of this method (Fig. 3).

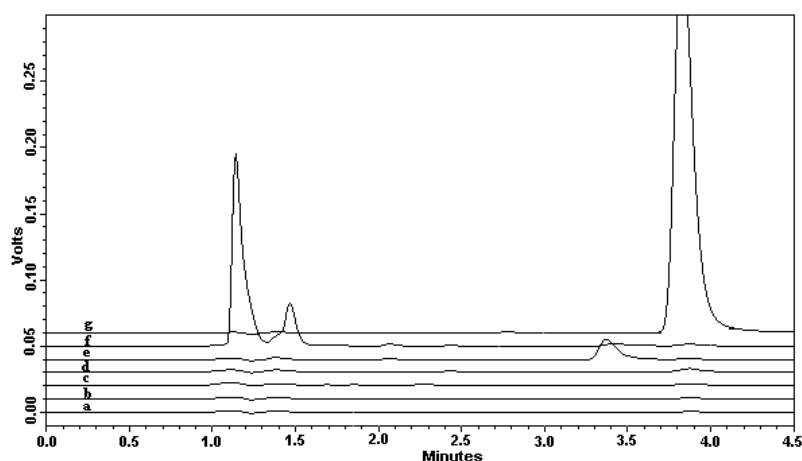


Fig. 3. Chromatogram of placebo sample of product A (a), placebo sample of product C (b), placebo sample of product B (c), empty capsule A (d), empty capsule C (e), empty capsule B (f) and a work standard solution of diltiazem hydrochloride 66.8 mg L⁻¹ in phosphate buffer pH 6.8 (g).

Linearity

The calibration equations obtained from HPLC and spectrophotometry were: peak area = 33569 [diltiazem hydrochloride (mg L^{-1})] + 99340 and $\text{abs} = 0.0533$ [diltiazem hydrochloride (mg L^{-1})] - 0.002, respectively. The least square regression showed excellent correlation coefficients: $r=0.9999$ and 1.0000 for HPLC and spectrophotometric methods, respectively. The relative standard deviation of each point ($n=5$) was smaller than 2%. The results meeting the acceptance criteria [37].

Repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the analytical methods

The results of the repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the methods are shown in Table 1. The relative standard deviations did not exceed 2.0% for both methods, demonstrating suitable precision [40].

Table 1. Precision of the HPLC and spectrophotometric methods for analysis of diltiazem hydrochloride in capsules.

Method	Level	Concentration (mg L^{-1})	R.S.D. (%)
HPLC	Repeatability	66.8	0.80 (n= 6)
	Intermediate precision	66.8	0.90 (n=12)
Spectrophotometry	Repeatability	6.68	0.25 (n=6)
	Intermediate precision	6.68	0.50 (n=12)

Repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the dissolution procedure

The results of the repeatability (intra-assay) and intermediate precision (inter-assay) of the dissolution procedure using HPLC and spectrophotometry are shown in Table 2. The relative

standard deviations did not exceed 5.0%, demonstrating suitable precision for the dissolution test [40].

Table 2. Precision of the dissolution procedure using HPLC and spectrophotometry for diltiazem hydrochloride in capsules.

Method	Level	Product	Concentration (mg L ⁻¹)	R.S.D. (%)
HPLC	Repeatability	A	66.8	3.17 (n= 6)
		B	66.8	3.45 (n= 6)
		C	66.8	1.39 (n= 6)
	Intermediate precision	A	66.8	3.71 (n=12)
		B	66.8	2.64 (n=12)
		C	66.8	2.68 (n=12)
Spectrophotometry	Repeatability	A	6.68	3.65 (n= 6)
		B	6.68	3.76 (n= 6)
		C	6.68	1.45 (n= 6)
	Intermediate precision	A	6.68	3.61 (n=12)
		B	6.68	2.70 (n=12)
		C	6.68	2.34 (n=12)

Accuracy of the analytical methods

The values of analytical methods accuracy for diltiazem hydrochloride in all drug products are summarized in Table 3. The average values are between 98.0-102.0% for both methods, showing good recovery [40].

Accuracy of the dissolution procedure

The values of dissolution procedure accuracy for diltiazem hydrochloride in all drug products shown in Table 4 are between 95.0-105.0%, showing good recovery according to literature [40].

Table 3. Accuracy of the HPLC and spectrophotometric methods for analysis of diltiazem hydrochloride in capsules.

	Product	Concentration (mg L ⁻¹)		R.S.D. (%) n=3	Mean recovery (%)
		Added	Found		
HPLC	A	53.44	53.02	0.21	
	A	66.80	65.20	1.01	101.19
	A	80.16	78.71	0.77	
	B	53.44	50.87	0.99	
	B	66.80	66.11	0.96	100.77
	B	80.16	79.82	0.83	
	C	53.44	51.81	1.27	
	C	66.80	65.38	0.04	101.11
	C	80.16	78.46	0.44	
Spectrophotometry	A	5.34	5.50	0.34	
	A	6.68	6.83	0.27	101.52
	A	8.02	8.17	0.23	
	B	5.34	5.19	0.36	
	B	6.68	6.46	0.29	100.13
	B	8.02	7.75	0.14	
	C	5.34	5.27	0.35	
	C	6.68	6.49	0.17	101.75
	C	8.02	7.89	0.24	

Table 4. Accuracy of the dissolution procedure using HPLC and spectrophotometry for analysis of diltiazem hydrochloride in capsules.

	Product	Concentration (mg L ⁻¹)		R.S.D. (%) n=3	Mean recovery (%)
		Added	Found		
HPLC	A	53.33	50.70	0.89	96.76
	A	66.67	64.04	0.49	
	A	80.00	79.33	0.45	
	B	53.33	52.48	0.71	97.08
	B	66.67	63.26	0.67	
	B	80.00	78.34	0.44	
	C	53.33	51.85	0.36	99.13
	C	66.67	66.09	0.59	
	C	80.00	80.82	0.79	
Spectrophotometry	A	5.33	5.08	0.20	97.21
	A	6.67	6.55	0.27	
	A	8.00	7.85	0.23	
	B	5.33	5.30	0.39	97.98
	B	6.67	6.52	0.69	
	B	8.00	7.74	0.35	
	C	5.33	5.17	0.53	98.66
	C	6.67	6.61	0.16	
	C	8.00	7.99	0.47	

Detection limit and quantitation limit

The detection limits of the HPLC and spectrophotometric methods were found to be 2.28 and 0.15 mg L⁻¹, respectively. The quantitation limits of the HPLC and spectrophotometry were found to be 7.62 mg L⁻¹ and 0.49 mg L⁻¹, respectively. These results demonstrated that the analyses were being performed in a region above the quantitation limit value.

Assay of pharmaceutical products

The validated methods were used in the analysis of diltiazem hydrochloride capsules supplied from three different manufacturers (products A, B and C). Dissolution profiles of each product using HPLC and spectrophotometric detection are presented in Fig. 4 and Fig. 5, respectively. The results are expressed as drug release percentage versus time (minutes). All three products tested showed >85% dissolution in 30 min using HPLC method. These results are in accordance to FDA [2], which recommended that for highly soluble and rapidly dissolving drug products (BCS classes 1 and 3), a single-point dissolution test specification of 85% in 60 minutes or less is sufficient as a routine quality control test for batch-to-batch uniformity. Therefore, 30 minutes can be considered satisfactory as a routine quality control test for diltiazem hydrochloride in capsules. So, the acceptance criterion of 85% in 30 minutes was established. Moreover, a comparison of three commercial products (A x B, A x C and B x C) using difference factor (f_1) and similarity factor (f_2) are showed in Table 5. A difference factor between 0 and 15 and a similarity factor between 50 and 100 suggests that the two dissolution profiles are similar [41]. As observed in Table 5, only products B and C showed similar profiles. This effect was attributed to same composition of the product B excipients as that of the product C excipients. A comparison between products A and B and between products A and C did not reflect the similarity of these products, which was observed probability due to the difference in the composition of these products excipients. Therefore,

these results showed the discriminatory power of the method.

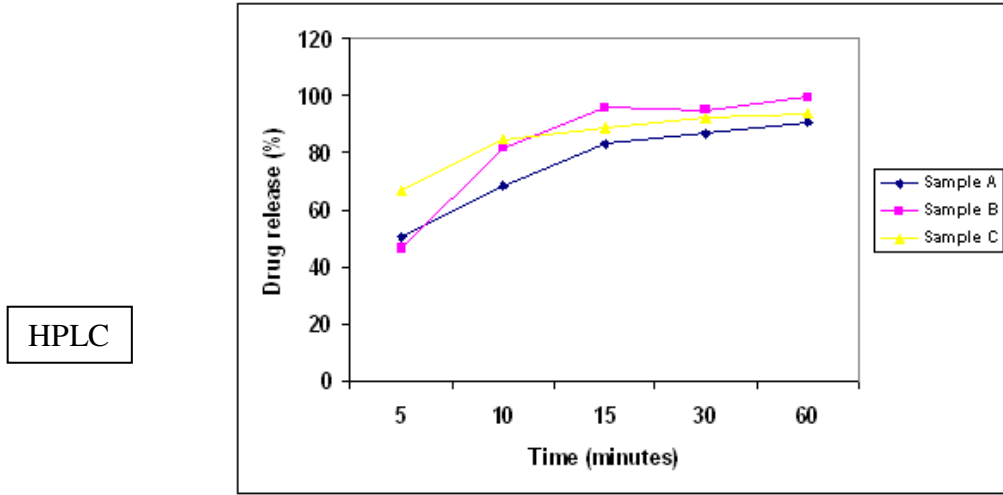


Fig. 4. Dissolution profile of 60 mg capsules diltiazem hydrochloride products codified as A, B and C under optimal dissolution conditions using HPLC method.

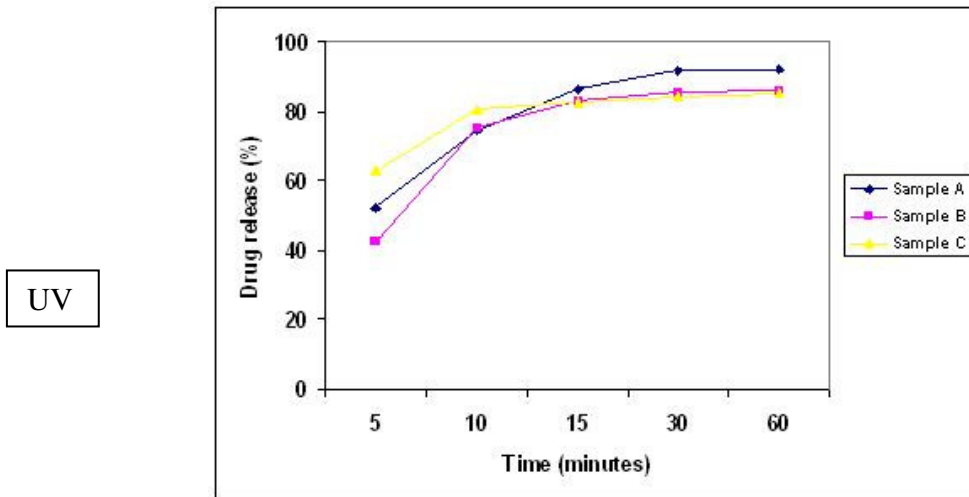


Fig. 5. Dissolution profile of 60 mg capsules diltiazem hydrochloride products codified as A, B and C under optimal dissolution conditions using spectrophotometric method.

Table 5. The difference factor and similarity factors between products A, B and C.

Products	Difference factor (f_1)	Similarity factor (f_2)
A x B	10.18	38.09
A x C	12.52	33.61
B x C*	2.13	69.36

* Two dissolution profiles are declared similar

Comparison between HPLC and UV methods

The ANOVA revealed that there were significant differences between HPLC and spectrophotometric analytical methods at 5% significance level. The calculated F values were found to be greater than the critical F values at 10; 15; 30 and 60 collection times and the mean drug release percent (DR%) of products A, B and C were found to be lower when spectrophotometry was used. These results suggest that the spectrophotometric method may underestimate the drug release percent. Considering that HPLC method is more precise and is subject to less interference than spectrophotometry, HPLC method was considered to be more reliable to evaluate the release-time of diltiazem hydrochloride from capsules.

Conclusion

In this work, a dissolution test for diltiazem hydrochloride in capsules was developed. The established dissolution conditions were: 900 mL of phosphate buffer, pH 6.8 at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ as dissolution medium and paddle as apparatus at the stirring speed of 50 rpm. The validation results demonstrated that all the data meeting acceptance criteria when both HPLC and spectrophotometry are used as analytical methods. An assessment of commercial pharmaceutical products show that 30 minutes can be considered satisfactory as a routine

quality control test for diltiazem hydrochloride in capsules. Moreover, a comparison of the three commercial products suggested the discriminatory power of the method. A statistical analysis revealed that there were significant differences between HPLC and spectrophotometry and the HPLC method was considered to be more reliable to evaluate the release-time of diltiazem hydrochloride from capsules. This study illustrates the importance of an official method for dissolution test, since there is no official monograph for diltiazem hydrochloride in capsules.

Acknowledgements

The authors are grateful to Center of Pharmaceutical Equivalence - Nucleus Quality Control and CAPES by the financial support.

References

1. T. O'Hara, A. Dunne, J. Butler, J. Devane, *Pharm. Sci. Technol. Today* 5 (1998) 214-223.
2. United States Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); *Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Guidance for Industry*, Rockville, 1997.
3. *The United States Pharmacopeia*, 31st ed., United States Pharmacopoeial Convention: Rockville, 2008.
4. W. Martindale, *The Extra Pharmacopoeia*, 34th ed., The Pharmaceutical Press, London, 2005, p. 900-902.
5. *The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, 2001.
6. C. Verghese, M.S. Smith, L. Aanonsen, E.L. Pritchett and D.G. Shand, *J. Chromatogr.* 272 (1983), pp. 149–155.
7. D.R. Abernethy, J.B. Schwartz and E.L. Todd, *J. Chromatogr.* 342 (1985), pp. 216–220.
8. K.J. Goebel and E.U. Kolle, *J. Chromatogr.* 345 (1985), pp. 355–363.

9. P. Hoglund and L.G. Nilsson, *J. Chromatogr.* 414 (1987), pp. 109–120.
10. Dube LM, Mousseau N, McGilveray IJ (1988), *J Chromatogr* 430:103–111.
11. V. Ascalone and L. Flaminio, *J. Chromatogr.* 495 (1989), pp. 358–360.
12. H. Zhao and M.S. Chow, *Pharm. Res.* 6 (1989), pp. 428–430.
13. P.K. Yeung, T.J. Montague, B. Tsui and C. McGregor, *J. Pharm. Sci.* 78 (1989), pp. 592–597.
14. Rustum AM (1989), *J Chromatogr* 490:365–375.
15. R. Boulieu, J.L. Bonnefous and S. Ferry, *J. Chromatogr.* 528 (1990), pp. 542–546.
16. F.F. Ververs, H.G. Schaefer, J.F. Lefevre, L.M. Lopez and H. Derendorf, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 8 (1990), pp. 535–539.
17. M. Parissi-Poulou, G. Ismailos and P. Macheras, *International Journal of Pharmaceutics.* Volume 62, Issues 2-3, 31 July 1990, Pages R13-R16.
18. D.R. Rutledge, A.H. Abadi, L.M. Lopez and C.A. Beaudreau, *J. Chromatogr.* 615 (1993), pp. 111–116.
19. V. Ascalone, M. Locatelli and B. Malavasi, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.* 657 (1994), pp. 133–140.
20. Carignan G, Carrier K, Laganiere S, Lessard M (1995), *J Chromatogr B* 672:261–269.
21. P. K. Kunicki and D. Sitkiewicz, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, Volume 19, Issue 7 April 1996 , pages 1169 – 1181.
22. R. G. Morris; N. C. Saccoia; T. E. Jones, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, Volume 19, Issue 15 September 1996 , pages 2385 – 2394.
23. H. Christensen, E. Carlson, A. Asberg, L. Schram and K.J. Berg, *Clin. Chim. Acta* 283 (1999), pp. 63–75.
24. D. Zendelovska, Trajče Stafilov, Marina Stefova, *Anal Bioanal Chem* (2003) 376 : 848–853.
25. E. Molden, G.H. Boe, H. Christensen, L. Reubsæet, High-performance liquid chromatography–mass spectrometry analysis of diltiazem and 11 of its phase I metabolites in human plasma, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 33 (2003) 275-285.
26. C. Coors, H.G. Schultz, F. Stache, *J. Chromatogr. A* 717 (1995) 235-243.
27. Kamath BV and Shivram K (1991). Indirect spectrophotometric determination of diltiazem hydrochloride in pure form and pharmaceutical formulations. *Indian Drugs* 29: 50-52. C.S.P. Sastri, K. Sreedhar, M.N. Reddy, D.G. Sankar, *Ind. J. Pharm. Sci.* 57 (1995) 170-179. (spectrophotometry).

28. Rahman N and Hejaz-Azmi SN (2000). Extractive spectrophotometric method for the determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulation using bromothymol blue, bromocresol green, *J. Pharma. Sci and Biomedical Analysis*, 24: 33-41.
29. R.T. Sanc, S.M. Purandare, V.G. Nayak, M.D. Yoshy, R. Nerunkar, *Ind. Drugs* 26 (1988) 623-630. (Gaschromatography).
30. Agbaba D, Solomun LJ and Zivanov-Stakic D (1997). Simultaneous HPTLC determination of diltiazem and its impurity desacetyldiltiazem in raw material and in dosage forms, *J. Planar Chromatogra--Mod. TLC.*, 10(4): 303-304.
31. P.V. Devarajan, V.V. Dhavse, High-performance thin-layer chromatographic determination of diltiazem hydrochloride as bulk drug and in pharmaceutical preparations, *J. Chromatogr. B* 706 (1998) 362-366.
32. Lacroix PM, Beaulieu N, Cyr TD and Lovering EG (1989). High performance liquid chromatography methods for assay of diltiazem hydrochloride and its compounds in bulk drug and finish tablet, *J. Pharm. Sci.*, 78: 243-246.
33. M.G. Quaglia, E. Donati, S. Fanali, E. Bossù, A. Montinaro and F. Buiarelli, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 37, Issue 4, 1 April 2005, Pages 695-701.
34. Najma Sultana, M. Saeed Arayne, Nighat Shafi, A validated method for the analysis of diltiazem in raw materials and pharmaceutical formulations by RP-HPLC. *Pak, J. Pharm. Sci.*, 2007, Vol.20(4), 279-284.
35. H. Nishi, T. Fukuyama, M. Matsuo, S. Terabe, Separation and determination of lipophilic corticosteroids and benzothiazepin analogues by micellar electrokinetic chromatography using bile salts, *J. Chromatogr.* 513 (1990) 279-295.
36. K.K. Yaku, K. Aoe, N. Nishimura, Chiral resolution of four optical isomers of diltiazem hydrochloride on Chiralcel columns by packed-column supercritical fluid chromatography, *J. Chromatogr. A* 785 (1997) 185-193.
37. International Conference on Harmonisation (ICH); Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B, Consensus Guideline, 6 November 1996.
38. Breier, A. R.; Paim, C. S.; Steppe, M.; Schapoval, E. E. S. J., *Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2005, 8, 289.
39. Azevedo, R. C. P.; Ribeiro, G. P.; Araújo, M. B., *Braz. J. Pharm. Sci.* 2008, 44, 261.
40. Marques, M.R.C.; Brown, W., *Rev. Anal.* 2002, 1, 48.
41. *Multisource (generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2005.

4 CONCLUSÕES

No desenvolvimento do teste de dissolução para quantificação de cloridrato de diltiazem em cápsulas de liberação imediata de 60 mg, das farmácias A, B e C, respectivamente, foram testadas diversas condições.

O uso de tampão fosfato pH 6,8 (900 mL, a $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$), como meio de dissolução, pá como aparato a uma velocidade de agitação de 50 rpm e tempo de coleta de 30 minutos, forneceu resultados satisfatórios, demonstrando melhor capacidade de liberação do fármaco.

A metodologia analítica foi validada por espectrofotometria por UV e cromatografia líquida de alta eficiência.

Os parâmetros de validação analítica demonstraram estabilidade, seletividade, precisão, exatidão e linearidade nas faixas de trabalho consideradas ($3,6 - 8,4 \text{ mg L}^{-1}$ para a dissolução com detecção espectrofotométrica e $36 - 84 \text{ mg L}^{-1}$ para a dissolução com detecção utilizando a CLAE).

O método da CLAE foi considerado ser mais confiável para avaliação da liberação do cloridrato de diltiazem em cápsulas de liberação imediata, em relação à espectrofotometria, sendo revelado pela análise estatística.

Este estudo demonstrou a importância de um método oficial para o teste de dissolução, sendo que não há nenhum método descrito em nenhuma farmacopeia para a quantificação de cloridrato de diltiazem em cápsulas de liberação imediata, constituindo subsídio para elaboração de monografia farmacopeica, para o controle de qualidade do fármaco em cápsulas manipuladas em farmácias magistrais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H. M. **Dissolução, bioavaliabilidade e bioequivalência**. Easton: Mack Printing, 1989. p. 554.

ABUZARUR-ALOUL, R. et al. Critical dissolution of oral systems based on statistically designed experiments. I. Screening of critical fluids and *in vitro/in vivo* modeling of extended release coated spheres. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 23, n. 8, p. 749-760, 1997.

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharm. Res.**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ARAÚJO, G. B. S.; GARCIA, T. R. Adesão ao tratamento anti-hipertensivo: uma análise conceitual. **Rev. Eletr. Enf.**, v. 8, n. 2, p. 259-272, 2006.

BALIMANE, P.V.; CHONG, S.; MORRISON, R.A. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. **J. Pharmacol. Toxicol. Methods**, v. 44, p. 301-312, 2000.

BANAKAR, U. V. **Pharmaceutical dissolution testing**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 473.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Diário Oficial da União, Brasília, 02 de jun. 2003a.

BRASIL. **Resolução RE nº 901, de 29 de maio de 2003**. Determina a publicação do "Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI)". Diário Oficial da União, Brasília, de 02 de jun. de 2003b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Lista de medicamentos de referência**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/lista.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Bulário eletrônico da anvisa**. Disponível em: <http://bulario.bvs.br>. Acesso em: 28 jan. 2010b.

BUDAVANI, S. et al. **The Merck index. an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals**. 11. ed. Merck e Co., Whitehouse Station, NJ, 1989. p. 3192.

CAETANO, N. **BPR- Guia de Remédios**. 8. ed. São Paulo: Escala, 2007. p. 221, 222.

ÇELIK, M. The past, present, and future of tableting technology. **Drug Develop. Ind. Pharm.**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 1996.

CHAVES, E. S. et al. Eficácia de programas de educação para adultos portadores de hipertensão arterial. **Rev. Bras. Enfem.**, v. 59, n. 4, p. 543-547, 2006.

COX, D. C. et al. Guidelines for dissolution testing. **Pharm. Technol.**, New York, v. 2, p. 41-53, 1978.

DRESSMAN, J. B. et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharm. Res.**, New York, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.

DRESSMAN, J. B., FLEISHER, D. Mixing tank model for predicting dissolution rate control of oral absorption. **J. Pharm. Sci.**, New York, v. 75, n. 2, p. 109-116, 1986.

FARMACOPÉIA Portuguesa VII. Lisboa: Infarmed, 2002. v. 1, p. 1158.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. 2.ed. Juiz de Fora: [s.n.], 2002. p. 2, 17, 444.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for drug evaluation and research – CDER. Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder>>. Acesso em: 27 jan. 2010.

GALIA, E. et al. Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. **Pharm. Res.**, New York, v.15, n. 5, p. 698-705, 1998.

GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 406 p.

GINSKI, J. M.; POLLI, J. E. Prediction of dissolution-absorption relationships from a dissolution/ Caco-2 system. **Int. J. Pharm.**, v. 177, p. 117-125, 1999.

GRAHAME-SMITH, D. G.; ARONSON, J. K. **Tratado de farmacologia clínica e farmacoterapia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 210, 469.

HE, X. et al. Na in vitro system for prediction of oral absorption of relatively water-soluble drugs and ester prodrugs. **Int. J. Pharm.**, v. 263, p. 35-44, 2003.

HOFFMAN, B. B. et al. **Farmacologia integrada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2004, p. 396-399.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica & clínica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 135, 148, 151, 153, 161, 162, 163.

KAUS, L. C. et al. The effect of in vivo dissolution, gastric emptying rate, and intestinal transit time on the peak concentration and area-under-the curves of drugs with different gastrointestinal permeabilities. **Pharm. Res.**, New York, v. 16, n. 2, p. 272-280, 1999.

KHAN, K. A.; RHODES, C. T. Effect of compaction pressure on the dissolution efficiency of some direct compression systems. **Pharm. Acta Helv.**, Zurich, v. 47, p. 594-607, 1972.

KHAN, M. Z. I. Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with *in vivo* data: challenges and opportunities. **Int. J. Pharm.**, v. 140, p. 131-143, 1996.

KOBAYASHI, M. et al. Development of a new system for prediction of drug absorption that takes into account drug dissolution and pH change in the gastro-intestinal tract. **Int. J. Pharm.**, v. 221, p. 87-94, 2001.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2007. p. 8.20, 8.30.

LEVY, G. Effect of particle size on dissolution and gastrointestinal absorption rates of pharmaceuticals. **Am. J. Pharm.**, Philadelphia, v. 135, n. 3, p. 78-92, 1963.

LYRA JÚNIOR, D. P. L. et al. A farmacoterapia no idoso: revisão sobre a abordagem multiprofissional no controle da hipertensão arterial sistêmica. **Rev. Latino-am. Enfermagem**, v. 14, n. 3, p. 435-441, 2006.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Rev. Bras. Cien. Farm.**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 375-400, 2002.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 2003. 107 p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

MARQUES, M. R. C. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Rev. Analytica**, n. 1, p. 48-51, 2002.

MURTHY, K. S.; GHEBRE-SELLASSIE, I. Current perspectives on the dissolution stability of solid oral dosage forms. **J. Pharm. Sci.**, Washington, v. 82, n. 2, p.113-126, 1993.

MYCEK, M. J.; HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. p. 177, 179, 187, 188.

PEZOA, R.; CONCHA, A. M.; GAETE, G. Disolución de formas farmacéuticas sólidas. **Rev. Col. Quím. Farmac.**, v. 46, n. 2, p. 43-51, 1990.

PILLAI, O.; DHANIKULA, A. B.; PANCHAGNULA, R. Drug delivery: an odyssey of 100 years. **Cur. Opin. Chem. Biol.**, Punjab, v. 5, p. 439-446, 2001.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos correlatos e cosméticos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p.3, 30.

QURESHI, S. A.; MCGILVERAY, I. J. A critical assessment of the USP dissolution apparatus suitability test criteria. **Drug. Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 21, n. 8, p. 905-924, 1995.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 18, p. 321, 323, 342.

RIBANI, M. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RODRIGUES, D. **Estudo comparativo de cápsulas de omeprazol do mercado nacional: avaliação biofarmacotécnica**. 1999. 144p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1999.

SATHE, P. M.; TSONG, Y.; SHAH, V. P. *In-vitro* dissolution profile comparison: Statistic and analysis, model dependent approach. **Pharm. Res.**, v. 13, p. 1799-1803, 1996.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 68, p. 701, 708.

SKOUG, J. W. et al. Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de dissolução em formas farmacêuticas sólidas para uso oral. **Pharm. Technol.**, New York, v. 1, p. 34-43, 1997.

SMITH, H. L.; BAKER, C. A.; WOOD, J. H. Interpretation of dissolution rate máxima: dependence upon tablet compression force. **J. Pharm. Pharmacol.**, London, v. 23, p. 536-38, 1971.

SOLTERO, R. A. et al. Effects of sinker shapes on dissolution profiles. **J. Pharm. Sci.**, Washington, v. 78, n. 1, p. 35-39, 1989.

SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 43, n. 4, p. 515-527, 2007.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica**: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: [s.n.], 1999. 78 p.

SWEETMAN, S. C. (Ed.). **Martindale**: the complete drug reference. 34. ed. London: Pharmaceutical Press, 2005. p. 900.

TAKEUCHI, H.; HANDA, T.; KAWASHIMA, Y. Enhancement of the dissolution rate of a poorly water-soluble drug (tolbutamide) by a spray-drying solvent deposition method and disintegrants. **J. Pharm. Pharmacol.**, London, v. 39, p. 769-73, 1987.

VANKEL TECHNOLOGY GROUP. Advanced dissolution, [s.l.:s.n.], 1999.

WOOD, J. H. *In vitro* evaluation of physiological availability of compressed tablets. **Pharm. Acta Helv.**, Zurich, v. 42, n. 3, p. 120-51, 1966.

YATES, T. Consideraciones generales sobre solubilidad y disolución de medicamentos. In: ARANCIBIA, A.; PEZOA, R. (Ed.). Biodisponibilidad de Medicamentos: In: SIMPÓSIO

INTERNACIONAL 1., 1992, Santiago. **Anais...**Santiago: Editorial Universitária, 1992. p. 165-170.

APÊNDICE A – Proposta de monografia

CÁPSULAS DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM

Contém, no mínimo, 98,5 % e, no máximo, 101,0 % da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *espectrofotometria de absorção no ultravioleta* (V.2.14.-3), utilizando como solvente tampão fosfato pH 6,8 ou HCl 0,1 M.

Solução (1): Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de diltiazem e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 10 µg/mL.

Solução (2): Pesar 10 mg de cloridrato de diltiazem padrão e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 10 µg/mL.

A. Efetuar a varredura espectral na faixa de 200 a 400 nm. O espectro de absorção obtido com a *solução (1)* deve ser semelhante ao obtido com a *solução (2)*, apresentando máximo de absorvância em 237 nm.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (V.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (V.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (V.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (V.1.5)

Meio de dissolução: tampão fosfato pH= 6,8 (900 mL)

Aparelhagem: pá

Velocidade de agitação: 50 rpm

Tempo: 30 minutos

Imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando tampão fosfato pH=6,8 como solvente. Proceder conforme os seguintes métodos.

A. *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando tampão fosfato pH=6,8 como solvente. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm, coluna de 10,0 cm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (C18) com partículas de 3 µm, mantida à temperatura de 30 graus e com vazão de fase móvel de 1 mL/min.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato pH=6,2, acetonitrila e trietilamina (55:45:0,2, v/v/v).

Injetar, separadamente, 20 µL das soluções padrão e amostra. Registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

B. *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* (V.2.14.-3). Imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando tampão fosfato pH=6,8 como solvente e filtrar. Diluir dez vezes amostras e padrão.

Efetuar a leitura das absorvâncias das soluções padrão e amostra a 237 nm. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

Tolerância: não menos que 80% (Q=80%) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no doseamento. Injetar, 20µL da *solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular a quantidade de cada impureza a partir da fórmula:

$$100 X (A_i/A_s)$$

em que: A_i é a área de cada impureza e A_s é a soma das áreas de todos os picos. O limite é de 0,2% para cada impureza e de 0,5% para o total de impurezas.

DOSEAMENTO

A. *Por cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm, coluna de 10,0 cm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro

interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (C18) com partículas de 3 µm, mantida à temperatura de 30 graus e com vazão de fase móvel de 1 mL/min.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato pH=6,2, acetonitrila e trietilamina (55:45:0,2, v/v/v).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas. Remover o conteúdo e pesá-las novamente. Transferir quantidade de pó equivalente a 16,7 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com tampão fosfato pH 6,8, homogeneizar e filtrar. Diluir para concentração final de 66,8 µg/mL.

Solução padrão: Transferir 16,7 mg de cloridrato de diltiazem padrão para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com tampão fosfato pH 6,8, homogeneizar e filtrar. Diluir para concentração final de 66,8 µg/mL.

Procedimento: Injetar, separadamente, 20 µL das soluções padrão e amostra. Registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ à partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

B. *Por espectrofotometria de absorção no ultravioleta (V.2.14.-3)*, utilizando como solvente tampão fosfato pH 6,8 ou HCl 0,1 M.

Solução (1): Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 10 mg de cloridrato de diltiazem e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 10 µg/mL.

Solução (2): Pesar 10 mg de cloridrato de diltiazem padrão e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 10 minutos.

Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 10 µg/mL.

Procedimento: Efetuar a leitura das absorvâncias das soluções padrão e amostra a 237 nm. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ à partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.