

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Elen Francis Queiroz da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE SUPOSITÓRIO DE  
MISOPROSTOL E DE METODOLOGIAS DE DISSOLUÇÃO E DOSEAMENTO**

Rio de Janeiro

2022

Elen Francis Queiroz da Silva

DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE SUPOSITÓRIO DE  
MISOPROSTOL E DE METODOLOGIAS DE DISSOLUÇÃO E DOSEAMENTO

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadores: Dra. Bernardete Ferraz Spisso  
Dra. Laís Bastos da Fonseca

Rio de Janeiro

2022

Catálogo na Fonte  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Silva, Elen Francis Queiroz da

Desenvolvimento de uma formulação de supositório de misoprostol e de metodologias de dissolução e doseamento . / Elen Francis Queiroz da Silva. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2022.  
176 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2022.

Orientadora: Bernardete Ferraz Spisso.  
Co-orientadora: Laís Bastos da Fonseca.

1. Misoprostol. 2. Supositório. 3. Hemorragia pós-parto. 4. Dissolução. 5. Doseamento. I. Título.

Development of a misoprostol suppository formulation and dissolution and assay methodologies.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

Elen Francis Queiroz da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO DE SUPOSITÓRIO DE  
MISOPROSTOL E DE METODOLOGIAS DE DISSOLUÇÃO E DOSEAMENTO**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Silvana do Couto Jacob (Doutora).  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz.

---

Tailane Sant'Anna Moreira (Doutora).  
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

---

Thiago Bousquet Bandini (Doutor).  
Instituto Carlos Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

**ORIENTADORAS**

---

Bernardete Ferraz Spisso (Doutora).  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz.

---

Laís Bastos da Fonseca (Doutora).  
Serviço de Equivalência e Farmacocinética, Fundação Oswaldo Cruz.

Dedico esse trabalho a minha mãe, Rosa que incansavelmente se dedicou a minha criação e educação e a meu pai Francisco, *in memoriam*, que me ensinou a amar aprender, a ser curiosa e questionadora, ao qual tenho certeza de que me acompanhou durante toda essa jornada.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me dado sabedoria, coragem, resistência e perseverança. Por guiar meus passos, por colocar seus anjos em meu caminho e por me dar a oportunidade de realizar um sonho, e através dele ajudar tantas vidas.

Aos meus pais, que sempre acreditaram em mim, e me ensinaram a construir a vida com honestidade, justiça, respeito, liberdade, coragem, amor e alegria. É para vocês e por vocês que consegui este título e só nós sabemos o quanto lutamos.

Ao meu pai e bisavó, meus maiores fãs, que não estão nesse plano, mas se tornaram parte de mim e me fizeram ter forças para caminhar até aqui.

À minha madrinha Márcia por ser meu maior exemplo de dedicação.

Aos meus grandes amigos Layza, Pablo, Cátia, Tícia, Dani, Erik, Vlad, Inah, Jacque, Lívia, Bárbara, Sônia e os amigos dos grupos “Salone”, “Resistência”, “Biofromhell” e “Smartchurras” pelo apoio constante com dicas e/ou palavras de conforto, por me incentivarem a ir em busca dos meus sonhos, por compreenderem minha ausência e permanecerem me amando, apesar do mau humor.

As amigas de turma Paula e Thais, que tornaram minha jornada mais leve.

A incrível equipe do CEF, Irwin, Karley, Rossana, Tammy e Valéria, que me deram suporte emocional e técnico todos os dias. Sem vocês nada disso teria sido possível...

A todo corpo técnico do SEFAR por toda ajuda, torcida e companheirismo, em especial aos amigos Letícia, Estephane, Roberta, Diego, Vivi, João Leandro e Aline. E ao Douglas por dedicar seu tempo e sabedoria em resolver meus desafios.

À minha chefe Adelaine, meu maior exemplo profissional, por me dar a oportunidade de estudar/ aprender e por jamais duvidar do meu potencial.

À minha orientadora Dra. Laís, por tamanha generosidade em dividir conhecimento, pela paciência nos dias difíceis, mas principalmente por acreditar em mim e não me deixar desistir. Sou eternamente grata por aprender tanto com você.

À minha orientadora Dra. Bernardete, pela disponibilidade e por sua atenção com meu trabalho.

À Dra. Alessandra Viçosa, por dividir seu conhecimento com tamanha alegria. Bem como a equipe do LabFE por toda colaboração.

Ao Dr. Renato Rozental por ser o idealizador desse projeto tão importante e necessário.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem participar e pelas sugestões que contribuíram para a qualidade deste trabalho.

A coordenação, professores e funcionários da secretária do INCQS pela oportunidade e por todo suporte prestado com tamanha gentileza durante todo o curso.

A todos que torcem por mim e que não foram diretamente citados, mas que de alguma forma estiveram próximos a mim e participaram desse momento.

Ao povo brasileiro, o qual através de seus impostos financiaram a minha pesquisa e formação. Espero ter retribuído o investimento e a continuar a trabalhar por uma saúde pública de qualidade.

"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes."

Isaac Newton

## RESUMO

No mundo todo, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a mortalidade materna é considerada um desafio para os sistemas de saúde. As altas taxas são causadas por hipertensão, hemorragia pós-parto (HPP) e infecções, dentre outras causas evitáveis. Para a HPP, é indicado o uso profilático de fármacos uterotônicos. A OMS indica o uso do misoprostol, nos casos em que a ocitocina injetável não esteja disponível. O misoprostol é um análogo da prostaglandina E1, utilizado no tratamento de úlcera, indução de parto, aborto e tratamento de HPP, nas apresentações de comprimido oral e vaginal, podendo ser administrado pelas vias oral, vaginal, sublingual e retal, visto que a via vaginal se encontra impossibilitada devido ao sangramento. Nesse cenário, a forma farmacêutica de supositório é a mais indicada pela rápida ação terapêutica, entretanto, ela é inexistente no Brasil e no mundo. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver uma formulação de misoprostol em supositório, bem como desenvolver e validar metodologias analíticas de doseamento e dissolução. Existem poucas monografias farmacopeicas para fármacos na forma farmacêutica de supositório, sendo encontrado o teste de doseamento em 18 monografias e somente em uma o teste de dissolução. Mostrando uma carência de estudo para esta forma farmacêutica. Para desenvolver as metodologias, foram testadas diferentes tipos de base, métodos de extração, meios e parâmetros de dissolução. O melhor método de doseamento se baseou na extração com acetonitrila em banho-maria a 40°C, enquanto o método de dissolução mais adequado foi alcançado com o aparato II (pá) com âncoras, velocidade de 75 rpm e tampão fosfato de sódio pH 7,2 com lauril sulfato de sódio 1 % (p/v) como meio de dissolução. As amostras foram analisadas por CLAE-UV e os métodos desenvolvidos foram validados de acordo com a RDC N° 166 de 24 de julho de 2017. As análises demonstraram que foi possível desenvolver uma forma farmacêutica apropriada ao uso e metodologias simples e de baixo custo, que futuramente podem ser empregadas no controle de qualidade deste medicamento.

Palavras-chave: Misoprostol. Supositório. Hemorragia pós-parto. Dissolução. Doseamento.

## ABSTRACT

Worldwide, according to the World Health Organization (WHO), maternal mortality is considered a challenge for health systems. The high rates are caused by hypertension, postpartum hemorrhage (PPH) and infections, among other preventable causes. For PPH, prophylactic use of uterotonic drugs is indicated. WHO indicated the use of misoprostol in cases where injectable oxytocin is not available. Misoprostol is an analogue of prostaglandin E1, used in the treatment of ulcer, induction of delivery, abortion and treatment of PPH, in oral and vaginal tablet presentations, and can be administered by oral, vaginal, sublingual and rectal routes, since the vaginal route is precluded due to bleeding. In this scenario, the pharmaceutical form of suppository is the most indicated for the rapid therapeutic action, however, it is nonexistent in Brazil and worldwide. The present work aimed to develop a formulation of misoprostol in suppository, as well as to develop and validate analytical methodologies for assay and dissolution. There are few pharmacopoeias' monographs for drugs in the pharmaceutical form of suppository, and the dosing test was found in 18 monographs and only in 1 dissolution test. It demonstrates the deficit of this pharmaceutical form study. To develop the methodologies, different types of bases, extraction methods, media and dissolution parameters were tested. The best assay method was based on acetonitrile extraction in a water bath at 40°C, while the most appropriate dissolution method was achieved with apparatus 2 (paddle) with sinker, speed of 75 rpm and sodium phosphate buffer pH 7.2 with sodium lauryl sulfate 1 % (w/v) as dissolution media. The samples were analyzed by HPLC-UV and the developed methods were validated according to RDC No. 166 of July 24, 2017. The analyses showed that it was possible to develop a pharmaceutical form with appropriate use and simple and low-cost methodologies, which in the future can be used in the quality control of this drug.

Keywords: Misoprotol. Suppository. Postpartum hemorrhage. Quality control. Dissolution. Assay.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula RMM .....	29
Figura 2 – Razão de mortalidade materna do Brasil de 1990 a 2018 .....	30
Figura 3 – Morte materna por tipo de causa obstétrica do Brasil de 1996 a 2018. ...	31
Figura 4 – Causas de morte materna obstétrica direta e indireta do Brasil de 1996 a 2018. ....	32
Figura 5 – Estrutura química do Misoprostol e seu análogo natural, a Prostaglandina E1 .....	35
Figura 6 – Via de metabolização do misoprostol até seu metabolito ácido misoprostol. ....	39
Figura 7 – Concentração plasmática média x tempo do ácido de misoprostol de acordo com a via de administração sublingual, oral e vaginal .....	40
Figura 8 – Concentração plasmática média x tempo do ácido de misoprostol de acordo com a via de administração vaginal, bucal e retal. ....	42
Figura 9 – Exemplar de supositório tamanho adulto .....	47
Figura 10 – Esquema de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	52
Figura 11 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de dispersão de misoprostol. ....	68
Figura 12 – Aspecto visual do molde de silicone de supositório adulto.....	69
Figura 13 – Fluxograma do método geral de produção de supositórios.....	71
Figura 14 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol do método 1 .....	74
Figura 15 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol do método 2 .....	76
Figura 16 – Fluxograma com o descritivo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol.....	77
Figura 17 – Fluxograma com o descritivo do preparo das amostras de dissolução do supositório de misoprostol.....	82
Figura 18 – Técnica de pesagem da SQR de misoprostol .....	88

Figura 19 – Cromatograma da amostra de solução SQR de misoprostol dos testes de doseamento e impurezas orgânicas da análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % .....	88
Figura 20 – Cromatograma da amostra de HPMC no teste de doseamento e impurezas orgânicas da.....	90
Figura 21 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 2 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente.....	93
Figura 22 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente.....	93
Figura 23 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 4 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente.....	94
Figura 24 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base CM) do teste de doseamento do método 1 .....	101
Figura 25 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base NA15) do teste de doseamento do método 1 .....	101
Figura 26 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base AS2X) do teste de doseamento do método 1 .....	102
Figura 27 – Sobreposição dos cromatogramas das amostras de supositório de misoprostol 800 µg das bases CM (rosa), NA15 (azul) e AS2X (vermelho) do teste de doseamento do método 1 .....	103
Figura 28 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol do teste de doseamento do método 2.....	104
Figura 29 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol em acetonitrila do teste de doseamento do método 3.....	106
Figura 30 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol em tetrahidrofurano do teste de doseamento do método 3.....	107
Figura 31 – Sobreposição dos cromatogramas das amostras de supositório de misoprostol 800 µg da base NA15 em acetonitrila (azul) e tetrahidrofurano (vermelho) do teste de doseamento do método 3. ....	108
Figura 32 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg das bases NA15 e AS2X no início do teste de dissolução do método 1 .....	110

Figura 33 – Cuba com amostra de supositório de misoprostol 800 µg da base CM após término do teste de dissolução do método 1 .....	111
Figura 34 – Cuba com amostra de supositório de misoprostol 800 µg da base AS2X após término do teste de dissolução do método 1 .....	111
Figura 35 – Cuba com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg da base NA15 no início do teste de dissolução do método 2.....	113
Figura 36 – Desintegrador com as amostras de supositórios de misoprostol 800 µg antes do teste de dissolução do método 3 .....	115
Figura 37 – Desintegrador com as amostras de supositórios de misoprostol 800 µg depois do teste de dissolução do método 3 .....	115
Figura 38 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg das bases CM e NA15 no início do teste de dissolução do método 4 .....	117
Figura 39 – Âncora espiral de aço adaptada para os supositórios.....	119
Figura 40 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg das bases NA15 e AS2X no final do teste de dissolução do método 5 .....	120
Figura 41 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 0,1 % de tensoativo.....	122
Figura 42 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 0,5 % de tensoativo.....	123
Figura 43 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 1 % de tensoativo.....	123
Figura 44 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 2 % de tensoativo.....	124
Figura 45 – Ponto de coleta na cuba com volume de 300 mL de meio de dissolução .....	127
Figura 46 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 600 µg do teste de dissolução do método 7.....	127
Figura 47– Cromatograma da amostra de branco (solução diluente) do teste de seletividade do método de doseamento .....	129
Figura 48 – Cromatograma da amostra de supositório placebo (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento .....	129

Figura 49 – Cromatograma da amostra de placebo (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento .....	130
Figura 50 – Cromatograma da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método de doseamento .....	130
Figura 51 – Cromatograma da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento .....	131
Figura 52 – Cromatograma da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento .....	131
Figura 53 – Pureza de pico da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método de doseamento .....	132
Figura 54 – Pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento .....	133
Figura 55 – Pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento .....	133
Figura 56 – Curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento .....	134
Figura 57 – Gráfico de distribuição % ERP <i>versus</i> concentração da análise de dispersão do teste de linearidade do método de doseamento .....	136
Figura 58 – Curvas de calibração do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento.....	139
Figura 59 – Gráfico de distribuição % ERP <i>versus</i> concentração da análise de dispersão do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento.....	141
Figura 60 – Cromatograma com cálculo do sinal-ruído da amostra 3 do teste de precisão no nível do LQ do método de doseamento .....	142
Figura 61 – Cromatograma da amostra de branco (solução diluente) do teste de seletividade do método de dissolução.....	145
Figura 62 – Cromatograma da amostra de placebo (base AS2X) do teste de seletividade do método de dissolução.....	145
Figura 63 – Cromatograma e pureza de pico da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método de dissolução.....	146

Figura 64 – Cromatograma e pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento dissolução .....	147
Figura 65 – Curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento de dissolução .....	148
Figura 66 – Gráfico de distribuição % ERP versus concentração da análise de dispersão do teste de linearidade do método de dissolução .....	149
Figura 67 – Curva do perfil de dissolução comparativo do supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) versus Prostokos® 200 µg comprimido vaginal .....	157
Figura 68 – Comparativo de medidas do supositório de misoprostol 600 µg versus Prostokos® 200 µg comprimido vaginal .....	158

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Formas farmacêuticas disponíveis no mundo. ....	45
Quadro 2 – Tipos de bases da Gattefossé da linha Suppocire® disponibilizadas. ....	66
Quadro 3 – Massa de ativos por unidade de supositório da etapa 1 de produção....	72
Quadro 4 – Massa de ativos por unidade de supositório da etapa 2 de produção....	73

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados do doseamento das amostras de dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.....	89
Tabela 2 – Resultados da produção de supositórios de base pura .....	91
Tabela 3 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 2 .....	92
Tabela 4 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3 .....	94
Tabela 5 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 4 .....	95
Tabela 6 – Resultados da produção de supositórios de HPMC do lote 1 com 800 µg .....	95
Tabela 7 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3 .....	96
Tabela 8 – Resultados da produção de supositórios de HPMC do lote 2 com 600 µg .....	97
Tabela 9 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 600 µg do lote 1 .....	98
Tabela 10 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 600 µg do lote 2 .....	99
Tabela 11 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 1 .....	102
Tabela 12 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 2 .....	104
Tabela 13 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 3 .....	107
Tabela 14 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 600 µg do teste de doseamento do método 3 .....	109
Tabela 15 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 2 .....	114
Tabela 16 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 3 .....	116

Tabela 17 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 4 com 0,1 % de tensoativo .....	118
Tabela 18 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 4 com 0,5 % de tensoativo .....	118
Tabela 19 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 5 com 0,1 % de tensoativo .....	120
Tabela 20 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 5 com 0,5 % de tensoativo .....	121
Tabela 21 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento.....	134
Tabela 22 – Resultados da homoscedasticidade do teste de linearidade do método de doseamento.....	135
Tabela 23 – Resultados da análise de dispersão do teste de linearidade do método de doseamento.....	136
Tabela 24 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do método de doseamento.....	137
Tabela 25 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do método de doseamento .....	137
Tabela 26 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do método de doseamento .....	138
Tabela 27 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento .....	140
Tabela 28 – Resultados da homocedasticidade do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento.....	140
Tabela 29 – Resultados da análise de dispersão do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento .....	141
Tabela 30 – Resultados do teste de precisão no nível do LQ do método de doseamento .....	141
Tabela 31 – Resultados do teste de exatidão do método de doseamento.....	143
Tabela 32 – Resultados do teste de robustez do método de doseamento.....	144
Tabela 33 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade do método de dissolução .....	148

Tabela 34 – Resultados da homocedasticidade do teste de linearidade do método de dissolução .....	149
Tabela 35 – Resultados da dispersão do teste de linearidade do método de dissolução .....	149
Tabela 36 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 15 minutos do método de dissolução .....	150
Tabela 37 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 30 minutos do método de dissolução .....	150
Tabela 38 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 15 minutos do método de dissolução .....	151
Tabela 39 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 30 minutos do método de dissolução .....	151
Tabela 40 – Resultados do teste de exatidão do método de dissolução.....	152
Tabela 41 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de doseamento .....	153
Tabela 42 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de uniformidade de conteúdo doseamento .....	154
Tabela 43 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de perfil de dissolução .....	156
Tabela 44 – Resultados da amostra de supositório de Prostokos® 200 µg comprimido vaginal no ensaio de perfil de dissolução .....	156

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Official Methods of Analysis</i>
AUC	Área sob a curva
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CID	Classificação Internacional de Doenças
DAD	Detector de arranjo de fotodiodos
DPR	Desvio padrão relativo
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CDTS	Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde
EQFAR	Centro de Equivalência Farmacêutica
% ERP	Erro relativo percentual
Farmanguinhos	Instituto de Tecnologia em Fármacos
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEBRASGO	Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HPP	Hemorragia pós-parto
H1N1	Influenza A
IFA	Insumo farmacêutico ativo
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
INFAN	Indústria Química Farmacêutica Nacional S/A
JP	<i>Japanese Pharmacopoeia</i>
LabFE	Laboratório de Farmacotécnica Experimental
LACEN	Laboratórios Centrais de Saúde Pública
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação

ONU	Organização das Nações Unidas
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PGE1	Prostaglandina E1
Ph. Eur.	<i>European Pharmacopoeia</i>
Ph. Int.	<i>International Pharmacopoeia</i>
(Q)	Quantidade dissolvida em tempo infinito
REBLAS	Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde
RENAME	Relação nacional de medicamentos essenciais
RMM	Razão de mortalidade materna
RPM	Rotação por minuto
SEFAR	Serviço de Equivalência e Farmacocinética
SQR	Substância Química de Referência
SUS	Sistema Único de Saúde
Tmax	Tempo para atingir a concentração plasmática máxima
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
UV/ VIS	Luz ultravioleta e visível
VPPIS	Vice-presidência de Produção e Inovação em Saúde

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	26
1.2.1	Hemorragia pós-parto .....	32
1.3.1	Histórico do misoprostol.....	36
1.3.2	Farmacodinâmica.....	38
1.3.3	Farmacocinética.....	39
1.3.3.1	<i>Via oral</i> .....	40
1.3.3.2	<i>Via sublingual</i> .....	41
1.3.3.3	<i>Via vaginal</i> .....	41
1.3.3.4	Via vaginal + água .....	42
1.3.3.5	<i>Via retal</i> .....	42
1.3.3.6	<i>Via bucal</i> .....	43
1.3.4	Toxicidade.....	43
1.3.5	Efeitos adversos.....	44
1.3.6	Formas farmacêuticas disponíveis no mundo.....	44
1.4	Supositório .....	47
1.4.1	Ação.....	48
1.4.2	Composição e preparo.....	49
1.5	Análise farmacêutica .....	51
1.5.1	Método de doseamento .....	51
1.5.1.1	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência</i> .....	51
1.5.2	Dissolução .....	54
1.5.2.1	<i>Aparato de dissolução</i> .....	55
1.5.2.2	<i>Controle de qualidade de supositórios</i> .....	57
1.5.3	Validação .....	59
1.5.4	Supositório de misoprostol.....	60
2	OBJETIVOS .....	62
2.1	Objetivos gerais .....	62
2.2	Objetivos específicos .....	62
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	63
3.1	Materiais.....	63
3.1.2	Reagentes.....	64

3.1.3	Produtos farmacêuticos e substância química de referência (SQR).....	64
3.2	Métodos .....	65
3.2.1	Análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.....	66
3.2.1.1	<i>Soluções para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %</i> .....	66
3.2.1.2	<i>Parâmetros cromatográficos para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %</i> .....	67
3.2.1.3	<i>Preparo das amostras para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %</i> 67	
3.2.1.4	<i>Preparo da SQR para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %</i> .....	68
3.2.2	Desenvolvimento e produção de supositórios.....	69
3.2.2.1	<i>Etapa 1 - Supositório de misoprostol 800 µg</i> .....	72
3.2.2.2	<i>Etapa 2 - Supositório de misoprostol 600 µg</i> .....	72
3.2.3	Análise de desenvolvimento do método de doseamento do supositório de misoprostol .....	73
3.2.3.1	<i>Doseamento - Método 1</i> .....	73
3.2.3.1.1	<i>Soluções</i> .....	73
3.2.3.1.2	<i>Parâmetros cromatográficos</i> .....	73
3.2.3.1.3	<i>Preparo de amostras</i> .....	74
3.2.3.1.4	<i>Preparo da substância química de referência (SQR)</i> .....	74
3.2.3.2	<i>Doseamento - Método 2</i> .....	75
3.2.3.2.1	<i>Soluções</i> .....	75
3.2.3.2.2	<i>Parâmetros cromatográficos</i> .....	75
3.2.3.2.3	<i>Preparo de amostras</i> .....	76
3.2.3.2.4	<i>Preparo da substância química de referência (SQR)</i> .....	76
3.2.3.3	<i>Doseamento - Método 3</i> .....	76
3.2.3.3.1	<i>Soluções</i> .....	77
3.2.3.3.2	<i>Parâmetros cromatográficos</i> .....	77
3.2.3.3.3	<i>Preparo de amostras</i> .....	77
3.2.3.3.4	<i>Preparo da substância química de referência (SQR)</i> .....	78
3.2.4	Análise de desenvolvimento do método de dissolução do supositório de misoprostol .....	78
3.2.4.1	<i>Parâmetros de dissolução</i> .....	79

3.2.4.2	<i>Soluções</i> .....	80
3.2.4.3	<i>Preparo de amostras</i> .....	82
3.2.4.4	<i>Preparo da substância química de referência (SQR)</i> .....	83
3.2.5	Análise de validação do supositório de misoprostol.....	83
3.2.5.1	<i>Seletividade</i> .....	83
3.2.5.2	<i>Linearidade</i> .....	83
3.2.5.3	<i>Precisão</i> .....	84
3.2.5.3.1	Precisão intermediária .....	84
3.2.5.4	<i>Limite de quantificação</i> .....	84
3.2.5.5	<i>Exatidão</i> .....	85
3.2.5.6	<i>Robustez</i> .....	85
3.2.6	Análise de doseamento do supositório de misoprostol .....	85
3.2.7	Análise de perfil de dissolução do supositório de misoprostol .....	86
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	87
4.1	Análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.....	87
4.2	Desenvolvimento e produção do supositório.....	90
4.2.1	Etapa 1 – Supositório misoprostol 800 µg.....	91
4.2.1.1	<i>Supositório de base pura</i> .....	91
4.2.1.2	<i>Supositório de misoprostol 800 µg com 10 % de excesso</i> .....	91
4.2.1.3	<i>Supositório de HPMC</i> .....	95
4.2.1.4	<i>Supositório de misoprostol 800 µg com 20 % de excesso</i> .....	96
4.2.2	Etapa 2 – Supositório misoprostol 600 µg.....	96
4.2.2.1	<i>Supositório de HPMC</i> .....	97
4.2.2.2	<i>Supositório de misoprostol 600 µg</i> .....	98
4.3	Análise de desenvolvimento do método de doseamento do supositório de misoprostol.....	100
4.3.1	Doseamento - Método 1.....	100
4.3.2	Doseamento - Método 2.....	103
4.3.3	Doseamento - Método 3.....	105
4.4	Análise de desenvolvimento do método de dissolução do supositório de misoprostol.....	109
4.4.1	Dissolução - Método 1 .....	109

4.4.2	Dissolução - Método 2 .....	112
4.4.3	Dissolução - Método 3 .....	114
4.4.4	Dissolução - Método 4 .....	117
4.4.5	Dissolução - Método 5 .....	119
4.4.6	Dissolução - Método 6 .....	121
4.4.7	Dissolução - Método 7 .....	126
4.5	Análise de validação do método de doseamento do supositório de misoprostol 128	
4.5.1	Seletividade/ Especificidade .....	129
4.5.2	Linearidade .....	134
4.5.3	Precisão .....	136
4.5.4	Limite de quantificação .....	138
4.5.5	Exatidão .....	142
4.5.6	Robustez.....	143
4.6	Análise de validação do método de dissolução do supositório de misoprostol	144
4.6.1	Seletividade/ Especificidade .....	144
4.6.2	Linearidade .....	147
4.6.3	Precisão .....	150
4.6.4	Limite de quantificação .....	152
4.6.5	Exatidão .....	152
4.6.6	Robustez.....	153
4.7	Análise de doseamento do supositório de misoprostol .....	153
4.8	Análise de perfil de dissolução do supositório de misoprostol .....	155
5	CONCLUSÃO .....	159

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Vigilância Sanitária

No Brasil, o acesso à saúde é um direito fundamental garantido pela Constituição Federal Brasileira de 1988. O artigo 196 decreta que “a saúde é direito de todos e dever do Estado [...]”, enquanto o artigo 197 estabelece que as ações e serviços de saúde devem ser regulamentadas, controladas e fiscalizadas pelo Poder Público (BRASIL, 1988).

A lei nº 8.080 de 1990, regula as ações e serviços de saúde para promoção, proteção e recuperação da saúde e dispõe sobre a organização e funcionamento do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 1990). Estabelece como campo de atuação do SUS a execução de ações de vigilância sanitária, e a define como:

Um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde (BRASIL, 1990).

A Vigilância Sanitária é responsável, portanto, por regulamentar, registrar, inspecionar e monitorar produtos, insumos e serviços relacionados à saúde, ambiente e o ambiente de trabalho, e pela circulação internacional de pessoas e cargas (COSTA; ROZENFELD, 2000).

As ações da vigilância sanitária são executadas pelos laboratórios oficiais de saúde pública que integram o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, como o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), vinculado tecnicamente à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e administrativamente à Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Que possui a atribuição de ser o órgão de referência nacional para controle da qualidade de insumos, produtos, ambientes e serviços. Além do serviço de ensino em saúde e cooperação técnica com laboratórios centrais de saúde pública (Lacens) sobre as legislações, metodologias analíticas e questões tecnológicas (BRASIL, 1999, 2007a).

A partir da Resolução-RDC nº 390, de 26 de maio de 2020, a Anvisa estabeleceu que na ausência da capacidade analítica dos laboratórios oficiais e

credenciados, laboratórios analíticos públicos ou privados podem ser habilitados na Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (REBLAS) para atuar como prestadores de serviços e realizar análises em produtos sujeitos ao regime de vigilância sanitária. Estabeleceu ainda que “Os Centros de Equivalência Farmacêutica (EQFAR) são automaticamente credenciados para as categorias de medicamentos e insumos farmacêuticos” (BRASIL, 2020).

A Lei Federal nº 5.991, de 17 de dezembro 1973 define o conceito de medicamento no artigo 4 como “produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico” e estabelece a ação da vigilância sanitária sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos (BRASIL, 1973).

O controle de qualidade é definido no artigo 3 da lei Federal nº 6.360, de 23 de setembro de 1976 por “conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos abrangidos por esta Lei, que satisfaçam às normas de atividade, pureza, eficácia e inocuidade” (BRASIL, 1976).

Enquanto o conjunto de normas empregadas no controle de qualidade é denominado monografia oficial, que é específica para cada substância, princípio ativo ou produtos, independente do fabricante, cujo objetivo é estabelecer um padrão de análise para aprovação ou reprovação do produto através de testes, métodos e procedimentos e seus limites estabelecendo o padrão mínimo de qualidade para aceitação do produto de acordo com o país (SILVA, 2000; VEIGA; MELLO, 2008).

As monografias oficiais são descritas nas Farmacopeias, sendo a Farmacopeia Brasileira o código oficial farmacêutico do país e possui vínculo direto com a Anvisa (VEIGA; MELLO, 2008). Todas as farmacopeias preconizadas no Brasil estão dispostas na Resolução-RDC nº 511 de 27 de maio de 2021 da Anvisa (BRASIL, 2021a).

A Resolução-RDC nº 512 de 27 de maio de 2021 da Anvisa determina que os laboratórios devem empregar métodos analíticos descritos nas farmacopeias oficialmente aceitas no país. Mas, caso seja um método desenvolvido por estudos desenvolvidos ou modificados pelo próprio laboratório, devem ser validados conforme o regulamento oficial, para demonstrar a adequação do método. A validação e as

alterações realizadas devem ser documentadas, tecnicamente justificadas e validadas para solicitar a devida autorização. Sua abrangência se aplica a todos os laboratórios públicos ou privados que realizem análise de produtos sujeitos à vigilância sanitária (BRASIL, 2021b).

## **1.2 Mortalidade materna e hemorragia pós-parto**

A mortalidade ou morte materna é considerada uma grave violação dos direitos humanos das mulheres pela OMS, por ser evitável na grande maioria dos casos e por sua ocorrência maior em países em desenvolvimento. A organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) afirma que aproximadamente 830 mulheres morrem todos os dias no mundo devido a complicações da gestação ou do parto (OPAS, 2018a). A literatura internacional considera a faixa etária da mulher em idade fértil de 15 a 49 anos. E no Brasil, a idade varia de 10 a 49 anos (LAURENTI; MELLO-JORGE; GOTLIEB, 2000).

A OMS define a morte materna na 11ª revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-11), como:

Morte de uma mulher devido a um grupo de condições de saúde ocorridas do período da concepção da gravidez ao parto, durante o trabalho de parto, parto ou até seis semanas após o parto, durante as quais o útero retorna ao tamanho original (puerpério) (WHO, 2019a).

De acordo com o guia de vigilância epidemiológica do óbito materno do Ministério da Saúde (2009a), as mortes maternas (óbitos maternos) podem ser de dois tipos: as obstétricas diretas e obstétricas indiretas.

A morte materna obstétrica direta é decorrente de complicações obstétricas, durante a gravidez, parto ou puerpério devido a intervenções, a omissões, ao tratamento incorreto ou a uma cadeia de eventos resultante de alguma dessas causas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

A morte materna obstétrica indireta é aquelas decorrentes de doenças que existiam antes da gravidez ou que se desenvolveram durante esse período, não causada por motivos obstétricos diretos, mas agravadas pelos efeitos fisiológicos da gravidez (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

A razão de mortalidade materna (RMM) é um cálculo utilizado para determinar a mortalidade materna e um indicador do acesso da mulher aos cuidados de saúde e da capacidade do sistema de saúde responder às suas necessidades (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

O cálculo do RMM é realizado através da fórmula demonstrada na figura 1. Seu resultado deve ser multiplicado por k (segundo padrão internacional adotado,  $k=100.000$ ) sendo usado o CID 10 para óbitos que ocorreram a partir de 1996 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

Figura 1 – Fórmula RMM

$$\frac{\text{N.º de óbitos maternos (diretos e indiretos)}}{\text{N.º de nascidos vivos}} \times 100.000$$

Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

O Brasil ainda apresenta considerável subnotificação dos óbitos maternos, além de erro no registro por falha na identificação da causa do óbito. E por isso, a RMM é calculada utilizando fatores de correção (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Ainda há mortes maternas que não entram no cálculo da RMM, como a morte materna tardia, que é a morte de uma mulher, em decorrência de causas obstétricas diretas ou indiretas, e abrange o período de seis semanas (42 dias) até um ano após fim da gravidez. E a morte não obstétrica, que ocorre por causa incidental ou causa acidental não relacionadas à gravidez (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009a).

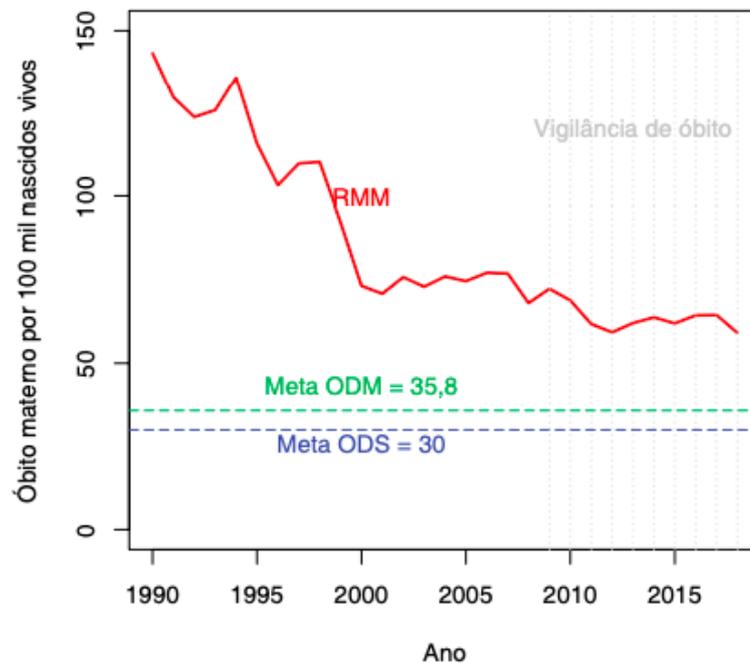
A mortalidade materna apresenta no Brasil, e nos demais países, um padrão no perfil de vulnerabilidade, com maior ocorrência em mulheres com poder econômico mais baixo, que residem em áreas rurais ou de difícil acesso aos serviços de saúde. Também apresenta recorte de idade, sendo mais comum óbitos nas extremidades da idade fértil, ou seja, por crianças/adolescentes ou por mulheres mais velhas com maior susceptibilidade a doenças hipertensivas. Há ainda o recorte de raça/cor, maior entre pardas e negras. Recorte de estado civil, sendo maior em mulheres solteiras, e ainda, recorte de escolaridade, sendo o maior acometimento em mulheres com menos tempo

de estudo. É, portanto, um grande problema de saúde pública, pois evidencia a relação com a desigualdade social (DIAS, 2014; MARTINS, 2006; UFMG, 2018).

A mortalidade materna sempre se manteve em níveis elevados no Brasil, sendo em 1990 a RMM de 143. No ano 2000 foi pactuado em um compromisso dos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio com a Organização das Nações Unidas (ONU), a redução da mortalidade materna em 75% até 2015. Objetivo que não foi alcançado pelo Brasil, sendo em 2015 reduzido em 56%, com 76 óbitos para cada 100 mil nascidos vivos, acima da meta de 35 óbitos estabelecida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a; ONU, 2018).

Em 2015, uma nova meta foi firmada com a ONU no âmbito dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, almejando reduzir, até 2030, a razão da mortalidade materna global para 70, e no Brasil para 30 óbitos. Em 2018, a RMM alcançada foi de 59,1 óbitos para cada 100 mil nascidos vivos, índice reduzido, porém ainda bem acima da meta, conforme demonstrado na figura 2 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a; ONU, 2018).

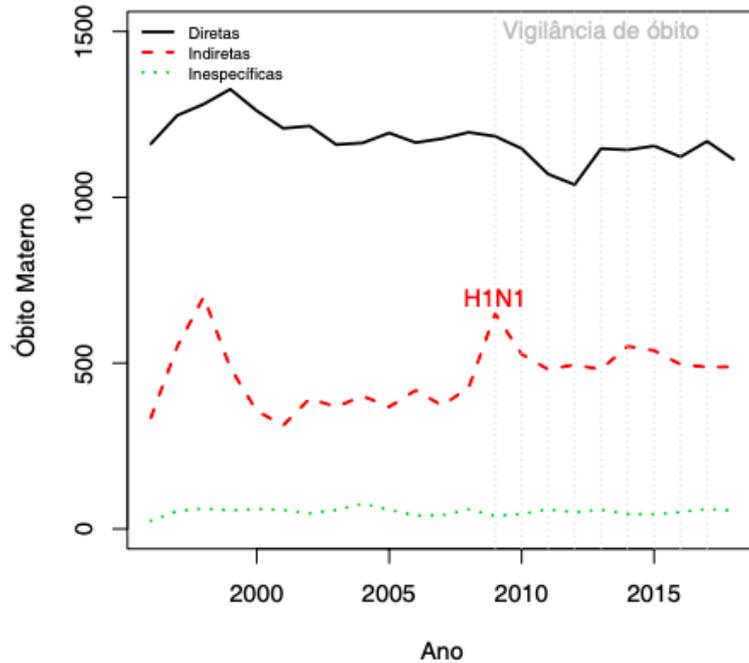
Figura 2 – Razão de mortalidade materna do Brasil de 1990 a 2018



Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

De acordo com o Boletim Epidemiológico N° 20 do Ministério da Saúde (2020a), a maior parte dos óbitos maternos no Brasil, de 1996 a 2018, ocorreu por morte direta, incluindo o surto de influenza A (H1N1) em 2009 conforme demonstrado na figura 3.

Figura 3 – Morte materna por tipo de causa obstétrica do Brasil de 1996 a 2018.



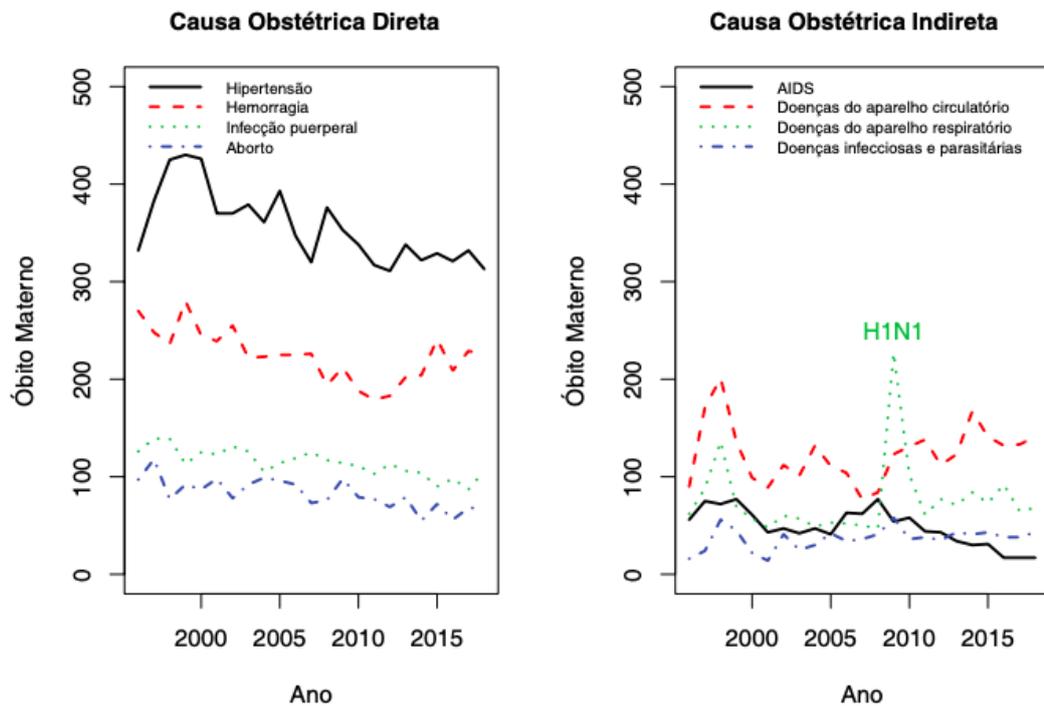
Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Todavia, a maior parte das mortes diretas poderiam ser evitadas com estratégias de diferentes níveis de complexidade. No anteparto, através do acesso ao pré-natal com acompanhamento para doenças como anemia, diabetes e hipertensão gestacional que aumentam o risco de complicações como a hemorragia pós-parto. Durante o parto, que a gestante tenha acesso a serviços de saúde, como hospitais e maternidades com disponibilidade de recursos e profissionais de saúde treinados. No pós-parto ou terceira fase do parto, período do parto que vai da saída do feto à expulsão da placenta, que receba administração profilática de medicamento uterotônico, fármaco que induz a contração uterina, sendo a ocitocina o medicamento de primeira escolha (IFF 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a; UFMG, 2018).

Na morte materna direta, a hemorragia pós-parto figura entre as principais causas de morte materna no mundo, acompanhada por distúrbios hipertensivos, infecções pós-parto e aborto (OPAS, 2018a). No Brasil, se repete essa prevalência,

conforme demonstrado na figura 4. Enquanto na morte indireta, as principais causas são AIDS, doenças infecciosas e parasitárias, doenças do aparelho circulatório e respiratório, embora em 2009, tenha ocorrido um pico de mortes causadas por H1N1 (FEITOSA-ASSIS; SANTANA, 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Figura 4 – Causas de morte materna obstétrica direta e indireta do Brasil de 1996 a 2018.



Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

### 1.2.1 Hemorragia pós-parto

A hemorragia pós-parto (HPP) é definida como uma emergência obstétrica em decorrência da perda sanguínea superior a 1000 mL no parto cesariano e 500 mL no parto vaginal nas primeiras 24 horas pós-parto (FEBRASGO, 2010; WHO, 2012). Possui ocorrência em aproximadamente 2 % das gestantes e puérperas, sendo responsável por 25% das mortes maternas no mundo, por consequência do choque hemorrágico e disfunção multiorgânica e pode ainda gerar sequelas como perda de fertilidade e outras complicações (BARBOSA; AYRES-DE-CAMPOS, 2013, DELANEY *et al.*, 2016).

A OMS reforça que a maioria dessas mortes poderiam ter sido evitadas através do uso de medicamentos uterotônicos, considerando má prática obstétrica a sua ausência em maternidades, visto que pode reduzir em aproximadamente 50 % o risco de HPP (IFF, 2018, 2019; WHO, 2012). A perda sanguínea pode ser muito rápida e em menos de 2 horas levar à morte, por isso, a prevenção é de suma importância em locais mais pobres com acesso à saúde precário ou inexistente, justamente por não haver tempo para procurar tratamento (BARBOSA; AYRES-DE-CAMPOS, 2013).

As principais causas de HPP ocorrem por atonia uterina, traumas, retenção da placenta e coagulopatias, sendo necessário conhecer as causas para saber tratar corretamente (FEBRASGO, 2010; IFF, 2019).

O guia da ONU para a prevenção e tratamento da HPP recomenda o uso de medicamentos uterotônicos para todos os tipos de parto, sendo a ocitocina por via intravenosa o fármaco de primeira escolha por apresentar maior eficácia e segurança no manejo da HPP e o único fármaco indicado para partos cesáreo. Contudo, a ocitocina se deteriora em temperaturas superiores a 30 °C por períodos prolongados, necessitando de refrigeração para seu armazenamento (WHO, 2018).

Para estratégia de prevenção, o fármaco de segunda escolha recomendado é a ergometrina por via intravenosa, que não deve ser administrada em pacientes hipertensas, com pré-eclâmpsia ou eclâmpsia. E como terceira escolha, o misoprostol de 600 µg por via oral (WHO, 2018).

Enquanto para estratégia de tratamento, a recomendação de segunda escolha é administração de ergometrina por via intravenosa seguida por misoprostol de 800 µg por via sublingual. Se a hemorragia persistir devem ser testadas as opções de administração de ácido tranexâmico, massagem uterina e intervenção cirúrgica (WHO, 2018).

A partir de 2010 passou a ser indicado pela OMS, após consulta pública e revisão bibliográfica, o uso de misoprostol por ser considerado seguro, eficaz e de baixo custo (WHO, 2010). O misoprostol não possui a mesma eficácia da ocitocina, mas em locais onde a ocitocina não esteja disponível, como em partos fora de ambiente hospitalar, o misoprostol mostrou-se uma importante estratégia (DELANEY *et al.*, 2016).

A Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) recomenda para o tratamento da HPP a dose de até 800 µg do misoprostol, administrado por até 4 comprimidos consecutivos com dose de 200 µg, por via sublingual, vaginal ou retal. No entanto, a via vaginal deve ser evitada quando houver sangramento e/ou sinais de infecção (FIGO, 2012; MORRIS *et al.*, 2017).

A Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FREBRASGO), recomenda junto à OPAS e Ministério da Saúde brasileiro, o uso de misoprostol no manejo da HPP por atonia uterina na dose de 600 a 800 µg por via retal, pois seu início de ação ocorre em aproximadamente 15 minutos após sua administração (FEBRASGO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; OPAS, 2018b).

Há ainda na literatura diversos estudos e ensaios clínicos que relatam o uso obstétrico de misoprostol pela via retal em doses que variam de 400 a 1000 µg (DE SIQUEIRA *et al.*, 2019; KHAN *et al.*, 2004; KOCH; RATTMANN, 2019; WANNMACHER, 2016).

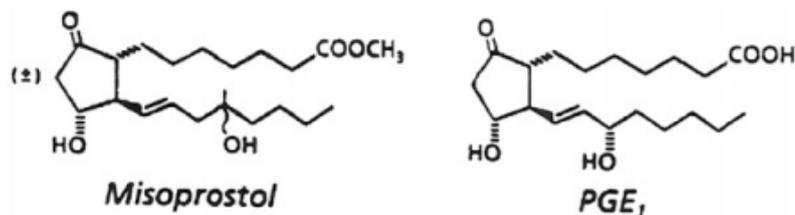
Uma das vantagens do uso de misoprostol é a possibilidade de administração por trabalhadores de saúde com menor qualificação, como agentes comunitários de saúde, em situações nas quais não há presença de um profissional especialista em obstetrícia, como em partos domiciliares (WHO, 2010, 2018). Contudo, mesmo sem a necessidade de um especialista, o misoprostol precisa ser administrado por pessoas que tenham algum treinamento prévio para sua correta administração, identificação e controle dos efeitos adversos, uma vez que, doses incorretas ou administração antes do nascimento do bebê podem acarretar efeitos adversos mais graves (WHO, 2009).

Nesse contexto, pensando em locais com poucos recursos, onde não tenha disponibilidade de ocitocina ou que não possa ser administrada com segurança, o misoprostol apresenta pontos positivos, pois pode ser administrado por vias de fácil acesso (oral, sublingual, vaginal e retal), enquanto a ocitocina é injetável e necessita de um profissional habilitado. Além disso, para as formas farmacêuticas comprimido e comprimido vaginal há vantagens de ser um medicamento de baixo custo, não necessitar de refrigeração para seu armazenamento e apresenta efeito adverso de fácil contorno, quando administrado em doses baixas (WANNMACHER, 2016).

### 1.3 Misoprostol

O misoprostol (15-deoxi-16-hidroxi-16-metil-PGE<sub>1</sub>) é um análogo sintético da prostaglandina E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>), de ocorrência natural. Suas estruturas se diferenciam devido à presença em C-1 do grupo metil éster e da troca C-15 para C-16 do grupo hidroxila e a adição de um grupo metil na mesma posição conforme demonstrado na figura 5 (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Figura 5 – Estrutura química do Misoprostol e seu análogo natural, a Prostaglandina E<sub>1</sub>



Fonte: (COLLINS, 1990).

O misoprostol é um líquido viscoso, com característica oleosa e higroscópica, com fórmula empírica C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub> e massa molar de 382,51 g/mol, possui pKa 14,68, logP 3,8, solúvel em água e etanol e moderadamente solúvel em acetonitrila (DRUGBANK, 2020; PUBCHEM, 2020). No sistema de classificação biofarmacêutica pertence a classe I, fármaco de alta solubilidade e alta permeabilidade (EMA, 2014; FLEISHER, *et al.*, 1999).

Na forma de substância pura apresenta alta suscetibilidade à degradação e deve ser armazenado em temperatura entre -25 a -10°C e com proteção à luz. E por isso, é estabilizado em uma dispersão de 1:100 em hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) alcançando desta forma maior estabilidade e suportando estocagem em temperatura de 2 a 8°C. Seu insumo farmacêutico ativo (IFA) é comumente encontrado sob a forma de misoprostol- HPMC 1 % (COLLINS, 1990; MEHTA *et al.*, 2010).

O misoprostol apresenta alta potência sendo necessário baixa dosagem para obter efeitos terapêuticos e necessita de cuidados em seu manuseio, por causar danos aos órgãos do sistema cardiovascular, além de efeito prejudicial à fertilidade ou feto e efeito tóxico por ingestão (DRUGBANK, 2020; PUBCHEM, 2020, USP, 2009).

### 1.3.1 Histórico do misoprostol

Em 1967, Robert e colaboradores descobriram que as prostaglandinas naturais da série E são inibidoras da secreção de ácido gástrico. Porém, observaram dificuldades para sua aplicação, como sua instabilidade química que ocasiona curto tempo de meia-vida, rápida metabolização, resultando inatividade em administração por via oral e curta duração de ação por via parenteral, e ainda, muitos efeitos colaterais, como diarreia, cólicas abdominais, dor de cabeça, eritema facial, hipertermia e calafrios. E ainda, efeitos mais graves como os efeitos plaquetários, hiperostose cortical e propriedades uterônicas, sendo, portanto, desestimulado seu aproveitamento como molécula promissora (COLLINS, 1990).

Em 1973, a molécula de misoprostol foi desenvolvida e passou a ser a primeira prostaglandina liberada para tratamento de úlcera duodenal e gástrica. Mas, mesmo após modificações estruturais feitas na molécula ainda apresentava o efeito do aumento da atividade contrátil uterina, que pode causar risco gestacional (COLLINS, 1990).

A molécula de misoprostol passou a ser comercializado como Cytotec<sup>®</sup> na forma farmacêutica de comprimido nas doses de 100 e 200 µg, pela empresa G. D. Searle & Company, hoje Pfizer, e teve seu uso autorizado no Brasil em 1986, sendo somente comercializado a partir de 1988, pelo laboratório Biolab (BARBOSA; ARILHA, 1993; PFIZER, 2021).

Por ser destinada ao tratamento de úlcera, sua venda era livre em drogarias, mas seu uso como abortifaciente se disseminou rapidamente e levou a discussões, com grupos favoráveis ao seu uso para indução de parto, aborto retido, quando há morte do feto sem expulsão, e para diminuir os riscos por abortos ilegais, como morte materna. Por outro lado, instituições ligadas à vigilância farmacológica alegavam que o medicamento estava sendo usado apenas por seu efeito colateral e queriam maior controle de seu uso e grupos mais conservadores queriam sua proibição, devido a questões de ordem moral e religiosa contrárias ao aborto, alegando a hipótese de teratogenia (BARBOSA; ARILHA, 1993).

Em 9 de julho de 1991 as vendas foram suspensas, e posteriormente, foi regulamentado pelo Ministério da Saúde, sendo a venda do Cytotec<sup>®</sup> realizada apenas

com prescrição médica e retenção da cópia, a fim de aumentar o controle e diminuir seu uso como abortivo ilegal (BARBOSA, R. M.; ARILHA, M., 1993).

Em 1998, a produção e venda do Cytotec<sup>®</sup> foi suspensa pelo Ministério da Saúde. E a partir de então, a substância misoprostol passou a ser controlada conforme Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998, e suas atualizações, sendo incluída na lista “C1” (outras substâncias sujeitas a controle especial) cuja venda está restrita a estabelecimentos hospitalares cadastrados junto a Autoridade Sanitária competente (BRASIL, 1998a).

Nesse mesmo ano voltou a ser comercializado com o nome comercial Prostokos<sup>®</sup>, sendo fabricado pela Indústria Química Farmacêutica Nacional S/A (INFAN) sob a nova forma farmacêutica de comprimido vaginal nas doses de 25, 100 e 200 µg, com indicação de uso em ginecologia e obstetrícia para interrupção de gravidez em ambiente hospitalar (INFAN, 2020).

De acordo com a Anvisa, o Prostokos<sup>®</sup> é o único medicamento registrado no Brasil com princípio ativo misoprostol. O Cytotec<sup>®</sup>, também à base de misoprostol, está proibido de ser comercializado no Brasil por não possuir mais o registro na Anvisa, sendo considerada infração sanitária gravíssima e crime hediondo a venda de produtos sem registro no país com enquadramento no Código Penal no artigo 273 (ANVISA, 2015).

De maneira contraditória, o medicamento faz parte da lista de medicamentos essenciais da OMS, bem como na relação nacional de medicamentos essenciais (RENAME), lista que orienta a oferta e prescrição de fármacos do SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020c; WHO, 2019b).

Desde a Portaria SVS/MS nº 344/1998 o misoprostol comprimido vaginal é utilizado no Brasil na área de obstetrícia em âmbito hospitalar, sendo indicado para indução de aborto legal, esvaziamento uterino por morte fetal, amolecimento cervical antes de aborto cirúrgico e indução de trabalho de parto. E posteriormente passou a ser utilizado como uterotônico para prevenção e tratamento de HPP, na dose de 600 a 800 µg por via retal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b, 2012).

### 1.3.2 Farmacodinâmica

Segundo Rang e colaboradores (2016), o mecanismo de ação do misoprostol se dá por sua ação direta sobre as células ECS e parietal, levando à inibição da secreção basal de ácido gástrico e, da produção em resposta a histamina, pentagastrina e alguns alimentos, como cafeína. Atua também aumentando o fluxo sanguíneo na mucosa e estimulando a secreção de muco e de bicarbonato.

Deve ser administrado por via oral para cicatrizar úlceras e para prevenir lesão gástrica em decorrência do uso crônico de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Possui como efeitos adversos dose-dependentes, cólicas abdominais, diarreia e contrações uterinas, sendo contraindicado seu uso durante a gravidez por colocar o feto em risco (RANG *et al.*, 2016).

Entretanto, no final dos anos 80 e início dos anos 90, uma série de trabalhos foi publicada em todo mundo sobre a ação farmacológica do misoprostol em indução de parto e abortos (HERTING; NISSEN, 1986; MARIANI *et al.*, 1987; MARGULIES; CAMPOS; VOTO, 1992; NORMAN; THONG; BAIRD, 1991).

Seu uso *off label* de alguma forma se popularizou entre as mulheres e passou a ser amplamente utilizado para interromper a gravidez ilegalmente (ZORDO, 2016).

O uso de misoprostol em ginecologia e obstetrícia é devido ao seu efeito uterotônico, de induzir contrações. É encontrado nas formas farmacêuticas de comprimido e comprimido vaginal e ambas são administradas também por outras vias, como sublingual e retal (EMA, 2014; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007; ZIEMAN, *et al.*, 1997).

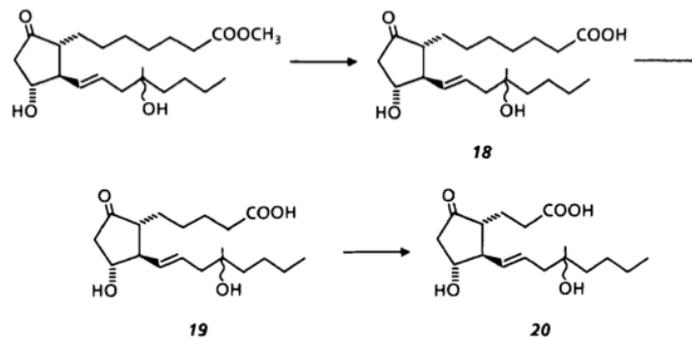
Para todas as vias de administração, é observado ocorrência de uterotonicidade (THAKUR; PRATAP, 2018). O mecanismo de ação se dá pela ligação do metabólito ativo, ácido misoprostol, nos receptores de prostaglandina das células do músculo liso do útero, provocando mudanças na estrutura físico-química do colágeno cervical e sua dissolução, além do aumento do conteúdo de água da cérvice e ácido hialurônico, acarretando no amolecimento e maturação do colo uterino, favorecendo sua dilatação, aumentando a força e frequência da contração do miométrio e ainda, reduzindo o tônus cervical, com consequente expulsão da placenta, embrião ou feto, ou estancamento de hemorragia.

É indicado para interrupção de gestação para antecipação de parto em benefício fetal ou materno, na indução de parto com feto morto antes das 30 semanas e em caso de aborto legal e, para prevenção e tratamento de hemorragia por atonia uterina (EMA, 2014; INFAN, 2020; KRUGH; MAANI, 2020).

### 1.3.3 Farmacocinética

De maneira geral, o misoprostol apresenta rápida absorção e sofre desesterificação hepática, se transformando em ácido misoprostol (figura 6), um metabólito biologicamente ativo no plasma e responsável pela ação farmacológica. A cadeia lateral alfa do misoprostol sofre  $\beta$ -oxidação, enquanto a cadeia lateral beta sofre ômega-oxidação, seguida por redução da cetona (COLLINS, 1990).

Figura 6 – Via de metabolização do misoprostol até seu metabólito ácido misoprostol.



Fonte: (COLLINS, 1990).

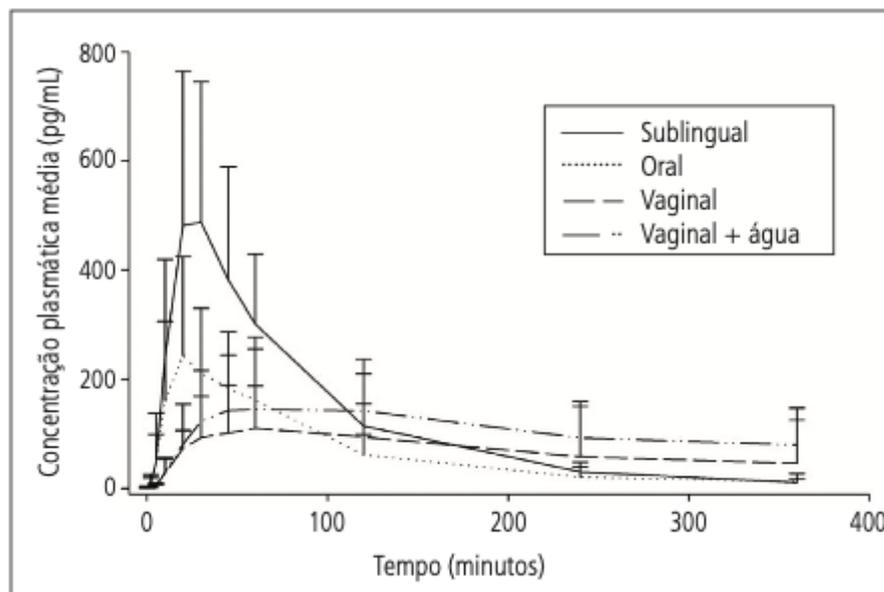
Para o comprimido de misoprostol, administrado por via oral, a distribuição do metabólito ativo em sua forma de ácido livre ocorre por ligação à proteína plasmática albumina sérica em aproximadamente 85 %, independente da concentração, e é excretado aproximadamente 80 % pela urina e 15 % pelas fezes (EMA, 2014). Contudo, sua absorção difere de acordo com a via de administração (ALLEN; O'BRIEN, 2009).

### 1.3.3.1 Via oral

O misoprostol é rapidamente absorvido após administração oral e é metabolizado em ácido misoprostol, alcançando o tempo para atingir a concentração máxima (Tmax) em cerca de 30 minutos. Apresenta rápido aumento do nível plasmático e um declínio igualmente rápido, permanecendo em níveis baixos em até aproximadamente 120 minutos, conforme apresentado na figura 7 (EMA, 2014; SOUZA *et al.*, 2009; TANG *et al.*, 2002; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Após a administração, há desenvolvimento do tônus, mas para obtenção de contrações uterinas é necessário que sejam administradas repetidas doses devido ao seu baixo tempo de duração de ação, de aproximadamente duas horas (SOUZA *et al.*, 2009 TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007). A administração com alimentos diminui a concentração plasmática máxima do ácido misoprostol e uso de antiácido concomitante reduz a disponibilidade total do ácido misoprostol (EMA, 2014).

Figura 7 – Concentração plasmática média x tempo do ácido de misoprostol de acordo com a via de administração sublingual, oral e vaginal



Fonte: (SOUZA *et al.*, 2009).

### 1.3.3.2 *Via sublingual*

O misoprostol comprimido pode ser administrado por via sublingual, devido à alta solubilidade do comprimido, que é dissolvido em até 20 minutos abaixo da língua. O misoprostol alcança o seu pico de concentração mais rapidamente do que por via oral e as demais vias (figura 7), provavelmente devido à rápida absorção da mucosa sublingual e por evitar o efeito de primeira passagem no metabolismo hepático.

Contudo, o pico de concentração plasmática é curto, devido ao rápido decaimento da concentração plasmática, mas apresenta a maior biodisponibilidade medida pela área sob a curva (AUC) em relação ao tempo, gerando contrações mais duradouras e contínuas, bem como a maior incidência de efeitos colaterais (SOUZA *et al.*, 2009; TANG, 2002; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

### 1.3.3.3 *Via vaginal*

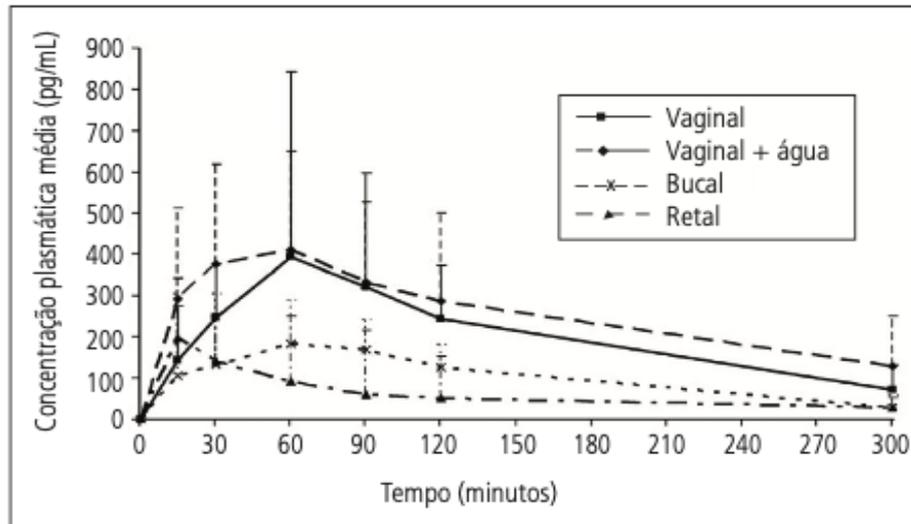
Na administração do comprimido de misoprostol por via vaginal, o pico máximo plasmático é observado de 40 a 60 minutos, com aumento gradual na concentração plasmática, seguido de lento declínio. Apresenta uma absorção mais retardada, quando comparado à via oral por estar protegida do efeito de primeira passagem, apresentando níveis plasmáticos elevados por mais tempo, até 4 horas após a administração e com níveis detectáveis até 6 horas (figuras 7 e 8).

A administração por essa via resulta em uma estimulação prolongada do miométrio, com indução e manutenção das contrações uterinas levando a necessidade de menos doses de repetição em relação as vias oral e sublingual. Na prática clínica são observados restos do comprimido não dissolvido na cavidade do lúmen vaginal até horas depois de sua administração e pode levar a absorção prolongada observada. Porém, não se sabe o quanto fatores individuais como pH e volume de corrimento de cada mulher pode interferir na sua absorção (KHAN *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2009; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007; ZIEMAN *et al.*, 1997).

Em um estudo realizado por Tang e colaboradores (2009), foi observado que mulheres após a administração de misoprostol por via vaginal desenvolveram

sangramento vaginal, afetando a absorção e sendo o provável responsável pelo declínio dos níveis plasmáticos do misoprostol.

Figura 8 – Concentração plasmática média x tempo do ácido de misoprostol de acordo com a via de administração vaginal, bucal e retal.



Fonte: (SOUZA *et al.*, 2009).

#### 1.3.3.4 Via vaginal + água

O estudo realizou ainda uma adaptação da via vaginal com adição de água, que é relatado como uma prática clínica a fim de aumentar absorção, contudo, não apresenta melhora significativa em relação à via vaginal, conforme observado nas figuras 7 e 8 (SOUZA *et al.*, 2009; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

#### 1.3.3.5 Via retal

É a forma menos utilizada e que vem sendo estudada por ser indicada para administração do misoprostol comprimido ou comprimido vaginal no tratamento da HPP, devido à dificuldade encontrada de manter o comprimido vaginal no local de ação durante um quadro de sangramento vaginal e rápido início de ação.

O pico máximo plasmático é observado relativamente rápido em menos de 30 minutos, porém, a curva de absorção é quase 1/3 menor do que a observada na via vaginal (figura 8). É importante ressaltar que foi administrada neste estudo, uma

formulação desenvolvida para a via oral por via retal, e as diferenças fisiológicas, anatômicas e químicas entre essas duas regiões podem influenciar no processo de liberação do ativo, como, por exemplo, a ocorrência de recirculação êntero-hepática devido a drenagem pela veia porta hepática no reto (SOUZA *et al.*, 2009; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

A meia-vida do misoprostol por via retal é mais longa e desta forma, pode prolongar o período de contração uterina, evitando doses de repetição e uma hemorragia retardada, que pode ser mais importante do que a concentração do pico de concentração plasmática para a finalidade pretendida de prevenção (KHAN; EL-REFAEY, 2003).

#### 1.3.3.6 *Via bucal*

Trata-se de uma via de administração adaptada, no qual se coloca o comprimido entre a bochecha e dentes por alguns minutos para absorção via mucosa bucal, mas o seu pico de concentração é inferior que as demais vias, conforme demonstrado na figura 8 (SOUZA *et al.*, 2009; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

#### 1.3.4 Toxicidade

O misoprostol é considerado um medicamento seguro e bem tolerado. Os estudos toxicológicos pré-clínicos indicaram margem de segurança de 500 - 1000 vezes entre as doses letais em animais e as doses terapêuticas em humanos, sendo sua dose tóxica desconhecida. Não foi encontrado nenhum efeito adverso cardiovascular, bioquímico, endócrino, hematológico, imunológico, oftalmológico, plaquetário ou respiratório, clinicamente significativo (TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Por muito tempo, houve associação da exposição ao misoprostol no início da gestação com defeitos congênitos. Porém, o misoprostol não demonstrou ser embriotóxico, fetotóxico ou teratogênico em estudos de mutagenicidade. Essas malformações seguem em avaliação, e acredita-se que a causa pode ser devida às contrações induzidas por misoprostol que causam distúrbios no suprimento de sangue

ao embrião em desenvolvimento. O misoprostol é contraindicado para indução de partos em pacientes com cesariana anterior, sob risco de ocorrência de ruptura uterina (ALLEN; O'BRIEN, 2009; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

#### 1.3.5 Efeitos adversos

Para todas as vias de administração, os efeitos adversos observados são dose-dependente. E os relatos mais comuns de náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia, e ocorrem com mais frequência pelas vias oral e sublingual, quando administrado em doses altas e menores intervalos entre as doses (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Também há relatos de febre e calafrios após altas doses para a prevenção ou tratamento da HPP (KHAN; EL-REFAEY, 2003; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

O efeito adverso de febre possivelmente está associado à concentração plasmática do misoprostol, e desta forma, nas administrações pelas vias oral ou sublingual apresentam as maiores incidências de febre chegando a calafrios, enquanto a via retal apresenta menor incidência, provavelmente devido ao seu menor pico de concentração plasmática (BARBOSA, A. R. C.; AYRES-DE-CAMPOS, D., 2013).

#### 1.3.6 Formas farmacêuticas disponíveis no mundo

Conforme demonstrado no quadro 1, em todo o mundo o misoprostol é majoritariamente comercializado na forma de comprimido para administração por via oral. E grande parte de sua utilização para fins de ginecologia e obstetrícia ainda é realizada de forma *off label*, ou seja, diferente do registrado em bula. Além de também ser utilizado por outras vias, como sublingual, vaginal e retal (FERNANDEZ *et al.*, 2009; WHO, 2010).

Quadro 1 – Formas farmacêuticas disponíveis no mundo.

NOME COMERCIAL	PAÍS	FORMA FARMACÊUTICA	DOSE	REGISTRO/INDICAÇÃO
Cytotec®	EUA	Comprimido	100 e 200 µg	Antiácido e antiulceroso
Misoprostol	China	Comprimido	100 e 200 µg	Antiácido e antiulceroso
Misoprostol	Índia	Comprimido	25, 50, 75 e 200 µg	Antiácido e antiulceroso
Gymiso®	França	Comprimido	200 µg	Aborto médico
MisoOne®	França	Comprimido	400 µg	Aborto médico
MispregnoI®	República Tcheca	Comprimido	400 µg	Aborto médico
Topogyne®	Suécia	Comprimido	400 µg	Aborto médico
Prostokos®	Brasil	Comprimido vaginal	25, 100 e 200 µg	Aborto médico
Angusta®	Reino Unido	Comprimido vaginal	25 µg	Indução do parto
Misofar®	Espanha	Comprimido vaginal	25 µg	Indução do parto
Misodel™	Suíça	Comprimido por sistema de entrega vaginal	200 µg	Indução do parto
Arthrotec® (misoprostol + diclofenaco de sódio)	EUA	Comprimido de liberação modificada	(50 mg + 200 µg)	Artrite
Mifegymiso® (misoprostol + mifepristona)	Canadá	Comprimido	(200 mg + 200 µg)	Aborto médico

Fonte: (EMA, 2021a; 2021b; FERNANDEZ *et al.*, 2009; PHARMACOMPASS, 2021).

O Cytotec® comprimido é o medicamento mais popular e vendido no mundo, sendo desenvolvido e comercializado pela empresa Pfizer dos Estados Unidos da América para tratamento de úlceras (FDA, 2021; FERNANDEZ *et al.*, 2009; PHARMACOMPASS, 2021).

Na Índia e China o misoprostol é comercializado como medicamento genérico/ similar do Cytotec® comprimido para úlcera gástrica. E nos países europeus existem diversos registros de comprimidos a base de misoprostol comercializados para

emprego em aborto médico (EMA, 2021a; FERNANDEZ *et al.*, 2009; PHARMACOMPASS, 2021).

São raras as exceções de comercialização de outras formas farmacêuticas de misoprostol, como no Brasil, com o Prostokos<sup>®</sup> comprimido vaginal nas doses de 25, 100 e 200 µg indicado para indução do parto (INFAN, 2020; FERNANDEZ *et al.*, 2009). E na Europa, em diferentes países, existem comprimidos vaginais de diversas marcas e doses registrados para uso em fins obstétricos e ginecológicos (EMA, 2021a, 2021b; FERNANDEZ *et al.*, 2009; PHARMACOMPASS, 2021).

No entanto, não há informações de comercialização de misoprostol sob a forma farmacêutica de supositório, sendo encontrado apenas artigos descrevendo sua produção para finalidade de pesquisa científica produzidos a partir de adaptação de comprimidos como IFA (CONSTANTIN *et al.*, 2013; HAFIRASSOU *et al.*, 2005).

O misoprostol também pode ser encontrado em associações com outros fármacos, como o Arthrotec<sup>®</sup>, da Pfizer, indicado para artrite e vendido em todo mundo como comprimidos com liberação modificada de misoprostol com diclofenaco de sódio (50 ou 75 mg + 200 µg). E no Canadá, há o Mifegymiso<sup>®</sup> comprimido de misoprostol com mifepristona (200 mg + 200 µg) empregado para aborto médico (FDA, 2021; FERNANDEZ *et al.*, 2009; PHARMACOMPASS, 2021).

Segundo Penildon (2010), o misoprostol é a opção de segunda linha para tratamento de úlceras pépticas, mas, é considerado útil para restaurar a barreira protetora da mucosa gástrica em uso crônico de AINEs. O Cytotec<sup>®</sup> segue sendo aprovado pela agência reguladora de medicamentos dos Estados Unidos da América, a *Food and Drug Administration* (FDA), somente como antiácido e antiulceroso. E embora seja amplamente utilizado em ginecologia e obstetrícia em todo o mundo, não possui aprovação da FDA para essa indicação (KRUGH; MAANI, 2020; PHARMACOMPASS, 2021).

No Brasil cujo emprego em obstetrícia já é estabelecido, muitos são os relatos de falta do medicamento em serviços de atenção obstétrica e neonatal, e por isso tem-se levantado questionamentos se a compra e distribuição tem sido inferior à necessidade real, se é devido à burocracia para sua aquisição direto com o fornecedor ou ainda se isso é decorrente de vestígios do estigma sobre aborto (ABRASCO, 2019; CORRÊA; MASTRELLA, 2012; EL PAÍS, 2020).

Baseado na sua importância, haja vista que mortalidade materna por HPP é um grande problema de saúde pública nacional e mundial, torna-se fundamental a construção de uma estratégia que viabilize e incentive a ampliação da produção por outros laboratórios e de outras formas farmacêuticas que favoreçam o suprimento da demanda no mercado nacional de acordo com o propósito da Política Nacional de Medicamentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998b).

Considerando-se que as formas farmacêuticas comerciais disponíveis são os comprimidos orais ou vaginais que são utilizados pela via retal de forma adaptada. O desenvolvimento de um medicamento na forma farmacêutica de supositório a base de misoprostol, justifica-se por ser mais apropriado à via de administração retal, devido ao seu rápido início de ação (MORRIS *et al.*, 2017; OPAS, 2018b).

#### 1.4 Supositório

A sexta edição da Farmacopeia Brasileira (FB) define supositório como:

A forma farmacêutica sólida de vários tamanhos e formatos adaptados para introdução no orifício retal, vaginal ou uretral do corpo humano, contendo um ou mais princípios ativos dissolvidos numa base adequada. Eles, usualmente, se fundem, derretem ou dissolvem na temperatura do corpo.

A Farmacopeia Americana, *United States Pharmacopeia* (USP), acrescenta que os supositórios são cônicos em uma ou em ambas as extremidades (figura 9), que geralmente pesam cerca de 2 g cada no tamanho adulto e que existem dois tipos de supositórios: hidrofílico, solúvel em água, e lipofílico, solúvel em óleo (USP,2021).

Figura 9 – Exemplar de supositório tamanho adulto



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2020).

Em comparação com os medicamentos administrados por via oral, os supositórios podem ser formulados para doses altas ou baixas e são indicados para fármacos com sabor desagradável, fármacos que são destruídos/ inativados pelo pH e enzimas do estômago e fármacos com baixa biodisponibilidade, já que a via retal apresenta menos efeito de primeira passagem no fígado (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Apresenta vantagem de ser uma via indolor e segura, ter relativamente rápido início de ação, de não necessitar de pessoa treinada para administrar em caso de emergência e por ser uma boa alternativa em pacientes relutantes, inconscientes ou com náusea que o impossibilitem a deglutição (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AMIN *et al.*, 2021; AULTON; TAYLOR, 2016).

Possui como desvantagens a possibilidade de ocorrência de vazamentos e/ou partes não dissolvidas que precisarão ser removidas ocasionando incômodo, baixa adesão do paciente dependendo da cultura do país e ainda, absorção mais lenta em relação às vias oral e intravenosa, o que apesar de ser uma limitação, o torna vantajoso para fármacos que podem ser usados como droga de abuso (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

#### 1.4.1 Ação

A via retal distribui o fármaco para o corpo via muco do reto. Os produtos administrados por via retal podem produzir efeito local ou sistêmico (USP, 2021).

O muco ou fluido retal é estimado em 3 mL, possui pH de aproximadamente 7,5 e área de superfície por volta de 300 cm<sup>2</sup>. A absorção do fármaco pela via retal ocorre por difusão passiva, e devido ao baixo volume do fluido retal e pouca área de absorção, sua biodisponibilidade é imprevisível, apresentando normalmente taxa de absorção menor do que por via oral (AULTON; TAYLOR, 2016; JANNIN *et al.*, 2014).

O supositório deve, preferencialmente, ser administrado na porção inferior do reto, para evitar o efeito de primeira passagem hepática, visto que na porção superior do reto, a absorção ocorre pela veia hemorroidal superior, cujo fluxo sanguíneo segue para o fígado. Nas porções média e inferior do reto, as veias hemorroidais

intermediária e inferior, drenam diretamente para a circulação sistêmica (AULTON; TAYLOR, 2016; FREIRE *et al.*, 2006).

#### 1.4.2 Composição e preparo

A escolha da base para preparação do supositório é de suma importância, por possuir influência na liberação do fármaco. A liberação do supositório envolve a fusão ou dissolução da base no reto e a difusão ou dissolução do fármaco na base fundida (USP, 2021).

Um dos requisitos essenciais da base é que ela permaneça sólida em temperatura ambiente, mas que se funda ou dissolva com facilidade na temperatura corporal. As bases são divididas em hidrofílicas/hidrossolúveis, lipofílicas/oleaginosas e diversas, quando possui combinação das duas características. As bases lipofílicas mais comumente usadas são a manteiga de cacau e compostos com grupamento glicerol ligado a ácidos graxos de cadeia longa. Enquanto as bases hidrofílicas mais comuns são o polietilenoglicol e a gelatina glicerinada (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

A liberação depende da composição do supositório, uma base lipofílica pode derreter rapidamente à temperatura corporal, mas, se o fármaco também for lipossolúvel, a sua difusão nos fluidos retais será menor, e se o fármaco for hidrossolúvel, ocorrerá o oposto, resultando numa liberação mais rápida (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FERREIRA, 2011).

A composição das bases interfere em propriedades importantes como faixa do ponto de fusão e o valor de hidroxila, que devem ser selecionados para o supositório de acordo com as características fármaco e ação pretendida.

O ponto de fusão ideal deve variar em torno da temperatura retal, de 36 a 37°C, para obter o tempo de liberação ideal do fármaco com efeito sistêmico. Bases com baixo ponto de fusão, menor que 35°C, são indicadas para fármacos com ação local no reto, pois a liberação do fármaco pode ser insuficiente (JANNIN *et al.*, 2014; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Enquanto as bases com alto ponto de fusão, superior a 37,5°C, são indicadas para IFA que reduz o seu ponto de fusão e para fármacos antipiréticos que serão

usados em pacientes com temperatura corporal elevada. Contudo, não é muito comum o seu emprego devido ao maior tempo para liberação do fármaco porque o supositório leva mais tempo para derreter totalmente em paciente com temperatura corporal normal (JANNIN *et al.*, 2014; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

O valor de hidroxila é definido pela proporção de gliceróis presentes nos glicerídeos que compõe a base. Base com valor de hidroxila mais alto apresenta maior elasticidade, diminuindo o risco de fratura durante o resfriamento, e maior viscosidade, aumentando a estabilidade do fármaco na base fundida. Enquanto a base com valor de hidroxila mais baixo possui menor quantidade de grupos hidroxila livre e por isso a interação com a base é menor, sendo interessante seu uso em fármacos que possuem ácido livre já que tem interfere diretamente na liberação do fármaco da base (JANNIN *et al.*, 2014; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Na composição de supositórios, deve ser evitado o uso de excipientes irritantes ou vesicantes. Pode ser adicionado tensoativo no supositório para modificar a temperatura de fusão e a interação com a água. No entanto, deve ser utilizado com cautela, pois podem aumentar a taxa de absorção do fármaco ou reduzir a atividade terapêutica por interagir com o IFA (USP, 2021).

Os supositórios podem ser preparados por fusão seguida de moldagem, compressão ou rolamento e moldagem manual. O método por moldagem é o mais utilizado, sendo o preparo baseado nas etapas de derretimento da base, incorporação do fármaco, colocação do material no molde, resfriamento da base e solidificação do supositório. O método por compressão é para produção industrial através de uma máquina que força a mistura da base e fármaco para dentro do molde (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FERREIRA, 2011).

No preparo do supositório, é necessário que seja incluída uma quantidade excedente da formulação total para permitir que a quantidade prescrita seja dispensada com precisão. É importante que os ingredientes sólidos estejam reduzidos ao menor tamanho de partícula possível, a fim de minimizar a abrasão das membranas retais (USP, 2021). Os supositórios devem ser embalados individualmente em papel alumínio, acondicionados em frasco hermeticamente fechado e armazenados abaixo de 30°C, preferencialmente em refrigerador (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FERREIRA, 2011).

## 1.5 Análise farmacêutica

Para desenvolvimento de qualquer medicamento é fundamental utilizar metodologias que garantam a qualidade da formulação. Nesse cenário, os testes de doseamento e dissolução são de extrema importância, pois o primeiro garante a dose correta que será administrada em um paciente e o segundo é um ensaio de performance que garante que o fármaco vai ser liberado da forma farmacêutica para poder ser absorvido e assim realizar a sua ação farmacológica.

### 1.5.1 Método de doseamento

O teste de doseamento é de fundamental importância no controle de qualidade de qualquer formulação farmacêutica, uma vez que ele é o responsável por atestar se a dose do ingrediente farmacêutico ativo (IFA) está correta. Com a globalização do mercado de medicamentos, as questões relacionadas a segurança dos medicamentos viraram questão de honra. Nesse contexto, os ensaios de doseamento e pureza se tornaram obrigatórios (GIL, 2010; GÖRÖG, 2005; 2008; MISIUK, 2010). E o desenvolvimento de métodos fundamental, com a devida validação (BRASIL, 2021b).

Atualmente há diversas técnicas analíticas na literatura que permitem a quantificação, ou seja, o doseamento de IFAs em diferentes formulações farmacêuticas. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), tradução do inglês *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), é a mais empregada no mundo, sendo a principal nas farmacopeias, principalmente por ser seletiva, rápida e informativa (MISIUK, 2010; NIKOLIN *et al.*, 2004). Atualmente a cromatografia líquida é responsável por mais de 50 % dos métodos descritos, sendo o restante dividido em 10% para cromatografia gasosa, 5 % para cromatografia em camada fina, 10 % para a espectrofotometria UV e o restante para métodos eletroanalíticos (MISIUK, 2010).

#### 1.5.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência

É definida como um método físico-químico de separação de compostos presentes em uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel (líquida) e a fase estacionária (sólida) contida em uma coluna cilíndrica, nomeada como coluna

cromatográfica. A separação ocorre devido à afinidade química e à interação entre os compostos da amostra com as fases estacionária e móvel (COLLINS, 2006; FB, 2019).

O sistema cromatográfico é basicamente composto por bombas, injetor, detector, reservatório para fase móvel e sistema de processamento de dados, conforme demonstrado na figura 10 (LANÇAS *et al.*, 2009).

Figura 10 – Esquema de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)



Fonte: (LANÇAS *et al.*, 2009).

A fase móvel é impulsionada por uma bomba de alta pressão em direção à coluna. Simultaneamente, o injetor introduz a amostra no sistema, a misturando com a fase móvel, sendo carregada até a coluna, onde ocorre a separação dos componentes da amostra por diferentes processos. Os componentes separados seguem para o detector, que acusa a presença da substância de interesse gerando um sinal (pico), e esse sinal gerado pelo detector será captado por um *software* específico instalado no computador, gerando um cromatograma que revela a variação do sinal do detector em função do tempo de análise (LANÇAS *et al.*, 2009).

A separação pode ser baseada em partição, adsorção, troca iônica, exclusão, ou ainda pelo tamanho e interações estereoquímicas da molécula. Diversos fatores químicos e físico-químicos influenciam na separação cromatográfica e podem variar conforme as características das substâncias a serem analisadas, da composição e fluxo da fase móvel e da composição e área superficial da fase estacionária e coluna cromatográfica. A maior parte das análises farmacêuticas é realizada pelo método de separação por partição, sendo a polaridade da fase móvel e a afinidade da substância

pela fase estacionária que determinam o tempo de retenção na coluna (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; FB, 2019).

O sistema por partição é composto por fase estacionária polar e fase móvel apolar é definido como cromatografia em fase normal, enquanto o oposto, fase móvel polar e fase estacionária apolar, como cromatografia em fase reversa (CAS; CASSIANO, 2015; FB, 2019).

A cromatografia em fase reversa, cuja fase estacionária é composta por organossilanos polimerizados com grupos alifáticos como C8 e C18, é o modo mais utilizado devido à sua ampla diversidade de aplicações envolvendo moléculas de diferentes tamanhos e hidrofobicidades (CAS; CASSIANO, 2015; FB, 2019)

A fase móvel é composta por um solvente ou mistura de solventes, responsável pela eluição da amostra, cuja composição é definida na monografia individual do produto, sendo imprescindível que o reagente e/ou solvente empregados tenham elevado grau de pureza. Pode ser isocrática quando a composição dos solventes é constante ou gradiente, quando a composição é modificada continuamente. A retenção das substâncias é afetada pelo pH, pela força iônica e por outras modificações na composição da fase móvel (FB, 2019; USP, 2021).

Diversos tipos de detectores podem ser acoplados ao sistema de cromatografia líquida. Os primeiros detectores disponíveis comercialmente foram os detectores de luz ultravioleta e visível (UV/VIS), cuja detecção é baseada na absorção de determinado comprimento de onda, sendo ainda muito utilizado. Há também os detectores de índice de refração, os detectores de fluorescência, os detectores eletroquímicos e os detectores baseados na espectrometria de massas (FANALI *et al.*, 2013).

Os parâmetros cromatográficos, como comprimento e o diâmetro interno da coluna, o tipo e o tamanho das partículas da fase estacionária, a temperatura de operação, a composição e a vazão da fase móvel, volume de injeção e o tipo de detecção são descritos nas monografias individuais e possuem limitações para variação para alguns deles (FB, 2019).

O HPLC é considerado uma técnica precisa utilizada para detectar, separar, identificar e determinar quantitativamente as substâncias ativas presentes no medicamento e IFA, bem como também é usado em estudos de dissolução para

avaliar a disponibilidade e liberação do fármaco na formulação testada. E por isso é uma das técnicas mais utilizadas no controle de qualidade de medicamentos medicamento e IFAs (GÖRÖG, 2005; MISIUK, 2010; NIKOLIN *et al.*, 2004).

### 1.5.2 Dissolução

A dissolução é o processo pelo qual o IFA no estado sólido é liberado de sua forma farmacêutica para a forma solúvel, tornando-se disponível para absorção sistêmica (ABDOU, 1995). O ensaio de dissolução consiste em um teste físico-químico para demonstrar *in vitro* o desempenho de produtos que necessitam de dissolução para serem absorvidos e exercerem seu efeito terapêutico (CHORILLI *et al.*, 2010).

A dissolução é uma ferramenta indispensável para o desenvolvimento de formulação e controle de qualidade por ser uma forma de prever o comportamento de liberação do fármaco *in vivo* das formas farmacêuticas e estabelecer correlação *in vitro/in vivo* (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002). No controle de qualidade os testes usualmente empregados como identificação, doseamento, pureza e substâncias relacionadas não são capazes de assegurar a eficácia clínica do medicamento (JAMZAD; FASSIHI, 2006).

O ensaio de dissolução deve ser realizado de acordo com o especificado na monografia individual do produto (FB, 2019). Mas, pode ser desenvolvida uma metodologia caso não exista método descrito na Farmacopeia Brasileira ou nos compêndios oficiais reconhecidos. Todavia, o método deverá demonstrar a sua adequabilidade para o produto em estudo e comprovar seu poder discriminativo, ou seja, capaz de detectar alterações que possam afetar o desempenho do medicamento *in vivo* (ANVISA, 2021; JAMZAD; FASSIHI, 2006).

O desenvolvimento adequado do método de dissolução possui diversos objetivos como prever a biodisponibilidade do produto, indicar semelhança entre o medicamento genérico/similar e o medicamento referência, isentar as demais dosagens de estudo de bioequivalência, detectar mudanças durante os estudos de estabilidade do medicamento, avaliar a consistência e reprodutibilidade dentro de um mesmo lote e entre lotes e avaliar os possíveis impactos *in vivo* decorrentes de

mudança pós-registro (ANVISA, 2021; BRASIL, 2010, 2011; SIEWERT *et al.*, 2003; STORPIRTIS; CONSIGLIERI, 1995).

O método desenvolvido precisa definir, para que seja reprodutível, as características do IFA, escolha do meio de dissolução, do aparato de dissolução e suas condições, como procedimento de amostragem, tempo, rotação e temperatura (ANVISA, 2021). É fundamental que as condições do meio de dissolução sejam as mais próximas das condições fisiológica, para que os resultados obtidos *in vitro* sejam próximos ao desempenho *in vivo* (ANVISA, 2021).

A escolha do meio de dissolução deve então se basear na solubilidade do fármaco em relação à dose, e se possível, que alcance a condição *sink*, definida pelo Guia de dissolução da Anvisa como “no mínimo três vezes o volume de meio necessário para se obter uma solução saturada do IFA, considerando a maior dose comercializada” (ANVISA, 2021).

A FDA recomenda para aumentar a solubilidade de fármacos com baixa solubilidade em água a adição de tensoativos, para obter a condição *sink*, como polissorbatos e lauril sulfato de sódio até o limite de 5% (p/v) em soluções tamponadas, para que não ocorra diminuição do poder discriminativo do método (ANVISA, 2021; BROWN *et al.*, 2004; FDA, 1997b).

A escolha do volume do meio de dissolução vai depender da solubilidade do IFA e capacidade de manter a condição *sink*, que pode não ser atendida, desde que o método comprove sua capacidade discriminativa (ANVISA, 2021; USP, 2021). Os volumes mais usuais são 500, 900 e 1000 mL, mas IFAs de alta potência e baixa dosagem podem utilizar volumes menores e inclusive utilizar aparatos não descritos nos compêndios oficiais, com a devida comprovação (ANVISA, 2021; BROWN *et al.*, 2004).

#### 1.5.2.1 Aparato de dissolução

A escolha do aparato deve ser feita de acordo com as características do fármaco e sua forma farmacêutica. Os critérios de aceitação variam conforme o tipo de liberação da forma farmacêutica (ANVISA, 2021). A edição atual da Farmacopeia Brasileira (2019) descreve três métodos/ aparatos:

- Aparato 1 (cesta): é empregado para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata, prolongada e retardada. Especialmente útil para cápsulas e comprimidos de baixa densidade que tendem a flutuar quando em contato com o meio, mantendo-os imersos no fundo da cuba. A velocidade de agitação pode variar de 50 a 100 rotações por minuto (rpm) (ANVISA, 2021; FB, 2019; FDA, 1997a; MARCOLONGO, 2003; SIEWERT *et al.*, 2003; USP, 2021).
- Aparato 2 (pá): utilizado principalmente para formas farmacêuticas sólidas orais, como cápsulas e comprimidos. Pode ser necessário recorrer ao emprego de âncoras para evitar a flutuação de formas farmacêuticas com baixa densidade e a adesão de cápsulas na parede cuba possibilitando um melhor contato com o meio de dissolução. A velocidade de agitação de 25 a 100 rpm (ANVISA, 2021; FB, 2019; FDA, 1997a; MARCOLONGO, 2003; SIEWERT *et al.*, 2003; USP, 2021).
- Aparato 3 (cilindros alternantes): utilizada para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata, prolongada e especialmente útil para forma modificada, onde são empregadas na dissolução diversas faixas de pH (FB, 2019; USP, 2021).

A USP descreve sete métodos/ aparatos, além dos três supracitados, sendo:

- Aparato 4 (célula de fluxo): sistema que pode ser utilizado para praticamente todas as formas farmacêuticas, como orais, supositórios e óvulos vaginais. É também indicado quando é necessária alteração do pH do meio e para IFAs pouco solúveis em água ou com rápida degradação. Não sendo indicado apenas para gomas de mascar e adesivos transdérmicos (USP, 2021).
- Aparato 5 (pá sobre disco): utilizado para ensaios de dissolução de adesivos transdérmicos, pomadas, emulsões e alguns comprimidos e cápsulas que flutuem. É uma adaptação do aparato 2 (USP, 2021).
- Aparato 6 (cilindro rotatório): utilizado para ensaios de dissolução de adesivos transdérmicos. É uma modificação do aparato 1 (USP, 2021).
- Aparato 7 (disco alternante): utilizado para dissolução de adesivos transdérmicos e para estudos de pH (USP, 2021).

### 1.5.2.2 *Controle de qualidade de supositórios*

Os testes de controle de qualidade são realizados para avaliar o desempenho do medicamento e fornecer garantias de qualidade lote a lote, reprodutibilidade e confiabilidade (USP, 2021).

A USP inclui no controle de qualidade da forma farmacêutica de supositório os testes físico-químicos: aspecto, desintegração, dissolução, doseamento, faixa ou ponto de fusão, força mecânica, identificação, uniformidade de conteúdo, uniformidade de peso, teor de água, tempo de liquefação e tempo de fusão/solidificação (USP, 2021).

Na Farmacopeia Brasileira, em métodos gerais, há somente descrição dos ensaios de peso médio, desintegração, uniformidade de doses unitárias e ensaios microbiológicos (FB, 2019).

Atualmente na FB, existem 3 monografias oficiais para fármacos sob a forma farmacêutica de supositório. Na USP há 12 monografias e na Farmacopeia Japonesa (JP), há 3 monografias. Enquanto nas Farmacopeias Europeia (Ph. Eur.) e Internacional (Ph. Int.) não existem monografias específicas para esse tipo de formulação (FB, 2019; JP, 2016; Ph. Eur., 2019; Ph. Int., 2020; USP, 2021).

Nas monografias de supositórios das Farmacopeias supracitas há descrição de diferentes metodologias para ensaio de doseamento. Mas, para o ensaio de dissolução, há somente uma única monografia na USP descrevendo metodologia com os parâmetros de dissolução (FB, 2019; JP, 2016; Ph. Eur., 2019; Ph. Int., 2020; USP, 2021).

A Farmacopeia Brasileira não descreve no método geral de dissolução os aparatos que podem ser usados para essa forma farmacêutica (FB, 2019). Ao passo que a USP (2021) indica que o teste de dissolução de supositórios hidrofílicos seja realizado em dissolutor com os aparatos pá ou cesta. E que os supositórios lipofílicos, devem ser preferencialmente submetidos ao aparato célula de fluxo, para evitar a interferência analítica dos glóbulos de óleo (USP, 2021).

As Farmacopeias Europeia e Japonesa indicam consulta a USP, porque o método geral de dissolução é harmonizado entre essas farmacopeias (JP, 2016; Ph. Eur., 2019).

Shohin e colaboradores (2016), relatam em seu trabalho a dificuldade de encontrar métodos na base de dados do FDA para dissolução de supositórios e outras formas farmacêuticas que não sejam cápsulas e comprimidos. A USP mesmo indicando alguns parâmetros de dissolução para o ensaio com supositórios, ressalta que a seleção do método dependerá da natureza da formulação e reconhece que há na literatura diversos métodos alternativos, com maior ocorrência de adaptações dos aparatos 1 e 2 devido a baixa disponibilidade do aparato de célula de fluxo (MEDINA *et al.*, 2014, USP, 2021). Como por exemplo, a pá adaptada com tela e fio ou a cesta desenvolvida por Palmieri com dimensões e malha apropriada para esta forma farmacêutica (DUNN *et al.*, 1996; PALMIERI, 1981; SIEWERT *et al.*, 2003).

A dificuldade de encontrar um método padrão para testar a liberação dos supositórios se deve à sua composição, que vai determinar o processo de derretimento e liberação do fármaco da base do supositório no meio de dissolução. Em bases hidrofílicas, os supositórios se dissolvem nos fluidos retais, ao invés de derreter, e liberam o fármaco no próprio fluido. Enquanto nas bases lipofílicas, os supositórios se derretem primeiro na cavidade retal para então liberar o fármaco no reto, que dependendo das características do fármaco pode se dissolver completamente ou ficar dividido entre a base e o fluido retal (AZARMI; ROA; LÖBENBERG, 2006; SIEWERT *et al.*, 2003).

O ensaio de dissolução é uma exigência regulatória relativamente recente o que justifica a escassez de dados referentes a esse ensaio (ALLEN, 2007). Na falta de metodologia definida em compêndios oficiais torna-se necessário que o fabricante do supositório desenvolva a metodologia de dissolução para auxiliar na seleção dos protótipos e no seu controle de qualidade (NICOARA *et al.*, 2015). Além disso, o ensaio de dissolução é uma importante ferramenta para avaliação *in vitro* da liberação da substância ativa e também para auxiliar no desenvolvimento da formulação, avaliar sua estabilidade e observar a dureza e transição polimórfica de seus componentes (JANICKI *et al.* 2001; Ph. Eur., 2019).

No desenvolvimento do método de dissolução para supositórios é necessário que o teste seja conduzido em condições semelhantes às condições fisiológicas de administração da forma farmacêutica, de aproximadamente 37 °C, e por isso é importante que a faixa do ponto de fusão da base que compõe o supositório seja

próxima a essa temperatura,mas pode ser ligeiramente acima em casos de supositórios de fármacos antitérmicos, por exemplo (SIEWERT *et al.*, 2003).

O teste deve ser preferencialmente realizado em condições *sink*, para simular a absorção pela membrana retal, porém, volumes que não atendam à condição *sink* podem ser utilizados desde que seja comprovado a capacidade discriminativa do método. Deve ser levado em consideração que a membrana retal reduz continuamente a concentração do fármaco nos líquidos e desta forma, o uso de menor volume de dissolução aumenta a sensibilidade do método, sobretudo para fármacos com baixa dose (ANVISA, 2021; SHOHIN *et al.*, 2016; SIEWERT *et al.*, 2003).

Deve ser utilizado tampão no intervalo de pH 7 a 8, visto que não há fluido retal simulado comercial para simular a dissolução *in vivo* (JANNIN *et al.*, 2014; SIEWERT *et al.*, 2003). Para bases lipofílicas é indicado a adição de tensoativo no meio de dissolução para que a gordura da base fique dispersa em pequenas gotículas e não ocorra separação de fases que pode ocasionar acúmulo de gordura sob a pá ou na malha da cesta (ALLEN, 2007).

### 1.5.3 Validação

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2019) os métodos analíticos utilizados para avaliar a qualidade de medicamentos devem ser, preferencialmente, da Farmacopeia Brasileira, descritos na monografia individual do medicamento. Na ausência de monografia oficial, podem ser utilizadas monografias de outras farmacopeias autorizadas, conforme descrito na RDC nº 511/2021 (BRASIL, 2021a).

Na ausência de monografia nas farmacopeias autorizadas, o ensaio do medicamento deve ser realizado utilizando método analítico validado conforme a legislação vigente, de forma complementar aos ensaios descritos nos métodos gerais da Farmacopeia Brasileira (FB, 2019).

Os critérios para a validação de métodos analíticos no Brasil são definidos pela Resolução-RDC nº 166 de 24 de julho de 2017 da Anvisa, sendo aplicada a todos os métodos analíticos empregados em medicamentos, insumos farmacêuticos e produtos biológicos em todas as fases de produção. Os parâmetros e critérios de aceitação são definidos de acordo com as características da substância de interesse

e da natureza do método. A validação é definida no artigo 3 da Resolução como “Avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos” (BRASIL, 2017).

Deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, exatidão, limite de quantificação e detecção adequados à análise (BRASIL, 2017). A validação deve demonstrar que o método analítico possui resultados confiáveis e é adequado à finalidade que se destina, assegurando a confiabilidade dos resultados de que atende aos critérios de forma documentada (FB, 2019).

#### 1.5.4 Supositório de misoprostol

Considerando que a OMS afirma que mortalidade materna, por causas evitáveis como a hemorragia pós-parto, é uma violação dos direitos humanos das mulheres (OPAS, 2018a). E que o Brasil se encontra atualmente diante de um desafio de saúde pública, se comprometendo com a ONU em reduzir os altos índices de mortalidade materna até 2030 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a; ONU, 2018), se faz urgente, portanto, o investimento em ações com foco na saúde da mulher (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

A conjuntura aponta que há uma necessidade mundial de medicamentos uterotônicos para uso em prevenção e tratamento de HPP. O misoprostol é fortemente recomendado baseado em estudos que comprovam sua eficácia em todo o mundo a partir do seu uso pelas vias de administração sublingual, vaginal ou retal (FEBRASGO, 2010; FIGO, 2012; WHO, 2012, 2018).

O presente trabalho objetiva o desenvolvimento de uma formulação de misoprostol sob a forma farmacêutica de supositório a fim de atender à terapia e via de administração já estabelecido, sendo o supositório interessante por não ser antagonizado pelo fluxo hemorrágico, por ter rápido início de ação, desejável para a sua finalidade, e por possivelmente proporcionar menor desconforto nas pacientes ao administrar somente uma unidade do medicamento para alcançar a dose (FEBRASGO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; MORRIS *et al.*, 2017; OPAS, 2018b; TANG; GEMZELL-DANIELSSON; HO, 2007).

Como a garantia da qualidade, segurança e eficácia do medicamento é tão importante quanto desenvolvimento do protótipo, se faz necessário o desenvolvimento de metodologia simples e com baixo custo para dissolução, detecção e quantificação de misoprostol na forma farmacêutica de supositório. A fim de empregar futuramente no controle de qualidade e dar suporte ao desenvolvimento do protótipo. Métodos estes validados, conforme o preconizado pela Anvisa, para comprovar a confiabilidade dos resultados obtidos.

Pretende-se levantar a discussão sobre a importância do uso de misoprostol, dar suporte para sua inclusão no SUS e ampliar o acesso ao tratamento e prevenção da HPP, auxiliando o país a atingir a meta firmada com a ONU e a cumprir os preceitos da política nacional de medicamentos do Ministério da Saúde que preza pela qualidade, segurança e eficácia do medicamento e acesso de todos aos fármacos considerados essenciais (BRASIL, 1998b, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

O presente trabalho está inserido no projeto Sbox do CDTS em parceria com as unidades da Fiocruz, como o Serviço de equivalência e farmacocinética (SEFAR) da Vice-presidência de produção e inovação em saúde (VPPIS) e Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFE) de Farmanguinhos e a Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

O projeto objetiva o desenvolvimento de um protótipo de supositório de misoprostol e metodologias analíticas que deem suporte ao seu controle de qualidade.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver uma formulação farmacêutica adequada à via retal sob a forma de supositórios contendo misoprostol, em dose e composição de bases que serão testadas de acordo com as características físico-químicas do fármaco;
- Desenvolver metodologia analítica de doseamento para o supositório de misoprostol por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Desenvolver método de dissolução adequado à formulação proposta;
- Validar os métodos desenvolvidos conforme RDC nº 166/2017;
- Comparar a formulação desenvolvida com a forma farmacêutica de referência (comprimido vaginal) disponível no mercado, a fim de verificar a liberação retal do fármaco.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

##### 3.1.1 Equipamentos e Instrumentos

- Balança analítica Shimadzu - Modelo AUW-220-D;
- Balança analítica Sartorius - Modelo ME 235-S;
- Balança de precisão Shimadzu - Modelo UX6200 H;
- Banho de ultrassom Laborglas - Modelo LGI-LUC-240;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência VWR Hitach i- Modelo LaChrom Elite;
- Cabine de fluxo laminar Pachane - Modelo PA640;
- Cabine de pesagem com exaustão interna e filtro HEPA - Fabricado sob encomenda;
- Centrífuga Sanyo - Modelo Harrier 15/80;
- Dissolutor acoplado a amostrador Vankel – Modelo VK 7010;
- Incubadora orbital SOLAB - Modelo SL-222;
- Pipeta automática 10 - 100 µL Gilson - Modelo Pipetman;
- Pipeta automática 20 - 200 µL Gilson - Modelo Pipetman;
- Pipeta automática 100 - 1000 µL CE - Modelo Labtex;
- Pipeta automática 500 - 5000 µL Brand- Modelo Transferpette S;
- Pipeta automática 1 - 10 mL Eppendorf - Modelo Research Plus;
- Pipeta automática 2 - 2000 µL Rainin - Modelo L-2000 XLS+;
- pHmetro Mettler-Toledo - Modelo Seven Compact S220;
- Placa de aquecimento e agitação Corning - Modelo PC-420;
- Placa de aquecimento e agitação Fisatom - Modelo 752A;
- Placa de aquecimento e agitação Marconi – Modelo MA085;
- Refrigerador Consul - Modelo CRC12ABANA 10;
- Sistema de purificação de água Millipore - Modelo Integral 10;
- Termômetro de contato Inconterm - Modelo 30.1040;
- Vórtex LGI Scientific - Modelo LGI-VO-MXS.

### 3.1.2 Reagentes

- Acetonitrila HPLC (J T Baker);
- Acetonitrila HPLC (Merck);
- Acetonitrila HPLC (Tedia);
- Ácido fosfórico PA ACS (Biograde);
- Ácido fosfórico PA ACS (Vetec);
- Água purificada tipo 1 (Milli-Q Integral 10);
- Fosfato de potássio monobásico ACS (Scharlab);
- Fosfato de sódio monobásico monohidratado PA ACS (Anidrol);
- Fosfato de sódio monobásico monohidratado PA ACS (JTBaker);
- Hidróxido de sódio PA ACS (Biograde);
- Isopropanol HPLC (Scharlab);
- Isopropanol HPLC (Tedia);
- Lauril sulfato de sódio PA (JTBaker);
- Polissorbato 80 PA (Dinâmica);
- Tetrahidrofurano HPLC (Scharlab).

### 3.1.3 Produtos farmacêuticos e substância química de referência (SQR)

- Misoprostol substância química de referência (SQR) adquirida no mercado internacional, fabricado por USP, lote R091B0 e validade corrente;
- Misoprostol-HPMC 1 % dispersão, fabricado e fornecido pela Everlight Chemical Industrial Corporation, lote E0277507 e validade até 07/12/2020;
- Misoprostol-HPMC 1 % dispersão, fabricado e fornecido pela Everlight Chemical Industrial Corporation, lote E0278516 e validade até 29/05/2021;
- HPMC, fabricado e fornecido pela Everlight Chemical Industrial Corporation, lote N0668186 e validade até 19/01/2021;
- Base Suppocire<sup>®</sup> CM, fabricado e fornecido pela Gattefossé, lote 17E0503 e validade até 02/2021;
- Base Suppocire<sup>®</sup> NA15, fabricado e fornecido pela Gattefossé, lote 18E1503 e validade até 04/2021;

- Base Suppocire® AS2X, fabricado e fornecido pela Gattefossé, lote 17E2001 e validade até 05/2021.

### 3.2 Métodos

As atividades foram conduzidas no SEFAR e divididas nas seguintes etapas:

- Análise de identificação, doseamento e impurezas orgânicas na amostra de misoprostol-HPMC 1 % dispersão, conforme descrito na monografia da USP 43;
- Desenvolvimento de formulação de supositório contendo misoprostol;
- Desenvolvimento de metodologia analítica para dosagem do supositório de misoprostol por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Desenvolvimento de metodologia de dissolução para avaliação do desempenho da formulação proposta;
- Validação dos métodos desenvolvidos conforme legislação vigente;
- Realização das análises de doseamento e uniformidade de conteúdo com o método desenvolvido;
- Realização do ensaio de perfil de dissolução, com o método desenvolvido, com o supositório de misoprostol e com a forma farmacêutica de referência.

Conforme já mencionado o misoprostol é comercializado na sua forma pura e em uma dispersão em HPMC a 1 %. Em virtude da estabilidade do misoprostol, optou-se por utilizar a dispersão em HPMC, por ser um pó, que propicia maior precisão na dosagem e na manipulação das formas farmacêuticas, além de apresentar maior estabilidade. Desta forma, o projeto contou com a colaboração da empresa *Everlight Chemical Industrial Corporation* que cedeu a dispersão em HPMC de misoprostol a 1 % e o HPMC puro para o desenvolvimento das metodologias analíticas.

Como a proposta deste trabalho é desenvolver um medicamento na forma farmacêutica de supositório, o projeto contou com a parceria e conhecimento da empresa *Gattefossé*, que de acordo com as características físico-químicas do misoprostol indicou o emprego de três bases lipofílicas da linha *Suppocire*® com diferentes composições, que foram testados para selecionar a base mais adequada para a formulação. As características dos tipos de bases disponibilizadas estão descritas no quadro 2.

Quadro 2 – Tipos de bases da Gattefossé da linha Suppocire® disponibilizadas.

BASE	COMPOSIÇÃO	PONTO DE FUSÃO (°C)	VALOR DE HIDROXILA (mg KOH/g)
CM	Ésteres mono, di e triglicéridos de ácidos graxos	35,6 - 39,6	< 10
NA15	Ésteres mono, di e triglicéridos de ácidos graxos	33,5 - 35,5	5 - 15
AS2X	Ésteres mono, di e triglicéridos de ácidos graxos e polissorbato	35,0 - 36,5	15 - 25

Fonte: (GATTEFFOSÉ, 2019).

### 3.2.1 Análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %

Os dois lotes disponíveis de dispersão de misoprostol-HPMC 1 % foram analisados para verificar se estavam aptos para serem empregados nas formulações conforme sua monografia descrita na USP 43. Foram realizados os ensaios de identificação, doseamento e impurezas orgânicas. A metodologia é igual para os três ensaios, com alterações apenas no preparo das soluções de SQRs e no ensaio de impurezas orgânicas, conforme apresentado no item 3.2.1.4.

#### 3.2.1.1 Soluções para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %

Abaixo estão descritos o preparo das soluções utilizadas para a análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.

- a) Tampão fosfato pH 3,0: Pesou-se 1,36 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 mL, adicionou-se 700 mL de água purificada e agitou-se até dissolução. Em seguida, o pH da solução foi ajustado para  $3,0 \pm 0,1$  com ácido fosfórico, o volume foi completado para 1000 mL com água purificada e a solução foi homogeneizada;
- b) Fase móvel - isopropanol/ tampão pH 3,0 (27:73, v/v): Em capela de exaustão, foi transferido separadamente, para recipiente adequado com tampa, 270 mL de isopropanol previamente filtrado e 730 mL da solução tampão pH 3,0. A solução foi homogeneizada e desgaseificada;
- c) Solução diluente - álcool isopropílico/ água (27:73, v/v): Em capela de exaustão, foi transferido separadamente 270 mL de isopropanol previamente filtrado e 730 mL de água purificada para frasco, seguido de homogeneização.

### 3.2.1.2 *Parâmetros cromatográficos para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %*

Os parâmetros cromatográficos empregados para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % foram:

- a) Coluna: ACE - C8, 15 cm x 4,6 mm e 5  $\mu$ m;
- b) Comprimento de onda: 205 nm;
- c) Temperatura do forno:  $50 \pm 2^\circ\text{C}$ ;
- d) Temperatura do amostrador: 2 a 8  $^\circ\text{C}$ ;
- e) Fluxo: 1,5 mL/min;
- f) Volume de injeção: 70  $\mu$ L.

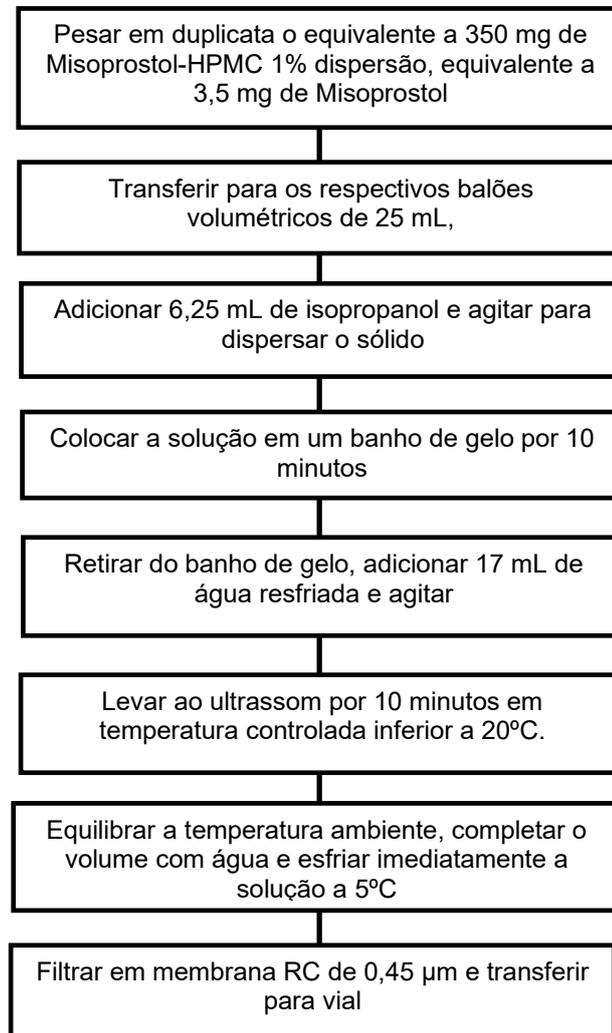
Todas as análises cromatográficas foram realizadas após equilibrar o sistema cromatográfico, por aproximadamente 30 minutos, e condicionar a coluna com a fase móvel. No início de cada sequência de injeção, foi injetado ao menos um *vial* de amostra de branco, contendo o solvente/ solução diluente da amostra para avaliar se há a presença de picos interferentes que comprometam a seletividade do método.

Foram realizadas cinco injeções da solução de misoprostol SQR1 e três vezes a solução SQR2, sendo calculado o desvio padrão relativo (DPR) para cada solução, que deve ser inferior a 2 %. Enquanto a relação entre as respostas (área/massa) das soluções SQR1 e 2 deve estar entre 98 e 102 %. As amostras foram injetadas em duplicata.

### 3.2.1.3 *Preparo das amostras para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %*

As soluções amostras de misoprostol-HPMC 1 % dispersão foram preparadas de acordo com o descrito na figura 11, com a concentração final de 0,14 mg/mL. Para essa análise foi importante também fazer a avaliação do HPMC empregado na dispersão, sendo preparado da mesma forma que a amostra (figura 11), substituindo a dispersão de misoprostol-HPMC 1 % pela dispersão de HPMC.

Figura 11 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de dispersão de misoprostol.



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

#### 3.2.1.4 Preparo da SQR para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %

As soluções SQRs foram preparadas em duplicata, onde a segunda é a solução de confirmação. O preparo da solução SQR foi dividido em duas etapas:

- a) Solução estoque: pesou-se 6,8 mg de misoprostol SQR para balão volumétrico de 10 mL, dissolveu e completou-se o volume com isopropanol (concentração final de 0,68 mg/mL);
- b) Solução SQR: foi transferido 1 mL da solução estoque para balão volumétrico de 5 mL e completou-se o volume com água. A amostra foi filtrada em filtro seringa RC de 0,45 µm (concentração final de 0,14 mg/mL);

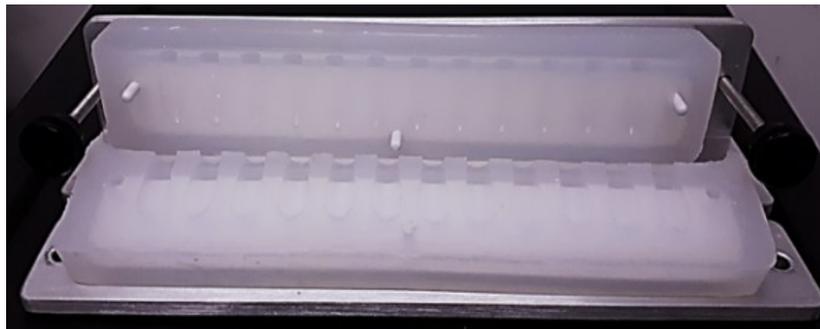
Para o ensaio de impurezas orgânicas foi necessário o preparo das soluções SQR diluída e de sensibilidade, conforme o descrito abaixo:

- a) SQR diluída: a partir da solução SQR (0,14 mg/mL), foi transferido 0,5 mL para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com solução diluente. Filtrando em filtro seringa RC de 0,45  $\mu\text{m}$  (concentração final de 7  $\mu\text{g/mL}$ );
- b) Solução de sensibilidade: transferiu-se 1 mL da solução diluída da SQR para balão volumétrico de 5 mL e completou o volume com solução diluente. Filtrando em filtro seringa RC de 0,45  $\mu\text{m}$  (concentração final de 1,4  $\mu\text{g/mL}$ ).

### 3.2.2 Desenvolvimento e produção de supositórios

Os protótipos de supositórios foram produzidos conforme a RDC nº 67/2007, que dispõe sobre as boas práticas de manipulação (BRASIL, 2007b) e baseada no protocolo elaborado pelo LabFE, sendo descrito as massas dos ativos a serem pesados, a técnica de manipulação de moldagem por enchimento e o uso do molde de silicone (figura 12) devido a maior facilidade de manuseio e limpeza, por não necessitar de lubrificação, por proporcionar menor ocorrência de quebras das unidades.

Figura 12 – Aspecto visual do molde de silicone de supositório adulto.



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

O supositório de tamanho adulto possui peso médio de 2 a 2,3 g (HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015; FERREIRA, 2011; USP, 2021).

Devido à disponibilidade do fármaco de misoprostol ser de 1 % disperso em HPMC, a massa pesada foi 100 vezes maior que o valor da dose e não foi necessário

realizar a determinação do fator de deslocamento, devido ao baixo quantitativo do fármaco no supositório, menor do que 100 mg (FERREIRA, 2011).

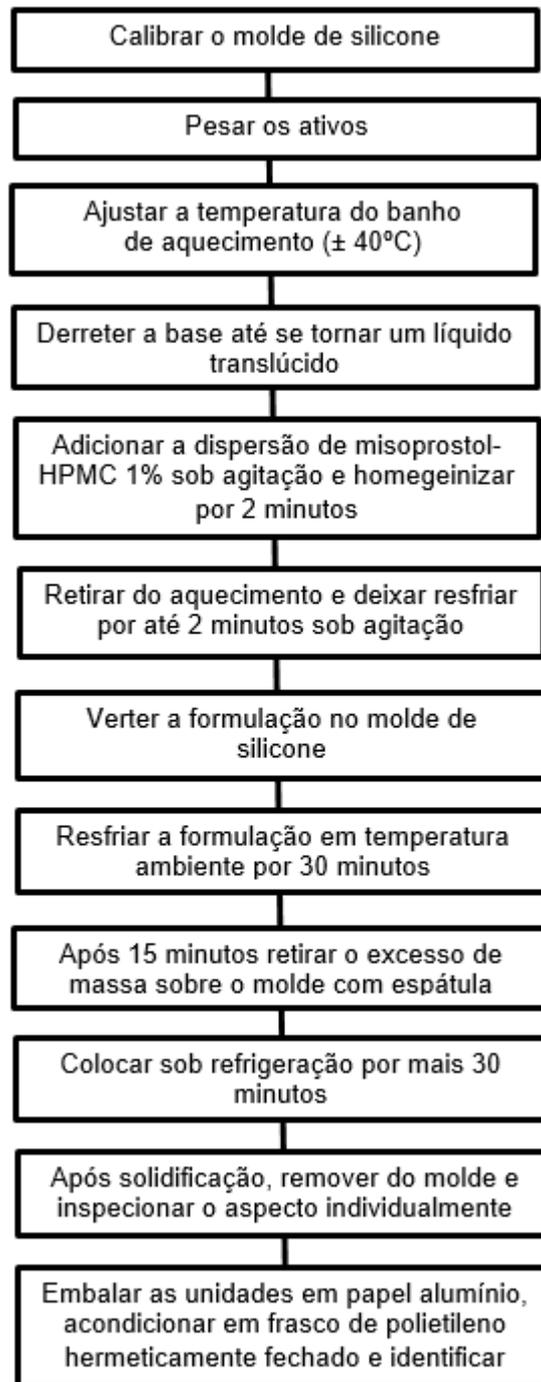
Durante o desenvolvimento, diversas temperaturas foram testadas para o derretimento das bases. Tendo início em banho de aquecimento a 37°C, a fim de mimetizar a temperatura retal, sendo aumentado de forma gradual até alcançar a temperatura que contemplasse a faixa de fusão dos três tipos de bases disponíveis, sendo selecionada a temperatura de  $\pm 40^\circ\text{C}$ , que está dentro do recomendado pela literatura e pelo fabricante das bases (GATTEFFOSÉ, 2019; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Os lotes de supositórios foram produzidos com os três tipos de bases disponíveis nas doses de 600  $\mu\text{g}$  e 800  $\mu\text{g}$  com a dispersão de misoprostol-HPMC 1% e com HPMC, sendo produzidas em duas etapas com diferentes técnicas de manipulação e cálculos da massa de ativos descritas abaixo.

Após a solidificação, as unidades foram retiradas do molde e cada uma teve seu aspecto inspecionado quanto à imperfeição na cor, no formato (presença de deformidade, estreito ou espesso em demasia) e aparência da superfície (se está uniforme, homogêneo, liso, brilhante, sem fissuras, sem gordura e sem depósito de ativo (ALLEN, 2007; USP 2021).

Na sequência, foram embaladas individualmente em papel alumínio e armazenadas em frasco de polietileno hermeticamente fechado em refrigerador (ALLEN JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FERREIRA, 2011). O método geral está descrito no fluxograma (figura 13).

Figura 13 – Fluxograma do método geral de produção de supositórios.



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

### 3.2.2.1 *Etapa 1 - Supositório de misoprostol 800 µg*

Inicialmente, foi selecionada a dose maior recomendada pela literatura, de 800 µg, para a produção dos supositórios de misoprostol (FEBRASGO, 2010; FIGO, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; MORRIS *et al.*, 2017; OPAS, 2018b).

O quantitativo das massas da base e do ativo a serem pesados para cada unidade, estão demonstrados no quadro 3, contendo o acréscimo de 10 % para perdas e subtraindo da massa da base a massa do ativo (FERREIRA, 2011).

Quadro 3 – Massa de ativos por unidade de supositório da etapa 1 de produção.

AMOSTRA	MASSA (mg)
Base	2.200
Dispersão de misoprostol-HPMC 1%	88

Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Para o cálculo, o valor da massa foi multiplicado pela quantidade de unidades de cada lote, levando em consideração a disponibilidade de moldes de silicone com 12 unidades cada.

### 3.2.2.2 *Etapa 2 - Supositório de misoprostol 600 µg*

Nesta segunda etapa, foi selecionada a dose menor recomendada, de 600 µg, para a produção dos supositórios de misoprostol. Pois além de ser uma dose preconizada na literatura, esta foi utilizada em estudo clínico realizado no SEFAR, ainda não publicado, onde administrou-se, por via retal, 3 comprimidos vaginais de 200 µg e foram obtidas concentrações plasmáticas adequadas para tratamento de hemorragia intrauterina (FEBRASGO, 2010; FIGO, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; MORRIS *et al.*, 2017; OPAS, 2018b).

O quantitativo das massas da base e do ativo pesados para cada unidade, estão demonstrados no quadro 4, contendo o acréscimo de 15 % para perdas conforme experiência prévia obtida com a formulação de 800 µg. Além disso, durante as análises de desenvolvimento do método de doseamento foi observado que as perdas do processo de manipulação acarretavam perdas no teor obtido.

Quadro 4 – Massa de ativos por unidade de supositório da etapa 2 de produção.

AMOSTRA	MASSA (mg)
Base	2.461
Dispersão de misoprostol-HPMC 1 %	69

Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

### 3.2.3 Análise de desenvolvimento do método de doseamento do supositório de misoprostol

Iniciou-se o desenvolvimento da metodologia através de busca bibliográfica a fim de se levantar informações sobre métodos de dosagem de misoprostol e de outros fármacos sob a forma de supositórios, tendo sido selecionados alguns métodos para testes e adaptações.

Todas as amostras de supositórios utilizadas no desenvolvimento do método de doseamento foram produzidas após o ajuste do processo de produção das unidades de supositórios.

#### 3.2.3.1 Doseamento - Método 1

O desenvolvimento inicial foi adaptado do método de misoprostol dispersão em HPMC da monografia da USP 43, descrita no item 3.2.1.

##### 3.2.3.1.1 Soluções

O preparo das soluções empregadas nessa análise fora conduzido da mesma maneira que na análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % descritos no item 3.2.1.1.

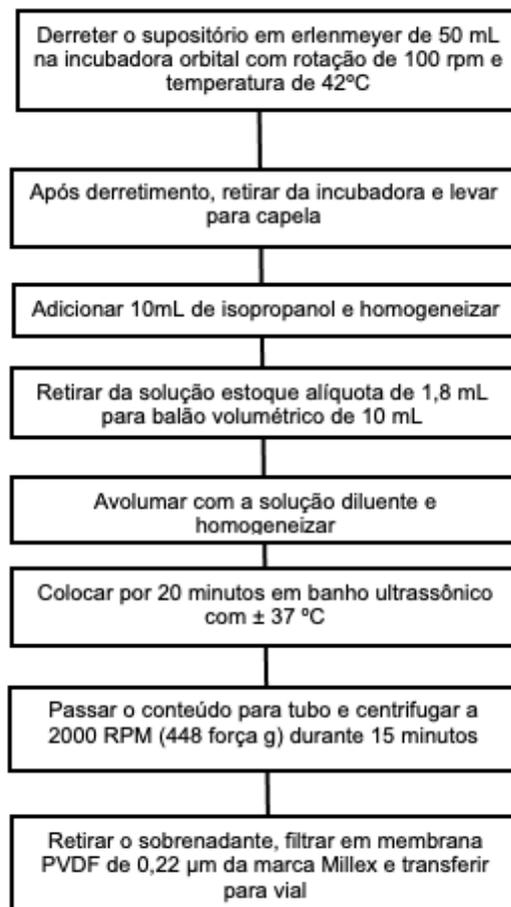
##### 3.2.3.1.2 Parâmetros cromatográficos

Os parâmetros cromatográficos foram os mesmos empregados para análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % descritos no item 3.2.1.

### 3.2.3.1.3 Preparo de amostras

As amostras de supositório de misoprostol 800 µg foram preparadas de acordo com o fluxograma (figura 14) tendo a concentração final de 0,014 mg/mL, devido à baixa dose do fármaco no supositório e ao fato de ser a maior concentração obtida experimentalmente, apenas 10 vezes maior do que a concentração limítrofe da solução de sensibilidade da análise da dispersão (0,0014 mg/mL).

Figura 14 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

### 3.2.3.1.4 Preparo da substância química de referência (SQR)

As soluções SQRs foram preparadas em duplicata, em duas etapas conforme descrição abaixo:

- a) Solução estoque: foi pesado 6,8 mg de misoprostol SQR para balão volumétrico de 10 mL, dissolveu e completou-se o volume com isopropanol (concentração final de 0,68 mg/mL);
- b) Solução SQR: foi transferido 0,5 mL da solução estoque para balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com solução diluente. A amostra foi filtrada em filtro seringa PVDF de 0,22 µm da marca Millex (concentração final de 0,014 mg/mL).

### 3.2.3.2 Doseamento - Método 2

O método foi desenvolvido a partir de adaptações dos métodos descritos na literatura por Hafirassou e colaboradores (2005) e Constantin e colaboradores (2013).

#### 3.2.3.2.1 Soluções

- a) Fase móvel: acetonitrila/água (60:40, v/v): Foi transferido separadamente, para recipiente adequado com tampa, 600 mL de acetonitrila previamente filtrado e 400 mL de água purificada. Em seguida, foi homogeneizado e desgaseificado.

#### 3.2.3.2.2 Parâmetros cromatográficos

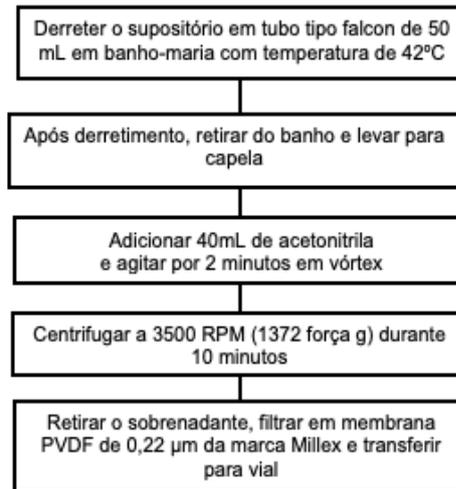
As boas práticas da análise cromatográfica empregadas foram as mesmas descritas no item 3.2.1. Devido à disponibilidade da mesma coluna cromatográfica utilizada por Constantin e colaboradores (2013), os parâmetros cromatográficos empregados foram os mesmos relatos em seu trabalho, sendo eles:

- a) Coluna: Agilent Zorbax Eclipse XDB C18, 150 x 4,6 mm e 5 µm;
- b) Fluxo: 1 mL/min;
- c) Comprimento de onda: 202 nm;
- d) Volume de injeção: 20 µL;
- e) Temperatura da coluna: 23 °C;
- f) Temperatura da amostra: 23 °C.

### 3.2.3.2.3 Preparo de amostras

As amostras de supositório de misoprostol 800 µg foram preparadas de acordo com o fluxograma (figura 15) tendo a concentração final de 20 µg/mL.

Figura 15 – Fluxograma com o demonstrativo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol do método 2



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

### 3.2.3.2.4 Preparo da substância química de referência (SQR)

As soluções SQRs foram preparadas em duplicata, sendo dividido em duas etapas, conforme descrito abaixo:

- a) Solução estoque: foi pesado 5 mg de Misoprostol SQR para balão volumétrico de 50 mL, dissolvido e completado o volume com acetonitrila (concentração final de 100 µg/mL);
- b) Solução SQR: foi transferido 2mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL e completado o volume com acetonitrila. E filtrado em filtro seringa de 0,22 µm PVDF da marca Millex (concentração final de 20 µg /mL).

### 3.2.3.3 *Doseamento - Método 3*

O método foi desenvolvido a partir de adaptações do processo de extração e digestão dos supositórios dos métodos de doseamento descritos na Farmacopeia Japonesa (JP, 2016) nas monografias de supositórios de Indometacina e Bisacodil.

Foram utilizadas as condições cromatográficas do método 2, baseado no trabalho de Constantin e colaboradores (2013).

#### 3.2.3.3.1 Soluções

As soluções foram preparadas conforme o descrito no método 2, item 3.2.3.2.

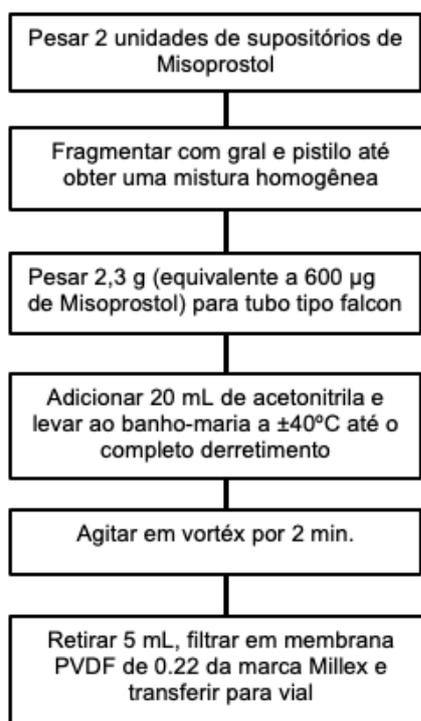
#### 3.2.3.3.2 Parâmetros cromatográficos

Os parâmetros cromatográficos foram os mesmos empregados no método 2, item 3.2.3.2.

#### 3.2.3.3.3 Preparo de amostras

As amostras de supositório de misoprostol de 800  $\mu\text{g}$ , e posteriormente de 600  $\mu\text{g}$ , foram preparadas de acordo com o fluxograma (figura 16), sendo adaptado o volume de extração a fim de obter a concentração final de 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Figura 16 – Fluxograma com o descritivo do preparo das amostras de doseamento do supositório de misoprostol



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

#### 3.2.3.3.4 Preparo da substância química de referência (SQR)

As soluções SQRs foram preparadas em duplicata, sendo o preparo da solução SQR dividido em duas etapas.

a) Solução estoque: para cada solução, foi pesado 5 mg de misoprostol SQR para balão volumétrico de 50 mL, sendo dissolvido e avolumado com acetonitrila (concentração final de 100 µg/mL);

b) Solução SQR: foram transferidos 3 mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL, completado o volume com acetonitrila, homogeneizada e filtrada para *vial* em filtro seringa de 0,22 µm PVDF da marca Millex (concentração final de 30 µg /mL).

#### 3.2.4 Análise de desenvolvimento do método de dissolução do supositório de misoprostol

O desenvolvimento da metodologia de dissolução do supositório de misoprostol foi inicialmente baseado na pouca literatura disponível para o tema.

A Farmacopeia Americana é o compêndio que apresenta o maior número de monografias para medicamentos nesta forma farmacêutica, mas o teste de dissolução só é abordado na monografia de supositório de indometacina supositório, cuja composição é uma base hidrofílica de polietilenoglicol (CONSTANTIN *et al.*, 2013; FDA, 2021; USP, 201).

Nesse cenário restrito, meios de dissolução e parâmetros de dissolução foram testados e adaptados para se chegar nas melhores condições de liberação do misoprostol. Não sendo necessário realizar o teste de solubilidade devido a alta solubilidade e alta permeabilidade do fármaco misoprostol (ANVISA, 2021; EMA, 2014; FLEISHER, *et al.*, 1999).

A etapa quantitativa do processo de dissolução seguiu as mesmas condições empregadas no método de doseamento desenvolvido. E foram utilizados os mesmos parâmetros cromatográficos e fase móvel descritos no método 2, item 3.2.3.2.

O processo de dissolução de qualquer forma farmacêutica deve levar em conta a região onde será administrado o medicamento. Desta forma, as amostras de supositório de misoprostol de 800 µg, e posteriormente de 600 µg produzidos, foram analisados nas condições abaixo mimetizando a liberação pela via retal.

### 3.2.4.1 Parâmetros de dissolução

Para o tipo de base empregada nos supositórios, base lipofílica, o mais indicado pela literatura e Farmacopeia Americana seria o aparato de célula de fluxo (DUNN *et al.*, 1996; SIEWERT *et al.*, 2003; USP, 2021). Contudo, o desenvolvimento do método se deu a partir dos aparatos disponíveis dentro da estrutura no SEFAR, que dispõe dos aparatos pá e cesta. Não sendo possível utilizar o aparato cesta, pois a altura não comportou a medida do supositório produzido, sendo necessário dispor da cesta Palmieri apropriada para esta forma farmacêutica (DUNN *et al.*, 1996; PALMIERI, 1981; SIEWERT *et al.*, 2003).

Contudo, há na literatura trabalhos que relatam que na ausência do aparato célula de fluxo, o aparato pá obteve melhor perfil de dissolução para supositórios em bases lipofílicas do que o aparato cesta, mesmo utilizando a cesta Palmieri, específica para supositório, cuja malha com maior largura ainda assim entupiu com a base (HORI *et al.*, 2017; NICOARA *et al.*, 2015)

A rotação indicada na literatura para o aparato pá varia de 25 a 100 rpm (ANVISA, 2021; FB, 2019; FDA, 1997a; MARCOLONGO, 2003; USP, 2021). E foi inicialmente utilizada a rotação de 50 rpm descrita no método de supositório de Indometacina da USP 43, bem como nos trabalhos de Hori e colaboradores (2017) e Nicoara e colaboradores (2015) que utilizaram o aparato pá em diferentes velocidades de rotação para supositórios em bases lipofílicas dos fármacos Acetaminofeno e Nimesulida, respectivamente.

Foi observada durante os testes de desenvolvimento do método a necessidade do emprego do *sinker* (âncora), devido à baixa densidade do supositório produzido, sendo alguns modelos de âncoras testados e confeccionados.

Foi utilizada cuba de 500 mL e diferentes volumes do meio de dissolução foram testados, sendo iniciado em 500 mL e reduzido para 400 mL e 300 mL ao longo do desenvolvimento devido à baixa dose do misoprostol no supositório e se mantendo de acordo com a condição *sink* devido a sua classificação biofarmacêutica (ANVISA, 2021; EMA, 2014; FLEISHER, *et al.*, 1999). E segundo o trabalho de Shohin e colaboradores (2016), a diminuição do volume de dissolução pode aumentar a sensibilidade do método em fármacos com baixa dosagem.

A temperatura de dissolução de 37,0 °C utilizada foi baseada na temperatura do local de administração e no descrito na monografia de supositório de Indometacina da USP 43 e em métodos encontrados para supositórios de outros fármacos (CONSTANTIN *et al.*, 2013; HORI *et al.*, 2017; NICOARA *et al.*, 2015; SHOHIN *et al.*, 2016).

Os tempos de coleta utilizados foram de 10, 20, 30, 45 e 60 minutos, pois apesar das metodologias farmacopeicas descritas indicarem um único ponto de coleta para quantificar o quanto de fármaco foi dissolvido, essa realidade se aplica as análises de rotina, como por exemplo, em controle de qualidade. Na etapa de desenvolvimento, é necessário fazer várias tomadas de alíquota em diferentes tempos para avaliar o comportamento de liberação do ativo em função do tempo e tentar estabelecer uma possível correlação *in vivo/ in vitro* do medicamento em desenvolvimento (FB, 2019; FDA, 1997a; FONSECA, 2007).

O volume de coleta utilizado foi de 5 mL devido ao baixo volume do meio de dissolução e a coleta foi realizada com filtro de coleta de 35 µm do tipo fluxo total composto por polietileno de ultra alto peso molecular da marca Agilent. Enquanto a filtração final para *vial* foi testada ao longo do desenvolvimento. Os parâmetros utilizados estão enumerados abaixo:

- a) Aparato: pá;
- b) Acessório: âncora;
- c) Rotação: 50; 75 rpm;
- d) Volume do meio: 500; 400; 300 mL;
- e) Temperatura: 37,0°C ± 0,5°C;
- f) Tempos: 10, 20, 30, 45 e 60 minutos;
- g) Volume de coleta: 5 mL;
- h) Filtro de coleta: 35 µm;
- i) Filtração para *vial*: filtro seringa PVDF de 0,22 µm da marca Millex.

#### 3.2.4.2 Soluções

O meio de dissolução para liberação por via retal deve ser tampão com pH no intervalo de 7 a 8, para simular fluido retal (AULTON; TAYLOR, 2016; JANNIN *et al.*,

2014). E foi inicialmente utilizado o tampão pH 7,2 por ter sido indicado na monografia de supositório de Indometacina da USP 43 e nos trabalhos de Constantin e colaboradores (2013) e Hori e colaboradores (2017).

A Farmacopeia Americana descreve que o tampão pH 7,2 deve ser preparado com fosfato de potássio (USP, 2021). Desta forma, foi empregado esse meio de dissolução no início do desenvolvimento da metodologia. Contudo, foi verificada ao decorrer dos testes a necessidade de adição de tensoativo para aumentar a solubilidade de fármacos após extração do fármaco (misoprostol) da parte oleosa da base para a fase aquosa do meio. Foram testados diferentes tipos e concentrações de tensoativos até o limite recomendando de 5 % (p/v) (ANVISA, 2021; BROWN *et al.*, 2004; FDA, 1997b).

Após estabelecer o uso do tensoativo lauril sulfato de sódio, foi necessário alterar o tampão fosfato de potássio para tampão fosfato de sódio, no mesmo pH, haja vista a reação que lauril sulfato de sódio faz com o potássio do sal gerando precipitado (FONSECA, 2007; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; USP, 2021).

As soluções empregadas nos testes de dissolução do supositório de misoprostol foram preparadas conforme as descrições abaixo:

- a) Fase móvel – acetonitrila/água (60:40, v/v): conforme descrito no item 3.2.3.2.1;
- b) Fosfato de potássio monobásico 0,2 M: foi dissolvido 27,22 g de fosfato de potássio monobásico em água purificada e completado o volume para 1 L;
- c) Hidróxido de sódio 0,2 M: foram pesados 4 g de hidróxido de sódio e dissolvido em 500 mL de água purificada;
- d) Meio de dissolução – tampão fosfato pH 7,2: foram transferidos 250 mL da solução de fosfato de potássio monobásico 0,2 M e 175 mL da solução de hidróxido de sódio 0,2 M para uma proveta graduada, sendo completado o volume de 1 L com água purificada, seguido de homogeneização e verificação do pH da solução;
- e) Meio de dissolução tampão fosfato pH 7,2 com tensoativo: Foi adicionado ao meio de dissolução de tampão fosfato com pH já ajustado para 7,2 a percentagem em peso por volume (p/v) dos tensoativos lauril sulfato de sódio nas concentrações de 0,1 %, 0,5 % e 1 %. E polissorbato 80 nas concentrações de 0,1 % e 0,5 %;

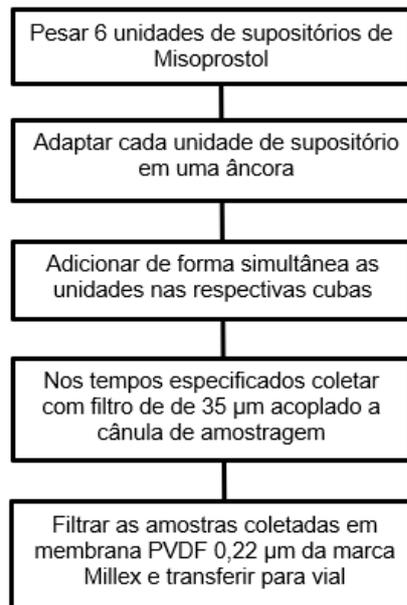
f) Solução de hidróxido de sódio 5 N: Para cada 100 mL foram pesados 20 g de hidróxido de sódio, em capela de exaustão, e dissolvido e avolumado em água purificada;

g) Meio de dissolução – fosfato de sódio pH 7,2 com lauril sulfato de sódio: Para cada 1 L foram pesados 6,9 g de fosfato de sódio monobásico monohidratado e dissolvido em água purificada sob agitação. O pH foi ajustado em 7,2 com solução de hidróxido de sódio 5 N e em seguida foi acrescentado a massa correspondente as concentrações do tensoativo lauril sulfato de sódio testadas, sendo homogeneizado e degaseificado em seguida. A percentagem em peso por volume (p/v) do lauril sulfato de sódio testados foram de 0,1 %, 0,5 %, 1 % e 2 %.

### 3.2.4.3 Preparo de amostras

O teste foi conduzido de acordo com o descrito no fluxograma da figura 17 em 6 cubas contendo o meio de dissolução previamente degaseificado em banho ultrassônico e aquecido.

Figura 17 – Fluxograma com o descritivo do preparo das amostras de dissolução do supositório de misoprostol



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

#### 3.2.4.4 *Preparo da substância química de referência (SQR)*

As soluções SQRs foram preparadas em duplicata, sendo o preparo da solução estoque preparado conforme o descrito no método de doseamento, no item 3.2.3.3.4.

E a solução SQR foi preparada a partir da transferência de 0,2 mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL, avolumada com o meio de dissolução e filtrada em filtro seringa de 0,22 µm PVDF da marca Millex (concentração final de 2 µg /mL).

#### 3.2.5 *Análise de validação do supositório de misoprostol*

Após o desenvolvimento dos métodos de doseamento e dissolução supracitados, foi realizada a validação de cada, conforme as diretrizes da ANVISA presentes na RDC nº 166/2017.

##### 3.2.5.1 *Seletividade*

Foi necessário demonstrar que a resposta analítica se deve exclusivamente ao fármaco ativo de misoprostol, não havendo interferência dos constituintes da formulação (placebo), nem do diluente. Foram avaliados por meio de injeção com varredura na faixa de 200 a 400 nm da solução diluente (branco), placebo, solução SQR e amostra, cuja concentração foi específica para cada método.

A especificidade foi medida utilizando o teste de pureza de pico, que tem a capacidade de provar que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente.

##### 3.2.5.2 *Linearidade*

A partir de três massas pesadas de SQR de misoprostol foram geradas três soluções SQR estoque, com concentração final de 100 µg/mL, que foram utilizadas na diluição de três curvas com 5 níveis de concentração para cada método.

Para o método de doseamento, as alíquotas transferidas das soluções estoques foram avolumadas em acetonitrila, sendo os níveis de concentração de 7,5; 15; 24; 30 e 36 µg/mL.

No método de dissolução, as amostras foram avolumadas em meio de dissolução e com os níveis de concentração de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 µg/mL.

A linearidade do método entre as variáveis de resposta e concentração de misoprostol foi determinada pela análise visual através do gráfico Concentração x Área, com o cálculo da homocedasticidade dos dados através do teste de Cochran, com a análise de variâncias através dos mínimos quadrados ordinários e com a análise de resíduos para avaliar se apresentam distribuição normal e verificar se há resíduos com valores extremos, atípicos ou aberrantes.

### 3.2.5.3 Precisão

A precisão foi avaliada em 6 réplicas de amostras preparadas conforme especificações de cada método em um nível de concentração. E com concentração final de 30 µg /mL para o método de doseamento e de 2 µg /mL para o método de dissolução. Foi calculado o teor de misoprostol a partir das áreas obtidas para cada réplica e o DPR entre as réplicas que não deve ser maior do que 7,3 % para o teste de doseamento e 11 % para a dissolução, de acordo com suas respectivas concentrações finais baseado no *Official Methods of Analysis (AOAC) 2016*.

#### 3.2.5.3.1 Precisão intermediária

O teste foi realizado e avaliado conforme o teste de precisão e avaliou a proximidade entre os resultados obtidos da análise de uma mesma amostra, no mesmo laboratório, em corridas analíticas distintas e independentes, realizada por analistas distintos.

### 3.2.5.4 Limite de quantificação

Foi demonstrado que o valor da concentração no limite de quantificação se encontrava preciso e exato, sendo determinado através da relação sinal-ruído de no mínimo 10:1, no método de doseamento em duas etapas:

a) Teste de linearidade do limite de quantificação: foram preparadas três curvas padrão com os níveis de concentração de 0,5; 0,75; 0,1; 0,125; 0,15; 2,0 e 3,0 µg/mL. Preparadas a partir de alíquotas avolumadas em acetonitrila de três diferentes soluções SQR estoque. E foi avaliado conforme o teste de linearidade.

b) Teste de precisão do limite de quantificação: com o preparo de 6 réplicas do nível de concentração de 1 µg/mL. Foi avaliado conforme os testes de precisão e exatidão.

#### 3.2.5.5 *Exatidão*

O teste foi conduzido com três pesadas de SQR, originando três curvas de concentração com três níveis cada, avolumadas com a solução placebo contendo unidade de supositório de HPMC processado nas mesmas condições que os supositórios de misoprostol em cada método. Para o método de doseamento foram preparadas amostras com os níveis de concentração de 24; 30 e 36 µg/mL. E no método de dissolução de 0,5; 1,5 e 2 µg/mL.

Foi avaliado o grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Foi avaliado através do cálculo do DPR, com o mesmo critério utilizado na precisão, e da recuperação por nível que deve estar compreendido entre 80 e 110 % para ambos os métodos (AOAC, 2016).

#### 3.2.5.6 *Robustez*

O teste indica a capacidade do método analítico em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analítica. E foi conduzido com alteração na proporção do parâmetro fase móvel.

#### 3.2.6 *Análise de doseamento do supositório de misoprostol*

O teste foi conduzido com o preparo das amostras em triplicata de acordo com o método desenvolvido para doseamento descrito no item 3.2.3.3.

O teor de misoprostol foi calculado através da área versus concentração da amostra em relação à solução SQR, cujo critério de aceitação estabelecido foi de 90 a 110 %, baseado nos ensaios de doseamento de produtos acabados descritos nos compêndios oficiais e monografias de controle de qualidade de medicamentos.

### 3.2.7 Análise de perfil de dissolução do supositório de misoprostol

A análise foi preparada conforme o método desenvolvido para dissolução descrito no item 3.2.4. O teste de perfil de dissolução comparativo foi realizado com 12 cubas contendo 1 unidade em cada do medicamento teste misoprostol 600 µg supositório e 3 unidades em cada (sem o uso de âncora) do medicamento referência Prostokos® 200 µg comprimido vaginal, totalizando a dose de 600 µg.

O cálculo de % dissolvido de misoprostol em cada ponto de coleta foi realizado a partir da curva de calibração sendo utilizada a equação da reta e coeficiente de correlação, que deve ser maior que 0,99. A curva foi preparada com 5 pontos diluídos a partir da solução SQR estoque, avolumados com o meio de dissolução e com concentrações finais teóricas de 0, 5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 µg /mL.

Foi realizado com coleta nos tempos: 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos, com adição do tempo de 45 minutos para avaliação da liberação do medicamento referência, haja vista que o único método de dissolução encontrado para o misoprostol comprimido oral, utiliza tempo de coleta de 30 minutos (Ph. Int., 2020).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %

Foi empregada a metodologia para misoprostol dispersão disponível na Farmacopeia Americana USP 43 (Anexo A). Entretanto, os ajustes descritos abaixo foram necessários:

- Alteração na coluna cromatográfica: sendo a indicada pela monografia a Symmetry C8, 15 cm x 4,6 mm e 5  $\mu\text{m}$  do fabricante Waters. Embora o SEFAR não dispusesse especificamente dessa coluna cromatográfica, possuía uma Symmetry C8, 15 cm x 4,6 mm e 3,5  $\mu\text{m}$  do fabricante Waters, sendo a única diferença o tamanho de partícula. Contudo, a alteração do diâmetro impactou no método causando interrupção da corrida analítica em função da alta pressão, sendo substituída por uma coluna C8, 15 cm x 4,6 mm e 5  $\mu\text{m}$ , conforme a especificação da USP, mas da marca ACE.
- Alteração nas concentrações das soluções do teste de impurezas orgânicas: as soluções de sensibilidade e a SQR diluída tiveram suas concentrações aumentadas em 10 vezes por conta da sensibilidade do HPLC empregado para as áreas de misoprostol. A concentração final da SQR diluída foi alterada de 0,7 para 7  $\mu\text{g/mL}$  e a solução de sensibilidade de 0,14 para 1,4  $\mu\text{g/mL}$ .
- Alteração do volume de injeção: foi alterado de 100  $\mu\text{L}$  para 70  $\mu\text{L}$ , devido à limitação do equipamento, a fim de aumentar a massa final injetada de misoprostol para estar de acordo com o preconizado no método.

Um dos desafios iniciais foi a pesagem da SQR, visto que a substância química de referência da USP é um líquido viscoso com alto custo, sendo por isso pesado 5 mg para preparo da solução estoque em isopropanol que possui estabilidade de 28 dias se armazenado em freezer. A melhor técnica encontrada para pesagem da SQR foi usando espátula de bico fino e arrastando as gotas de misoprostol para barca plástica, conforme figura 18.

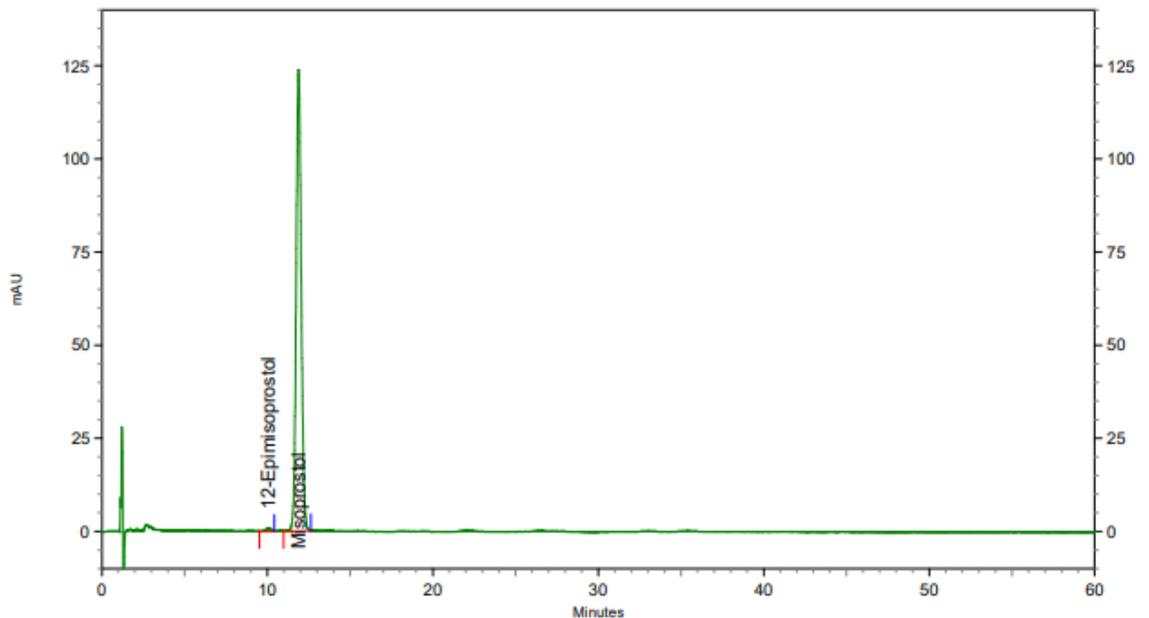
Figura 18 – Técnica de pesagem da SQR de misoprostol



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

A solução SQR de misoprostol com concentração de 0,14 mg/mL forneceu uma área média de 10608287 no tempo de retenção de 12,1 minutos, enquanto o pico de 12-epimisoprostol, impureza do processo de fabricação do misoprostol, eluiu em 10,2 minutos sendo monitorado pelo tempo de retenção relativo de acordo com a monografia (figura 19).

Figura 19 – Cromatograma da amostra de solução SQR de misoprostol dos testes de doseamento e impurezas orgânicas da análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

A análise está em conformidade com os requisitos de adequação estabelecidos na monografia, sendo obtido resolução de 3,5 entre o pico do 12-epimisoprostol e do misoprostol, cujo critério é de no mínimo 2,7 de resolução. E ainda, DPR (%) de 0,3 % entre as réplicas de injeções da solução SQR de misoprostol, estando dentro do máximo 1,0 % (USP, 2021).

As amostras dos lotes de dispersão de misoprostol-HPMC 1 %, E0277507 e E0278516, apresentaram tempo de retenção em torno 12 minutos, mesmo tempo de eluição do pico da solução SQR de misoprostol, sendo desta forma aprovados no teste de identificação. Enquanto no teste de doseamento, ambos os lotes foram aprovados e estão dentro da especificação de 95,0 a 104,0 % de teor, sendo os resultados obtidos descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados do doseamento das amostras de dispersão de misoprostol-HPMC 1 %

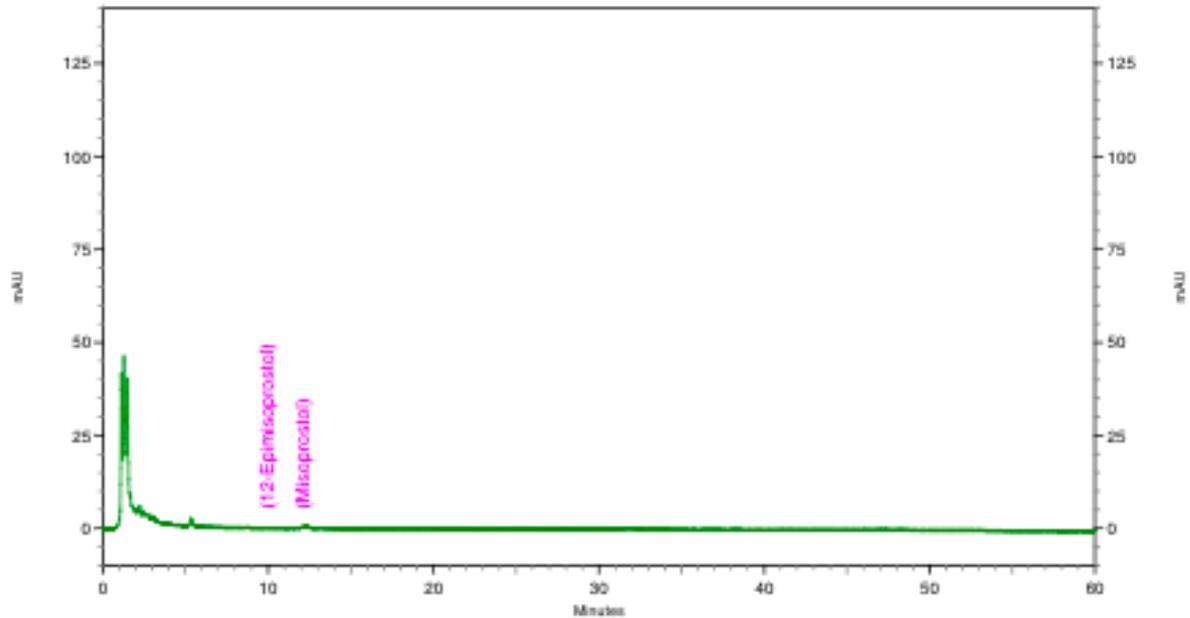
AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	TEOR MÉDIO (%)
Lote: E0277507	11186069	99,7
Lote: E0278516	11623930	103,6

Os dois lotes de dispersão estão dentro da especificação do teste de impurezas orgânicas, descritos em sua monografia (Anexo A). As impurezas de misoprostol tipo A, misoprostol tipo B, 8-epimisoprostol e 12-epimisoprostol não foram detectadas, mesmo com a extrapolação em 10 vezes da área obtida para a solução de sensibilidade e SQR diluída.

Desta forma, os lotes E0277507 e E0278516 de dispersão de misoprostol 1 % em HPMC, do fabricante *Everlight Chemical Industrial Corporation*, se encontraram aptos para serem empregados nas formulações dos supositórios.

Também foi analisada a amostra de HPMC, lote N0668186, amostra essa que foi disponibilizada para ser utilizada como branco em relação à dispersão contendo o fármaco, e para a fabricação futura de supositórios placebos. A análise da amostra de HPMC não apresentou nenhum pico no tempo de retenção de misoprostol, bem como no tempo de suas impurezas, conforme demonstrado na figura 20.

Figura 20 – Cromatograma da amostra de HPMC no teste de doseamento e impurezas orgânicas da análise da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

## 4.2 Desenvolvimento e produção do supositório

A produção dos supositórios foi realizada com as três bases disponíveis (CM, NA15 e AS2X). As unidades foram empregadas na etapa analítica do projeto. Foram preparados, diversos lotes, com diferentes técnicas e tipos de supositórios com cada tipo de base. São eles:

- a) Base pura: somente com a base.
- b) HPMC: com base e HPMC.
- c) Misoprostol 800 µg: com base e dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.
- d) Misoprostol 600 µg: com base e dispersão de misoprostol-HPMC 1 %.

Foi utilizada uma numeração interna para cadastrar os lotes de supositórios produzidos.

#### 4.2.1 Etapa 1 – Supositório misoprostol 800 µg

##### 4.2.1.1 *Supositório de base pura*

Foi produzido um lote de supositório de base pura com quatro unidades de cada tipo de base para obter capacitação na manipulação e realizar calibração do molde de silicone, conforme orientação do Guia Prático da Farmácia Magistral (FERREIRA, 2011).

Inicialmente a base foi fundida pela técnica de aquecimento direto na placa com agitador, mas desta forma, houve falta de uniformidade no derretimento da base e ainda, perda de massa da base derretida para o agitador magnético. E por isso foi alterado para a técnica de derretimento em banho de aquecimento com agitação por bastão de vidro (HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Não foi observada diferença entre os diferentes tipos de bases, pois todas as bases apresentaram ótima performance com homogeneidade dentro do molde, sem ocorrência de perda de unidade e com aspecto aprovado, pois nenhuma unidade apresentou imperfeição no formato ou coloração e todas as unidades estavam com a superfície uniforme, homogênea, lisa, brilhante e sem fissuras (ALLEN, 2007; USP, 2021). O número do lote e o cálculo do peso médio para das unidades obtidas, em cada tipo de base, estão demonstrados na tabela 2.

Tabela 2 – Resultados da produção de supositórios de base pura

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	P2008032	2,09
Base NA15	P2008033	2,02
Base AS2X	P2008034	1,83

##### 4.2.1.2 *Supositório de misoprostol 800 µg com 10 % de excesso*

Foram produzidos diversos lotes de supositórios, com aumento gradual das unidades, para alcançar a melhor técnica de incorporação da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % e de finalização da massa no molde.

No primeiro lote com 1 unidade, para cada tipo de base, observou-se que a incorporação da dispersão ocorreu com facilidade e sem formação de grumos com pó

não solubilizado. É importante ressaltar que a dispersão de misoprostol-HPMC 1 % tem a apresentação de pó uniforme e extremamente fino, não sendo necessário pulverizá-lo (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Nesse experimento, foi possível identificar que a base CM se solidifica mais rapidamente que as demais, devido ao seu alto ponto de fusão, e desta forma, a base ficou aderida na parede do frasco impossibilitando a transferência para o molde, sendo necessário para essa base que a temperatura do banho de aquecimento seja entre 40 - 45°C (GATTEFFOSÉ, 2019).

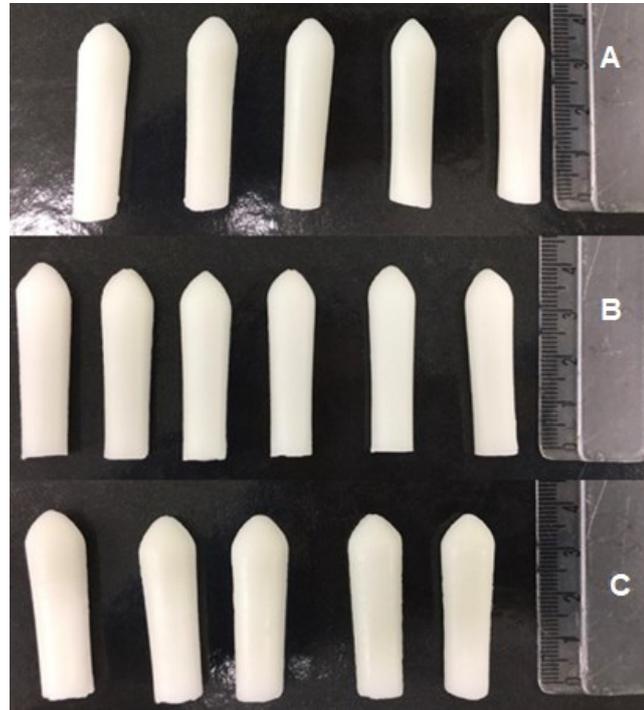
O lote seguinte foi preparado com 6 unidades de cada base, nenhuma unidade apresentou imperfeição na coloração e na aparência da superfície. Não foi observado com a adição da dispersão de misoprostol a ocorrência de redução ou elevação do ponto de fusão da base, que se mantiveram dentro da faixa. Contudo, o peso médio encontrado (tabela 3) foi inferior ao obtido para as bases puras (tabela 2), possivelmente em função da adição do ativo ocasionar contração do volume após o resfriamento (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015). O número do lote e os pesos médios obtidos, estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 2

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	P2009039	1,87
Base NA15	P2009040	1,84
Base AS2X	P2009041	1,81

Houve perda de 1 unidade da base CM, por falta de volume suficiente para verter no molde, e perda de 1 unidade da base AS2X, por apresentar imperfeição na forma, com o bico faltando um pedaço. Em todas as bases foram observadas pequenas deformidades na parte superior dos supositórios, conforme demonstrado na figura 21.

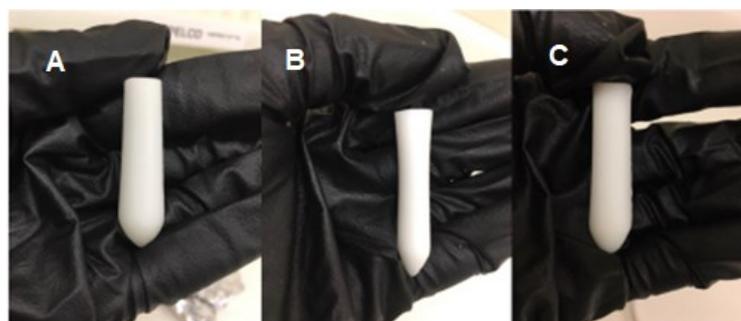
Figura 21 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 2 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2020).

O lote seguinte foi produzido com 24 unidades de cada base, e não houve perda de nenhuma unidade em todos os tipos de base e nenhuma unidade apresentou imperfeição no formato, coloração e aparência da superfície, conforme figura 22.

Figura 22 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2020).

Para correção da contração do volume foi adicionado excesso de base conforme orientação do Guia prático da farmácia magistral (FERREIRA, 2011). E por isso a massa da base foi alterada para 2,2 g por unidade, ou seja, sem o desconto da

massa do ativo. Foi possível observar aumento no peso médio, demonstrado na tabela 4, em relação ao lote anterior (tabela 3).

Tabela 4 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	24	P2010043	1,90
Base NA15	24	P2010044	2,01
Base AS2X	24	P2010045	1,96

As deformidades na parte superior dos supositórios observada no lote anterior foram corrigidas através da remoção do excesso de base após 15 minutos do resfriamento da formulação em temperatura ambiente (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Apesar da melhora das técnicas empregadas, a base CM foi a mais difícil de manipular, provavelmente devido ao seu ponto de fusão mais alto, que acabou resfriando com mais facilidade quando retirado do banho de aquecimento.

Foram produzidos mais dois lotes, para cada tipo de base, com a mesma técnica supracitada. As unidades produzidas não apresentaram qualquer imperfeição, conforme demonstrado na figura 23.

Figura 23 – Supositórios de misoprostol 800 µg do lote 4 com as bases A (CM), B (NA15) e C (AS2X), respectivamente



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021)

Cada lote foi produzido com 24 unidades, para evitar resfriamento e perda da massa durante a etapa de verter para o molde e devido à disponibilidade de apenas dois moldes com 12 unidades em cada. As codificações e os pesos médios obtidos, estão demonstrados na tabela 5.

Tabela 5 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 4

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	24	P2104023	2,02
Base CM	24	P2104024	2,06
Base NA15	24	P2104025	2,07
Base NA15	24	P2104026	2,11
Base AS2X	24	P2104027	2,05
Base AS2X	24	P2104028	1,95

#### 4.2.1.3 *Supositório de HPMC*

Após definição da melhor técnica de produção, foi produzido lote com 12 unidades, para cada tipo de base, contendo 88 mg de HPMC no lugar da dispersão de misoprostol-HPMC 1 % para que fosse utilizado como placebo nos experimentos. Os códigos e peso médios obtidos estão descritos na tabela 6.

Tabela 6 – Resultados da produção de supositórios de HPMC do lote 1 com 800 µg

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	11	P2104020	2,17
Base NA15	11	P2104021	2,12
Base AS2X	12	P2104022	2,10

Durante a incorporação da dispersão de HPMC na base derretida foi necessária uma agitação rápida e vigorosa para evitar formação de grumo ou precipitação. E ao verter para o molde, faltou quantidade para 1 unidade das bases CM e NA15, sendo produzidos 11 unidades de cada. Esse fato corroborou com a hipótese de que o HPMC seja responsável pela contração do volume que foi observado quando se utilizou a dispersão de misoprostol-HPMC 1 %. Contudo, nenhuma unidade demonstrou imperfeição na forma, coloração e aparência da superfície.

#### 4.2.1.4 *Supositório de misoprostol 800 µg com 20 % de excesso*

No decorrer do desenvolvimento do método de doseamento, foi observada grande dificuldade em alcançar o limite inferior mínimo de 90 % do teor nas unidades de supositórios produzidas com 10 % de excesso dos ativos. Desta forma, foi levantada a hipótese de que o baixo teor encontrado poderia não ser devido à limitação de extração do método, mas sim, por perda da dispersão de misoprostol durante o processo de produção dos supositórios.

Segundo Ferreira (2011), é possível minimizar a perda do fármaco aumentando o excedente dos ativos pesados, e por isso, foi produzido um lote com 24 unidades de supositórios, para cada tipo de base, contendo 20 % de dispersão de misoprostol-HPMC 1 %, ou seja, 96 mg de dispersão por unidade, porém mantendo a massa pesada para a base.

Os pesos médios obtidos, descritos na tabela 7, indicaram uma maior contração do volume dos supositórios quando comparados com os supositórios produzidos com 10 % de excesso, descrito na tabela 5. Isso sinalizou a necessidade de realizar uma calibração do molde utilizado através da produção de supositórios com as bases e o HPMC (placebo), ao invés de base pura somente, para calcular mais detalhadamente as perdas do procedimento de produção manual dos supositórios, já que o HPMC é provavelmente o responsável pela contração de volume (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Tabela 7 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 800 µg do lote 3

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base CM	24	P2105038	1,89
Base NA15	24	P2105039	1,92
Base AS2X	24	P2105040	1,97

#### 4.2.2 Etapa 2 – Supositório misoprostol 600 µg

Nesta etapa foram produzidos supositórios de misoprostol com a nova dose de 600 µg e foram utilizados novos moldes de silicone para aumentar a produção com o total de 4 moldes com 12 unidades cada. Por isso, esta etapa iniciou com a produção de supositórios de HPMC para realizar a calibração dos novos moldes e calcular as

perdas do procedimento de preparo, bem como obter unidades para serem utilizadas como placebo nos experimentos (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

A partir desta etapa foram produzidos supositórios apenas com as bases NA15 e AS2X. A base CM foi eliminada, devido à sua dificuldade de manipulação e por apresentar baixo desempenho durante o desenvolvimento dos métodos que serão apresentados a seguir.

#### 4.2.2.1 *Supositório de HPMC*

Foi produzido lote com 12 unidades, para cada tipo de base, contendo 66 mg de dispersão de HPMC no lugar da dispersão de misoprostol-HPMC 1 %. Nenhuma unidade demonstrou imperfeição na forma, coloração e aparência da superfície. Mas, houve perda de 1 unidade para cada tipo de base, por falta de volume suficiente para preencher o molde.

A partir do peso médio obtido para as 11 unidades, descrito na tabela 8, foi possível calcular que houve perda de aproximadamente 5 % do peso teórico que foi pesado para produzir as unidades em relação ao peso médio real obtido com o novo molde. Desta forma, a produção de supositórios com a dispersão de misoprostol deve ser feita com excesso de 15 % dos ativos para corrigir as perdas do processo. Foram mantidos os 10 % de excesso para as perdas que ocorrem nas etapas de solidificação, transferência para o molde e finalização e os 5 % para perdas provenientes da contração do volume observada com o HPMC (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Tabela 8 – Resultados da produção de supositórios de HPMC do lote 2 com 600 µg

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>
Base NA15	11	P2108068	2,21
Base AS2X	11	P2108069	2,21

#### 4.2.2.2 Supositório de misoprostol 600 µg

Foram produzidos, inicialmente, dois lotes com 24 unidades em cada com o novo cálculo contendo 15 % de excesso dos ativos. E foi utilizado 2.461 mg de base e 69 mg de dispersão, não houve perda de nenhuma unidade e nenhuma unidade apresentou imperfeição no formato, coloração e aparência da superfície.

Os pesos médios obtidos demonstraram que o aumento do peso médio das unidades foi alcançado, conforme tabela 9. Foi calculado o DPR (%) por lote, e os lotes P2108070, P2108071 e P2108072 ficaram dentro da especificação de  $\pm 5\%$ , enquanto o lote P2108073 não ficou de acordo. Todos os lotes foram reprovados no critério de “não mais que 2 unidades fora de 5 %” e aprovados no critério de “nenhuma unidade fora de 10 %” das Farmacopeias Brasileira e Americana (FB, 2019; USP, 2021).

Tabela 9 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 600 µg do lote 1

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>	<b>DPR (%)</b>
Base NA15	24	P2108070	2,18	4,6
Base NA15	24	P2108071	2,25	3,6
Base AS2X	24	P2108072	2,20	4,7
Base AS2X	24	P2108073	2,24	5,4

Os resultados demonstraram que é necessária maior atenção nas etapas críticas da produção, como o enchimento da massa no molde, para que as bolhas de ar não alterem o peso, na espátulação para retirada de excesso da massa no molde e na retirada das unidades do molde, a fim de tentar minimizar as variabilidades da produção manual de supositórios por enchimento (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015).

Os lotes supracitados foram empregados no desenvolvimento dos métodos do doseamento e de dissolução.

Para a condução da validação e análises finais dos métodos desenvolvidos, foram produzidos 4 lotes com 24 unidades em cada, totalizando 96 unidades das

bases NA15 e AS2X. A codificação, o peso médio e DPR (%) obtidos estão descritos na tabela 10.

Tabela 10 – Resultados da produção de supositórios de misoprostol 600 µg do lote 2

<b>BASE UTILIZADA</b>	<b>Nº UNIDADES</b>	<b>Nº LOTE</b>	<b>PESO MÉDIO (g)</b>	<b>DPR (%)</b>
Base NA15	24	P2111082	2,15	5,0
Base NA15	24	P2111083	2,21	4,9
Base NA15	24	P2111084	2,17	4,4
Base NA15	24	P2111085	2,22	3,9
Base AS2X	24	P2111086	2,27	3,6
Base AS2X	24	P2111087	2,29	4,5
Base AS2X	24	P2111088	2,27	3,9
Base AS2X	24	P2111089	2,32	4,4

Os DPR's (%) de todos os lotes produzidos ficaram dentro da especificação de  $\pm 5\%$  da Farmacopeia Brasileira e Americana, indicando melhora na técnica empregada na produção. Contudo, todos os lotes foram reprovados no critério de “não mais que 2 unidades fora de 5%” e aprovados no critério de “nenhuma unidade fora de 10%”. Desta forma, foram selecionados para utilização nos experimentos somente as unidades que se encontram dentro da variação de  $\pm 5\%$ .

Deve ser ressaltado, que para produção destinada ao uso humano, é essencial que os supositórios sejam produzidos em área com Boas Práticas de Fabricação (BPF), constante nas indústrias farmacêuticas ou nos estabelecimentos de manipulação de fórmulas magistrais, cujas estruturas e condições instrumentais são ideais para produzir o medicamento com acurácia e segurança. Os erros no processo de fabricação mais comuns em produção manual, como por exemplo, cálculo e homogeneização dos ativos, podem levar a distribuição não homogênea do fármaco no supositório (FERREIRA, 2011; HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015; KALMAR *et. al*, 2014).

### 4.3 Análise de desenvolvimento do método de doseamento do supositório de misoprostol

Os resultados obtidos para cada método desenvolvido após as devidas adaptações estão descritos a seguir.

#### 4.3.1 Doseamento - Método 1

O método foi adaptado a partir da metodologia de doseamento para misoprostol dispersão em HPMC da Farmacopeia Americana (USP, 2021). Importante ressaltar, que previamente foi realizado com a SQR de misoprostol e os supositórios de base pura um teste com filtros seringas de diferentes composições e marcas (RC e PVDF da marca Analítica, PVDF da marca Millex e RC da marca Whatman). No qual foi evidenciando que o filtro PVDF da marca Millex, do fabricante Merck Millipore, obteve a melhor performance, pois não apresentou pico que contribua com a área do misoprostol.

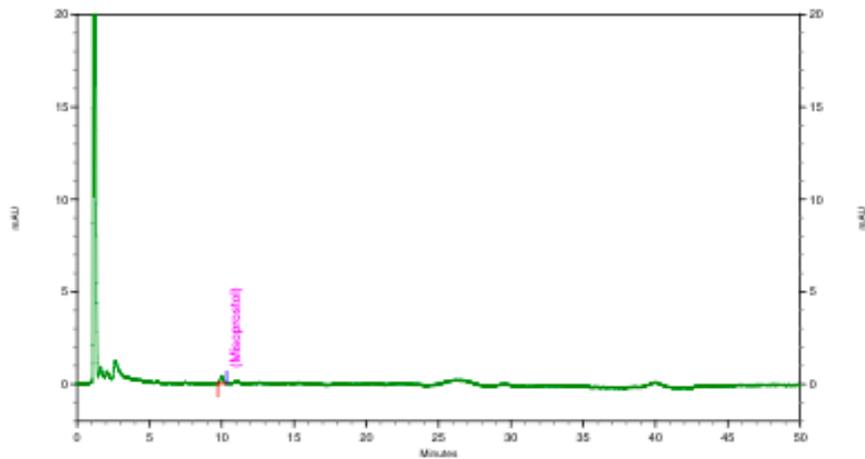
Além disso, alguns ajustes realizados até alcançar o método final:

- Adição da etapa de derretimento da base em incubadora orbital.
- Diluição do supositório derretido em isopropanol em razão da alta solubilização do misoprostol nesse solvente e sua extração da base. Seguida de uma diluição em solução diluente para manter a amostra em composição próxima à da fase móvel.
- Adição da etapa de banho ultrassônico com temperatura de 37°C para maximizar a extração do misoprostol na base.
- Adição da etapa de centrifugação para minimizar, através da separação das fases, a quantidade de partículas sólidas da base na amostra final.
- Mudança do filtro seringa RC 0,45 µm para PVDF 0,22 µm, devido ao teste previamente realizado e à quantidade de partículas da base que solidificam no *vial* após a filtração.
- Mudança da concentração final da amostra para 0,014 mg/mL, devido à baixa dose do fármaco no supositório e ao fato de ser a maior concentração obtida experimentalmente, apenas 10 vezes maior do que a concentração limítrofe da solução de sensibilidade (0,0014 mg/mL).

- Alteração da concentração final da solução SQR de misoprostol para 0,014 mg/mL com diluição em solução diluente para mimetizar as condições da amostra.

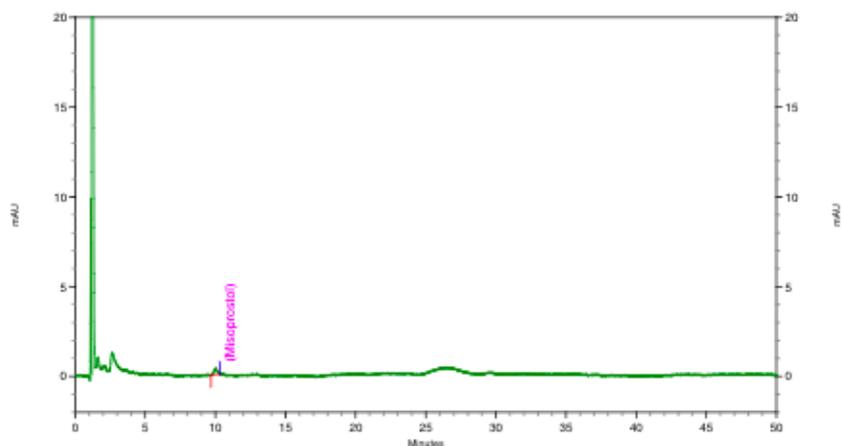
Foram preparadas amostras, de cada tipo de base, dos supositórios de misoprostol 800 µg e de base pura. Os supositórios de base pura para todos os tipos de base não apresentaram picos no tempo de retenção do misoprostol (figuras 24 a 26). Entretanto, foram observados picos desconhecidos que podem ser característicos da base, sendo a base AS2X sempre a com maior quantidade de picos.

Figura 24 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base CM) do teste de doseamento do método 1



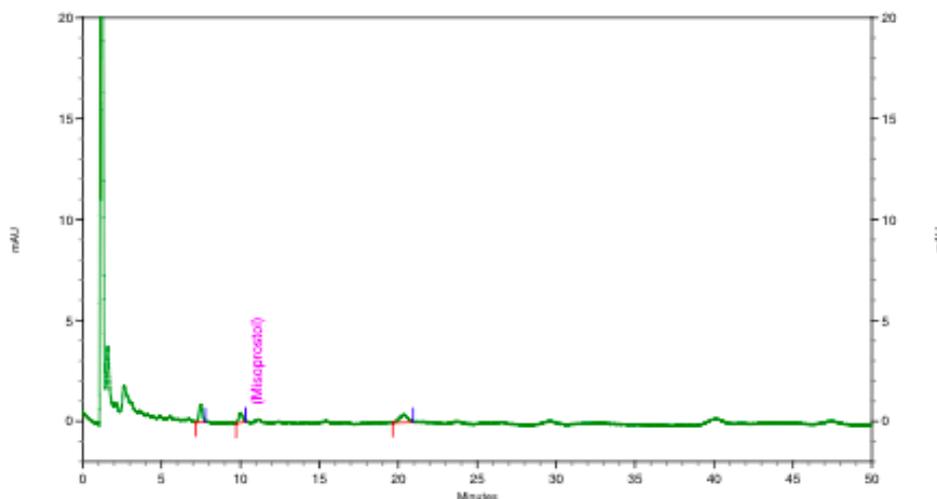
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 25 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base NA15) do teste de doseamento do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 26 – Cromatograma da amostra de supositório de base pura (base AS2X) do teste de doseamento do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Apesar de todos os incrementos realizados, as amostras de supositório de misoprostol 800 µg apresentaram teores considerados baixos, evidenciando problemas na extração. O critério de aceitação geralmente empregado em doseamento de supositórios é de 90,0 – 110,0 % em relação ao declarado (USP, 2021).

A área média obtida para solução SQR de misoprostol com concentração de 0,014 mg/mL foi de 1040432 e no tempo de retenção de 10,3 minutos.

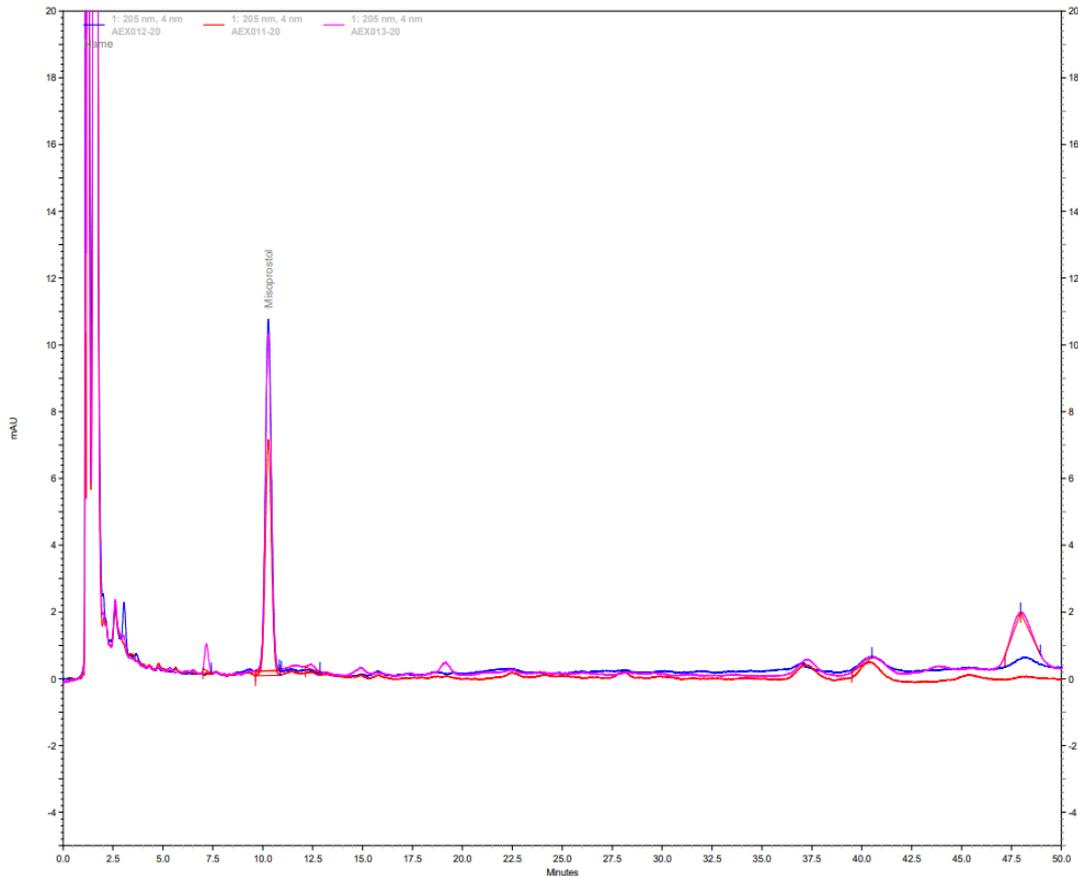
Os resultados obtidos para as amostras de supositórios descritos na tabela 11. O máximo de teor obtido foi de 80,9% para base NA15, seguida pela base AS2X com 77,1%, e por fim, a base CM com 54,4% apresentando sempre o menor teor que as demais bases.

Tabela 11 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 1

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	TEOR MÉDIO (%)
Base CM	607823	54,4
Base NA15	904295	80,9
Base AS2X	860854	77,1

Todas as amostras de supositórios apresentaram mesmo tempo de retenção que a SQR de misoprostol, contudo, com áreas muito inferiores (figura 27).

Figura 27 – Sobreposição dos cromatogramas das amostras de supositório de misoprostol 800 µg das bases CM (rosa), NA15 (azul) e AS2X (vermelho) do teste de doseamento do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Acredita-se que a baixa extração do misoprostol na base do supositório tenha sido um fator limitante desse método, e por isso, uma nova metodologia foi testada.

#### 4.3.2 Doseamento - Método 2

O primeiro teste foi realizado tal qual a metodologia descrita por Constantin e colaboradores (2013), devido a autora ter discutido o método com maior detalhamento. Em seguida, adequações foram realizadas para melhorar sua performance, sendo:

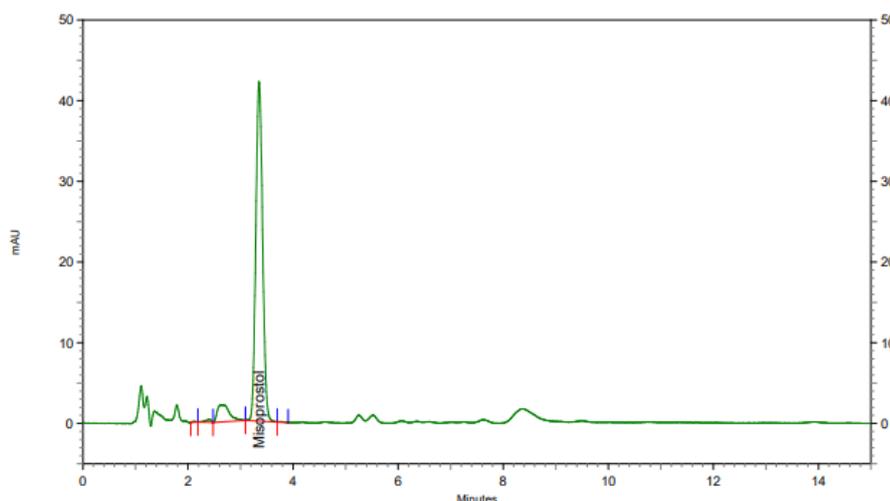
- Aumento do volume de acetonitrila de 7 mL para 40 mL, a fim de se obter maior eficiência de extração.

- Aumento da velocidade de centrifugação de 3000 para 3500 rpm (1008 para 1372 g) para tentar obter maior separação das fases e por consequência, melhor extração do fármaco na base.
- Remoção da etapa da diluição final, por conta da concentração final após aumento do volume de extração.
- Alteração da concentração da SQR para mesma concentração da amostra.

Os ensaios foram conduzidos com o preparo de amostras de supositórios de misoprostol 800 µg com os três tipos de base.

A área média encontrada para solução SQR de misoprostol foi de 1509321 e o seu tempo de retenção, em 3,4 minutos (figura 28), foi condizente com o relatado por Constantin e colaboradores (2013).

Figura 28 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol do teste de doseamento do método 2



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados obtidos para as amostras de supositórios estão descritos na tabela 12.

Tabela 12 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 2

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	TEOR MÉDIO (%)
Base CM	877436	62,9
Base NA15	1223063	87,7
Base AS2X	1332757	95,5

Houve melhora na extração, em relação ao método 1, para as bases NA15 e AS2X. Enquanto a base CM continuou a apresentar menor teor que as demais bases.

Foi realizado um teste de recuperação, utilizando o mesmo método, com os supositórios de base pura, seguido de adição de 88 mg da dispersão de misoprostol HPMC-1 % a fim de mimetizar a dose do supositório de misoprostol 800 µg. O teste demonstrou excelente recuperação do misoprostol nas três bases testadas, sendo o teor médio encontrado para base CM de 107,7 %, para NA15 de 108,0 % e para AS2X de 104,9 %.

Esses resultados corroboram a ocorrência de alguma ineficiência durante o processo de extração, visto que os supositórios de misoprostol 800 µg não chegaram ao mesmo percentual, mesmo com as unidades produzidas com 20 % a mais de dispersão de misoprostol HPMC-1 %, cujos teores médios encontrados foram de 86,2 % para base CM, 90,5 % para a base NA15 e 95,6 % para a base AS2X.

Acredita-se que tenha sido atingido o limite de extração do misoprostol das respectivas bases com esse método, e não foi possível aumentar o volume do solvente de extração devido à limitação da capacidade do rotor da centrifuga disponível. Mas, o desenvolvimento da metodologia seguiu devido às vantagens observadas desse método em relação ao método 1, como o menor tempo de corrida (15 minutos), menor gasto de solventes, menor quantidade de etapas e menor tempo no preparo das amostras, além de maior eficiência da extração.

A base CM não foi usada nos próximos experimentos para desenvolvimento do método, devido a sua performance ter sido sempre inferior ao desejado.

#### 4.3.3 Doseamento - Método 3

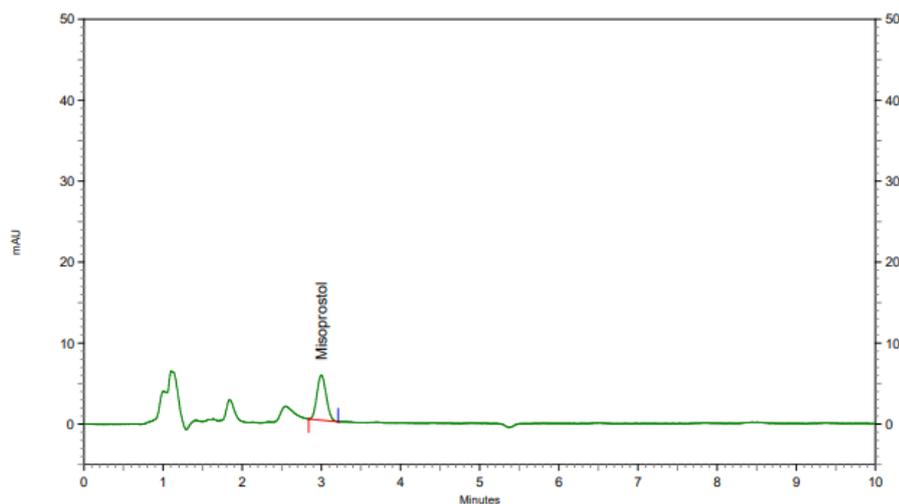
Método adaptado das metodologias de doseamento das monografias da Farmacopeia Japonesa de supositórios de indometacina e bisacodil, cuja composição das bases não é descrita (JP, 2016). Os métodos descritos utilizaram a mesma técnica de digestão para ambos os supositórios, através da fragmentação das unidades num "pool de amostras" onde foi retirada a massa pesada, essa massa que foi aquecida em banho-maria com tetrahydrofurano a 40°C, agitada e diluída em solventes diferentes para cada método.

Na adaptação inicial dos métodos, foi preparado um *pool* de amostras dos supositórios de misoprostol 800 µg das bases NA15 e AS2X, sendo 5 unidades fragmentadas com bisturi e trituradas e homogeneizadas com gral e pistilo.

Massas do *pool* dos supositórios fragmentados equivalente à dose de 1,6 mg foram extraídas com dois solventes diferentes, tetrahidrofurano e acetonitrila, sendo adicionados sobre o *pool* de amostra 50 mL do respectivo solvente e colocado em banho de aquecimento a 40°C até observação do derretimento completo da massa. Em seguida, as amostras foram agitadas no vórtex por 1 minuto e diluídas na proporção de 1 mL de amostra para 10 mL de acetonitrila, com concentração final de 0,0032 mg/mL.

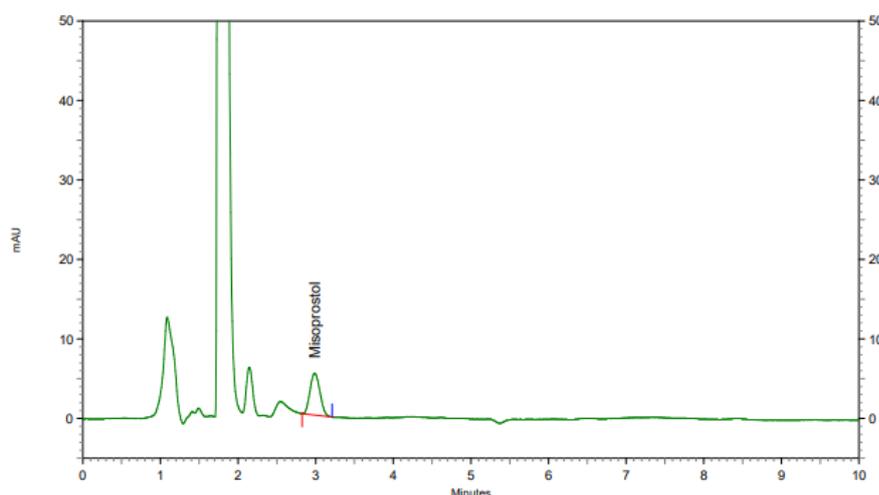
As condições cromatográficas foram aproveitadas do método 2, conforme descrito por Constantin e colaboradores (2013), visto que possuíam menor tempo de corrida, em relação ao método 1, e com menor gasto de solventes. O tempo de retenção do pico de misoprostol foi semelhante ao obtido no método 2 e entre os dois solventes testados, em torno 3 minutos, conforme figuras 29 e 30.

Figura 29 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol em acetonitrila do teste de doseamento do método 3



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 30 – Cromatograma da amostra de solução SQR1 de misoprostol em tetrahydrofurano do teste de doseamento do método 3



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021)

Os resultados obtidos nesse primeiro experimento estão demonstrados na tabela 13.

Tabela 13 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de doseamento do método 3

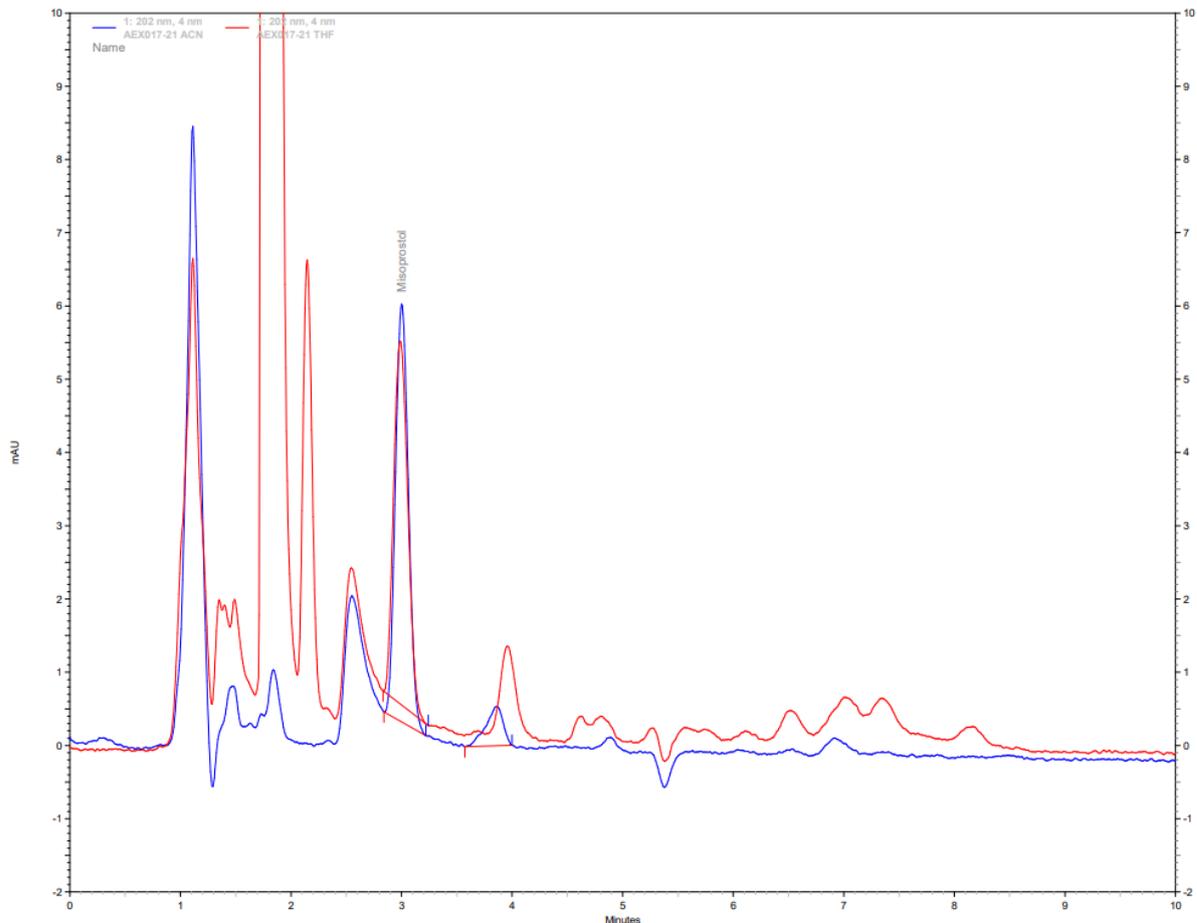
AMOSTRA	SOLVENTE DE EXTRAÇÃO	ÁREA MÉDIA	TEOR MÉDIO (%)
Base NA15	Tetrahydrofurano	176748	99
Base AS2X	Tetrahydrofurano	189539	106
Base NA15	Acetonitrila	186423	108
Base AS2X	Acetonitrila	216724	125

Os resultados foram considerados satisfatórios em relação aos métodos anteriores, haja vista os altos teores obtidos para ambos os solventes.

Contudo, as amostras preparadas com tetrahydrofurano precipitaram ao entrar em contato com a acetonitrila da etapa da diluição final, sendo necessário aguardar aproximadamente 30 minutos para decantar o material precipitado e retirar o sobrenadante para filtrar em filtro seringa PVDF de 0,22 µm da marca Millex para *vial*, se tornando translúcido no primeiro momento, mas com precipitado no fundo após estabilizar na temperatura de 23°C do amostrador do HPLC. Além disso, as amostras

em tetrahidrofurano apresentaram cromatogramas com muitos picos desconhecidos para o mesmo *pool* de amostras extraídas em acetonitrila (figura 31).

Figura 31 – Sobreposição dos cromatogramas das amostras de supositório de misoprostol 800 µg da base NA15 em acetonitrila (azul) e tetrahidrofurano (vermelho) do teste de doseamento do método 3.



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Desta forma, a adaptação do método seguiu apenas com a acetonitrila como solvente de extração, sendo realizado diversos experimentos para verificar a reprodutibilidade do método. Além de diversos testes com diferentes diluições e concentrações finais até alcançar o método final com pesagem de massa do *pool* de supositórios equivalente a dose de uma unidade de 600 µg de misoprostol, extraído com 20 mL de acetonitrila sob aquecimento e sem diluição final, conforme descrito no item 3.2.3.3.

Os resultados encontrados no último teste para confirmação do método realizado antes do início da validação estão demonstrados na tabela 14.

Tabela 14 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 600 µg do teste de doseamento do método 3

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	TEOR MÉDIO (%)
Base NA15	172564	92
Base AS2X	167401	90

O método se mostrou simples de executar, de fácil extração e com poucas etapas, além de ter reduzido o tempo de análise. O valor obtido no doseamento mostrou um percentual abaixo de 100 %, mas ainda dentro da faixa de trabalho desejada, dessa forma o método foi considerado adequado.

É importante ressaltar que a diminuição da dose final resultou na obtenção de percentual um pouco menor de teor, provavelmente devido ao fato de que quanto menor a dose, que já era bem baixa, mais difícil o processo de extração do misoprostol da forma farmacêutica. Contudo, usar massa correspondente a uma unidade farmacêutica tem a vantagem de possibilitar a extrapolação do método para o teste de uniformidade de conteúdo, conforme a monografia de supositório de Bisacodil da Farmacopeia Japonesa (JP, 2016).

O desempenho obtido para ambas as bases foi próximo, não sendo possível selecionar somente uma das bases para seguir para etapa de validação.

#### **4.4 Análise de desenvolvimento do método de dissolução do supositório de misoprostol**

Diversos parâmetros de dissolução foram testados ao longo do desenvolvimento. E os métodos estão descritos a seguir.

##### **4.4.1 Dissolução - Método 1**

O primeiro experimento foi conduzido com o aparato pá, com rotação de 50 rpm e meio de dissolução de fosfato de potássio pH 7,2 (CONSTANTIN *et al.*, 2013; HORI *et al.*, 2017; NICOARA *et al.*, 2015; USP, 2021).

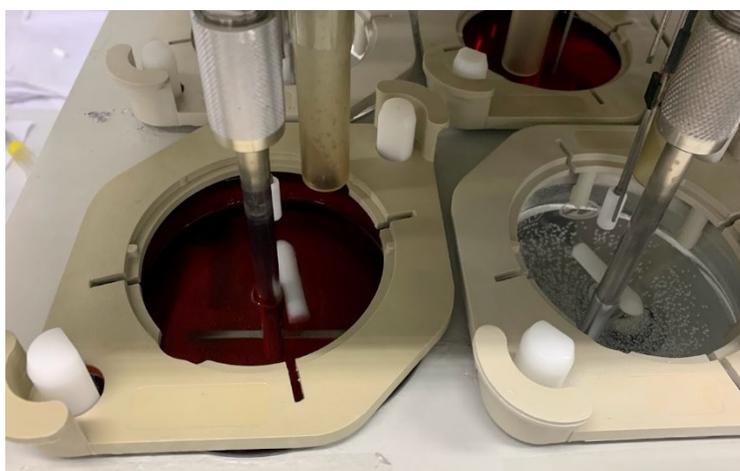
Como o experimento foi realizado com os supositórios de 800 µg, o volume selecionado foi de 500 mL para que a concentração final fosse de 1,6 µg/mL.

As coletas foram realizadas nos tempos de 10, 20, 30, 45 e 60 minutos, sem reposição do meio. O volume retirado foi de 5 mL por coleta automática (com filtro de 35 µm) e 5 mL por coleta manual (sem filtro), a fim de compará-las. Seguida de uma etapa de filtração para o *vial* em filtro seringa PVDF de 0,45 µm da marca Millex.

As condições cromatográficas usadas foram iguais às utilizadas nos métodos 2 e 3 de doseamento e a solução SQR foi diluída com o meio de dissolução na mesma concentração final da amostra de supositório.

O experimento foi realizado com uma unidade de supositório, de cada tipo de base, por cuba. E todos os supositórios ficaram flutuando (figura 32) e não afundaram, evidenciando a necessidade de utilização de âncora.

Figura 32 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg das bases NA15 e AS2X no início do teste de dissolução do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

O supositório da base CM não se dissolveu e se manteve praticamente íntegro no tempo total do teste, 60 minutos, conforme figura 33, enquanto os supositórios das outras bases, mesmo flutuando, foram reduzindo de tamanho com o decorrer do tempo, até derretimento total por volta de 20 minutos.

Figura 33 – Cuba com amostra de supositório de misoprostol 800 µg da base CM após término do teste de dissolução do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Tal comportamento já era esperado dada à sua faixa do ponto de fusão ser maior que a temperatura de 37°C empregada no banho de dissolução (GATTEFFOSÉ, 2019). Tal característica poderia levar a um maior tempo para a liberação da substância ativa (HAAS; WOERDENBAG; SZNITOWSKA, 2015), que não era desejável para a aplicação pretendida do misoprostol, que visa a interrupção do fluxo de hemorragia intra-uterina e para tal, necessita de uma ação rápida do fármaco (FEBRASGO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; OPAS, 2018b).

Os supositórios das bases NA15 e AS2X, que se derreteram totalmente, apresentaram separação de fases entre óleo, oriundo da gordura da base, e a água, do meio de dissolução (figura 34).

Figura 34 – Cuba com amostra de supositório de misoprostol 800 µg da base AS2X após término do teste de dissolução do método 1



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Essa divisão de fases fez com que a coleta das amostras nos tempos determinados não fosse uniforme. Assim, a quantificação do ativo foi comprometida, demonstradas pelas baixas concentrações e alta variabilidade entre os resultados. Desta forma, foram adicionados tensoativos no meio de dissolução, tendo sido testados lauril sulfato de sódio (tensoativo aniônico), classificado como hidrofílico por ter valor de 40 HLB (*hydrophiliclipophilic balance*) e o polissorbato 80, que é um tipo de tensoativo não-iônico, menos hidrofílico, com valor de HLB igual a 15 (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; SILVA; VOLPATO, 2002).

O uso de tensoativo no meio de dissolução em análise de supositórios foi relatado por Realdon e colaboradores (2008), que observaram uma melhor dispersão do fármaco no meio de dissolução mesmo em bases lipofílicas e por consequência, uma maior liberação do fármaco.

Foi importante também verificar a impossibilidade de utilizar coleta automática, devido à gordura da base que entupiu um dos canais, sendo necessário realizar uma limpeza muito trabalhosa com água quente e isopropanol após o término da análise.

#### 4.4.2 Dissolução - Método 2

O experimento foi realizado com algumas alterações, como adição do tensoativo, muito embora o fármaco misoprostol seja classe I (EMA, 2014), os componentes das bases utilizadas no supositório são altamente lipofílicos (GATTEFFOSÉ, 2019) e desta forma, foi necessário o uso do tensoativo para que o fármaco pudesse ser extraído da parte oleosa da base para a fase aquosa do meio, sem que ocorresse separação das fases (ALLEN, 2007).

Para tal, foi selecionado o lauril sulfato de sódio na concentração inicial de 1 % (p/v) no meio de dissolução, sendo o tensoativo de primeira escolha, por ser frequentemente usado para aumentar a hidrossolubilidade do fármaco, devido à sua alta hidroflicidade e por promover molhabilidade ao diminuir o ângulo de contato entre solvente e soluto (BROWN *et al.*, 2004; FDA, 1997b; SILVA; VOLPATO, 2002). E devido a formação de espuma com pequenas bolhas causada pelo lauril sulfato de sódio, o meio de dissolução foi desgaseificado em banho ultrassônico e em seguida foi colocado na cuba aproximadamente 1 hora antes da realização do teste para redução das bolhas e assim evitar a incorporação de ar no meio.

Foi testado também o aumento da velocidade de agitação de 50 para 75 rpm, a fim de melhorar a hidrodinâmica do processo de dissolução e a uniformidade da dose coletada (ANVISA, 2021; HORI *et al.*, 2017). Além disso, Nicoara e colaboradores (2015), relatam em seu trabalho que obteve com aumento de 50 para 75 rpm maior taxa de liberação do fármaco, sendo inclusive superior a liberação encontrada com a cesta específica para supositórios.

Foi realizada coleta de 5 mL manualmente com filtro de 35  $\mu\text{m}$ , acoplado à cânula de coleta, a cada tempo especificado, e utilizado nas unidades de supositório âncora de teflon do tipo três garras. Tal modelo foi empregado por ser a única âncora disponível no SEFAR que comportava as medidas do supositório, mas apesar de conseguir afundá-los, ambos ficaram girando ao redor da pá, ao invés de estar no fundo da cuba, conforme demonstrado na figura 35.

Figura 35 – Cuba com amostras de supositórios de misoprostol 800  $\mu\text{g}$  da base NA15 no início do teste de dissolução do método 2



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

As unidades de supositórios com as bases NA15 e AS2X desintegraram em menos de 10 minutos, e da base CM em aproximadamente 50 minutos. O uso do tensoativo lauril sulfato de sódio foi positivo, pois foi possível observar uniformidade entre as fases aquosa/oleosa na cuba, que permitiu alíquotas homogêneas e a obtenção de resultados coerentes e com baixa variabilidade entre os tempos de coleta de cada tipo de base (ALLEN, 2007; NICOARA *et al.*, 2015). O aumento da velocidade de rotação para 75 rpm pode ter contribuído com a melhora da uniformidade da dose

coletada e evitar resultados com tantas variações, pois deixou o meio mais homogêneo (ANVISA, 2021). Os resultados encontrados estão descritos na tabela 15.

Tabela 15 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 2

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	15,5	68,6	98,2
20	10,8	85,3	114,5
30	24,6	73,1	109,2
45	31,4	71,8	111,5
60	63,4	75,5	107,1

Assim como o observado no desenvolvimento do método de doseamento, as bases NA15 e AS2X apresentaram bom desempenho, enquanto a base CM seguiu com o pior desempenho dada as suas características.

O teste foi repetido, em condições semelhantes, no desintegrador a fim de alcançar desintegração das unidades de supositório em menor tempo e por não necessitar de âncora nesse equipamento, visto que o modelo disponível não foi adequado.

Foi observado no dia seguinte do experimento que todos os *vials* com amostras filtradas em filtro seringa PVDF de 0,45 µm da marca Millex ficaram com precipitado no fundo.

#### 4.4.3 Dissolução - Método 3

O experimento foi realizado no equipamento desintegrador e para obter a concentração final de 1,8 µg foram empregadas 2 unidades de supositórios de 800 µg, totalizando dose de 1600 µg, devido o volume obrigatório do equipamento ser de 900 mL.

Foi utilizado o mesmo meio de dissolução, volume, filtro e tempo de coleta que no experimento Dissolução - Método 2 (item 4.4.2.), sendo a única alteração a filtração

final para *vial* em filtro seringa PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$  da marca Millex, a fim de minimizar os precipitados encontrados.

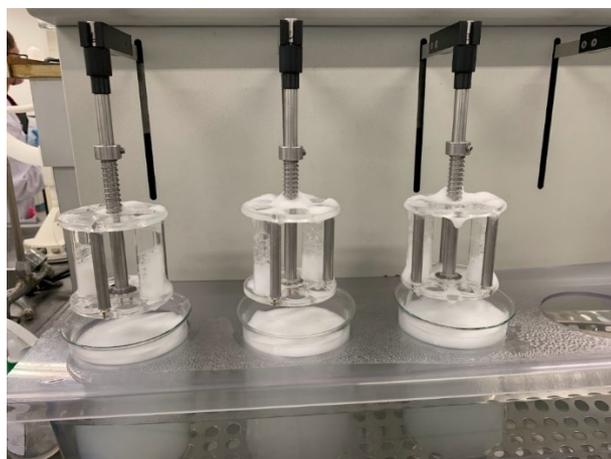
As unidades de supositório da base CM se desintegraram próximo ao tempo final de 60 minutos, enquanto as unidades das bases NA15 e AS2X se desintegraram em menos de 5 minutos. O uso do lauril sulfato de sódio na concentração de 1 % não foi adequado a esse equipamento pois gerou muita espuma (figuras 36 e 37) conforme os aparatos se movimentavam e dificultou o processo uniforme do volume de coleta.

Figura 36 – Desintegrador com as amostras de supositórios de misoprostol 800  $\mu\text{g}$  antes do teste de dissolução do método 3



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 37 – Desintegrador com as amostras de supositórios de misoprostol 800  $\mu\text{g}$  depois do teste de dissolução do método 3



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados encontrados estão descritos na tabela 16.

Tabela 16 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 3

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	Não quantificado	83,3	103,8
20	15,0	89,7	112,1
30	13,5	87,8	112,9
45	29,8	89,9	112,7
60	57,1	94,4	112,6

Os resultados encontrados foram satisfatórios e próximos ao obtido no experimento Dissolução - Método 2 (item 4.4.2.). Porém, acredita-se que a alta dissolução obtida pode ser devido à supressão da área da solução SQR diluída no meio de dissolução tampão fosfato de potássio com lauril sulfato de sódio 1 %, pois no experimento Dissolução - Método 1 (item 4.4.1.), sem o tensoativo, a área média obtida para a solução SQR foi de 119319, enquanto com 1 % do tensoativo no experimento Dissolução - Método 2 (item 4.4.2.), foi de 83560 e no presente método foi de 80613.

Desta forma, devido à área média encontrada para a solução SQR nesse experimento ter sido ainda menor que a encontrada no experimento anterior, pode ter sido gerado um falso resultado do percentual de dissolução das amostras de supositórios acima de 100 % de dissolução.

As amostras filtradas para o *via* em menor micragem também apresentaram precipitado no fundo.

#### 4.4.4 Dissolução - Método 4

Teste realizado no dissolutor com 1 unidade de supositório, de cada tipo de base, em volume de 500 mL, com aparato pá, rotação de 75 rpm e com âncora adaptada em espiral de plástico inerte.

Foram feitos testes com diferentes proporções do tensoativo lauril sulfato de sódio no meio de dissolução em 0,5 % e 0,1 %, a fim de verificar a ocorrência de supressão da área da solução SQR, avaliar a relação com o percentual dissolvido dos supositórios e a relação com os precipitados encontrados no *vial*.

Os tempos de coleta utilizados foram os mesmos do experimento Dissolução - Método 2 (item 4.4.2.), sendo coletado 5 mL manualmente com filtro de 35  $\mu\text{m}$  e filtrado para *vial* em filtro seringa PVDF de 0,22  $\mu\text{m}$  da marca Millex.

A âncora empregada não conseguiu afundar as unidades da base CM (figura 38), que não derreteu totalmente no tempo de 60 minutos. A unidade da base NA15 afundou rapidamente (figura 38) e derreteu em aproximadamente 5 minutos. Enquanto a unidade da base AS2X afundou vagorosamente até alcançar o fundo da cuba e demorou aproximadamente 30 minutos para derreter no meio com 0,1 % de tensoativo e não derreteu totalmente no meio com 0,5 %.

Figura 38 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800  $\mu\text{g}$  das bases CM e NA15 no início do teste de dissolução do método 4



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados encontrados estão descritos nas tabelas 17 e 18.

Tabela 17 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 4 com 0,1 % de tensoativo

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	Não quantificado	81,3	73,5
20	15,3	71,3	82,6
30	14,2	73,9	88,1
45	13,3	76,8	89,4
60	13,5	62,4	97,1

Tabela 18 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 4 com 0,5 % de tensoativo

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	10,2	56,3	14,8
20	11,6	57,5	39,1
30	12,8	55,2	38,0
45	19,7	71,6	24,7
60	14,8	61,2	25,3

Os resultados indicaram que a âncora interferiu no derretimento das unidades de supositórios e por consequência, na dissolução das amostras, sendo a base AS2X a mais afetada, e foi necessário recorrer a alguma outra forma de manter os supositórios no fundo da cuba.

No teste com 0,1 % do tensoativo a área da solução SQR foi de 109796 e no teste com 0,5 % de 87594, evidenciando a supressão supracitada, o que levou a necessidade de realizar testes com outros tipos de tensoativos. A quantidade de precipitados no fundo do *vial* foi reduzida com as novas proporções do tensoativo.

#### 4.4.5 Dissolução - Método 5

Teste realizado com alteração do volume de 500 mL para 400 mL, sendo a concentração final em 2,0 µg/mL e testando o tampão fosfato de potássio pH 7,2 com tensoativo polissorbato 80 em 0,1 % e 0,5 %. Os demais parâmetros de dissolução foram mantidos conforme o experimento Dissolução - Método 4 (item 4.4.4.).

Foram utilizadas âncoras espirais confeccionadas em aço inoxidável e adaptadas para as medidas dos supositórios produzidos (figura 39).

Figura 39 – Âncora espiral de aço adaptada para os supositórios



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

A âncora empregada conseguiu afundar e manter no fundo da cuba as unidades de supositórios dos três tipos de base. Ainda assim a unidade da base CM se manteve íntegra até o final da dissolução provavelmente devido a sua faixa de fusão (GATTEFFOSÉ, 2019).

A base NA15 derreteu totalmente em 5 minutos e houve separação das fases aquosa e oleosa (figura 40). Enquanto a base AS2X, que também derreteu em 5 minutos, ficou com aspecto turvo, possivelmente devido ao polissorbato da composição da base AS2X acrescido ao polissorbato do tensoativo, não sendo possível observar a ocorrência de separação das fases (figura 40).

Figura 40 – Cubas com amostras de supositórios de misoprostol 800 µg das bases NA15 e AS2X no final do teste de dissolução do método 5



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados obtidos estão demonstrados nas tabelas 19 e 20.

Tabela 19 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 5 com 0,1 % de tensoativo

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	Não quantificado	29,9	50,3
20	8,5	Não quantificado	54,7
30	11,4	Não quantificado	57,2
45	11,1	47,3	57,1
60	10,7	50,2	56,1

Tabela 20 – Resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 5 com 0,5 % de tensoativo

TEMPO (min)	DISSOLUÇÃO MÉDIA (%)		
	BASE CM	BASE NA15	BASE AS2X
10	12,9	43,9	62,1
20	13,9	51,3	68,5
30	15,8	55,6	72,1
45	15,5	57,2	67,3
60	15,8	48,1	68,8

O uso do tensoativo polissorbato 80 não foi considerado satisfatório pelo percentual dissolvido obtido para todas as bases e pela separação de fases que acarretou na coleta não uniforme do misoprostol e tempos de coleta que não puderam ser quantificados. Provavelmente esse resultado deve-se à menor hidrofiliabilidade do tensoativo, sendo necessário usar um tensoativo mais hidrofílico, como o lauril sulfato de sódio, porém em meio de dissolução em que não ocorresse reação entre os sais (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; SILVA; VOLPATO, 2002).

#### 4.4.6 Dissolução - Método 6

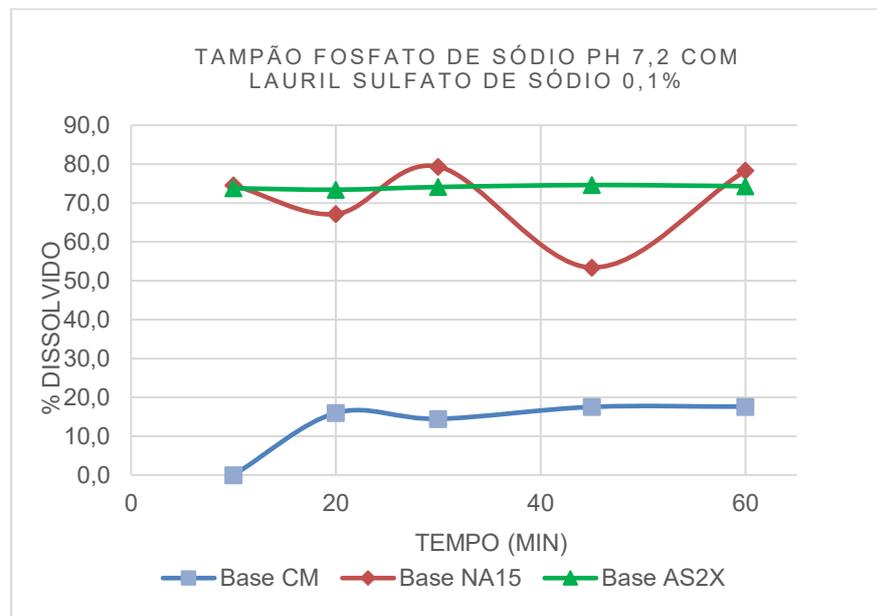
O meio de dissolução de tampão fosfato de potássio foi alterado para tampão fosfato de sódio no mesmo pH de 7,2, devido ao lauril sulfato de sódio reagir com o potássio do tampão formando um sal que precipita em temperatura ambiente (FONSECA, 2007; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; USP, 2021). Possivelmente por conta dessa precipitação ocorrida nos experimentos Dissolução - Métodos 2, 3 e 4, observou-se a supressão da área da solução SQR gerando um cálculo errático da dissolução das amostras.

As demais condições de dissolução empregadas no experimento Dissolução - Método 5 (item 4.4.5.), foram mantidas e foi ainda testado a adição do tensoativo lauril sulfato de sódio nos percentuais de 0,1 %, 0,5 %, 1 % e 2 %.

O meio de dissolução com fosfato de sódio não gerou precipitação do tensoativo lauril sulfato de sódio com o sal fosfato de sódio e as áreas obtidas para as soluções SQR diluídas com as diferentes proporções do tensoativo demonstraram pouca variação da área da solução SQR. Na cuba com 0,1 % do tensoativo a média da área da solução SQR foi de 151168, com 0,5 % foi de 154416, com 1 % foi de 154704 e com 2 % foi 149168. Provavelmente com esse meio de dissolução foi possível obter resultados de percentuais dissolvidos das amostras mais acurados.

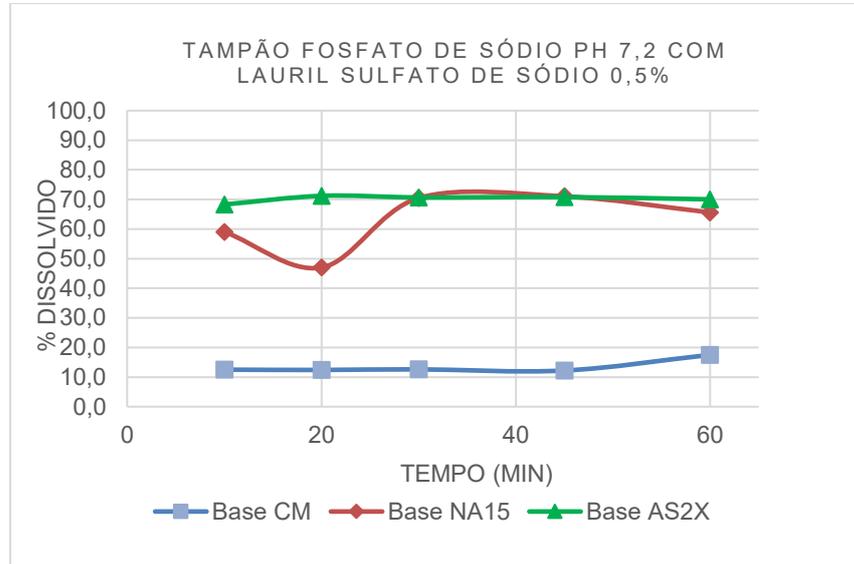
Os testes foram realizados com uma unidade de supositório por cuba para cada meio de dissolução e por isso não foi possível fazer cálculo do DPR% a cada tempo de coleta. Os resultados obtidos estão demonstrados nas figuras 41 a 44.

Figura 41 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 0,1 % de tensoativo



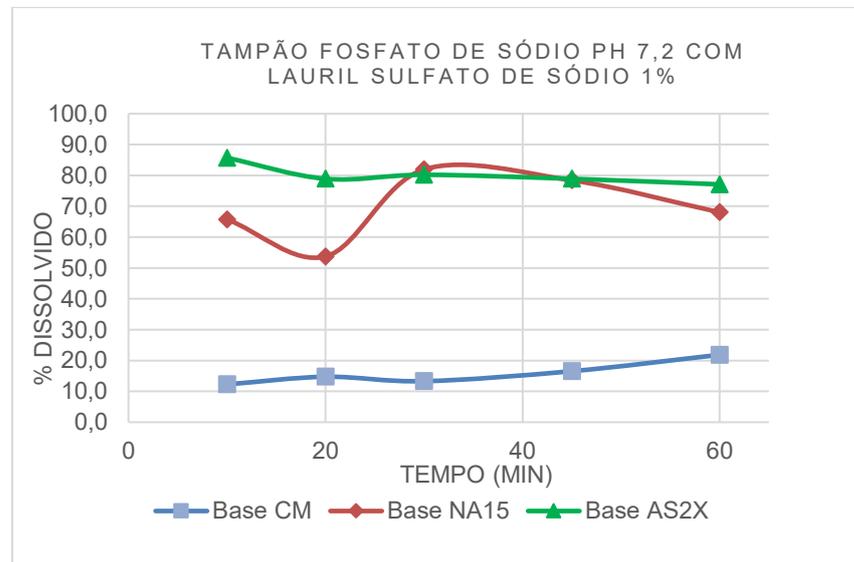
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 42 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 0,5 % de tensoativo



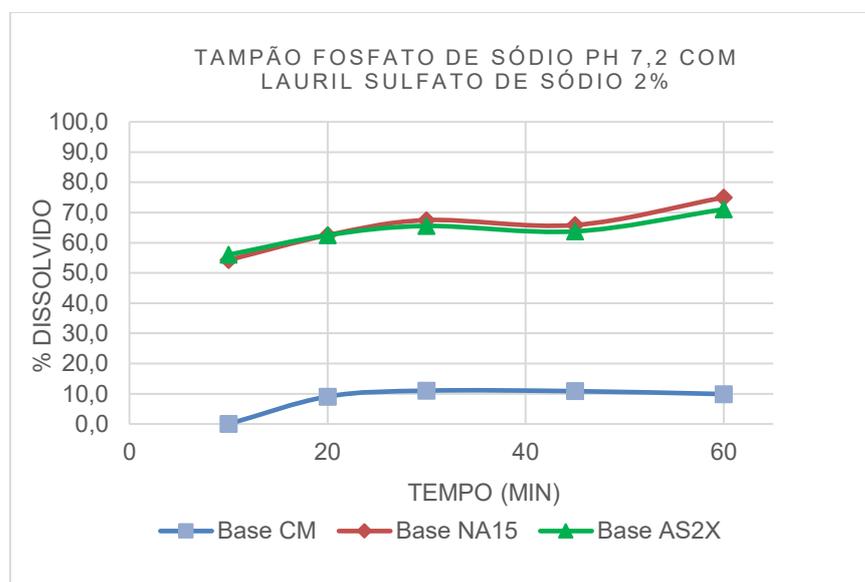
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 43 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 1 % de tensoativo



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Figura 44 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 800 µg do teste de dissolução do método 6 com 2 % de tensoativo



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados reforçaram que não havia possibilidade de emprego da base CM, devido à sua performance com baixo percentual dissolvido em todos os testes de dissolução realizados. A explicação para o fato é possivelmente devido à sua faixa de ponto de fusão com temperatura superior à temperatura corporal mimetizada pela temperatura utilizada no banho de dissolução, que provavelmente justifica o seu não derretimento total durante a dissolução ao longo do tempo (GATTEFFOSÉ, 2019).

As curvas do perfil de dissolução obtidas com o meio de dissolução de tampão fosfato de sódio pH 7,2 com lauril sulfato de sódio com os percentuais de 0,1 %, 0,5 %, 1 % e 2 % demonstraram diferentes comportamentos de acordo com a base e com a proporção do tensoativo. Nas proporções de 0,1 % e 0,5 % do tensoativo foi possível observar uma pequena separação entre as fases, enquanto nas proporções de 1 % e 2 % não ocorreu.

Para as unidades de supositórios produzidas com as bases NA15 e AS2X pôde ser observado no meio contendo 0,1 % do tensoativo, 79,4 % de dissolução máxima de misoprostol com a base NA15 no tempo de 30 minutos, enquanto para a base AS2X, a maior dissolução encontrada foi de 74,6 % em 45 minutos. Ao aumentar a proporção para 0,5 %, a base NA15 alcançou um resultado um pouco menor, com

71,15 % em 45 minutos e a base AS2X também reduziu a dissolução máxima para 70,8 % no mesmo tempo.

Com 1 % de tensoativo, os percentuais dissolvidos máximos para ambas as bases aumentaram em menor tempo, sendo alcançado 81,9 % para a base NA15 em 30 minutos e 85,7 % para base AS2X em 10 minutos, mas se mantendo por volta de 80 % ao longo de todo o tempo de dissolução.

Ao aumentar a proporção do tensoativo para 2 %, os resultados encontrados foram menores do que os obtidos para 1 % e em maior tempo. Na base NA15 a dissolução máxima obtida em 60 minutos foi de 75,0 % e para base AS2X 71,1 % em 45 minutos.

Por fim, entre as mesmas formulações não houve uma correlação direta % dissolvido com o aumento da concentração de lauril sulfato de sódio. Ao avaliar todos esses resultados, foi possível observar que com a base NA15 todas as curvas de perfil de dissolução foram mais heterogêneas entre os tempos de coleta nas proporções de 0,1 %, 0,5 % e 1 % do tensoativo, com flutuações do percentual dissolvido ao longo dos tempos de coleta variando de aproximadamente 50 % a 80 %.

As curvas do perfil dissolução com a base AS2X, nas mesmas proporções de tensoativo, demonstraram um perfil mais homogêneo, entre os tempos de coleta, se mantendo o percentual dissolvido mais constante entre todos os tempos de coleta e em percentuais maiores entre 70 % e 85 %, se mostrando, portanto, a base AS2X possivelmente a mais adequada à liberação desejada para o misoprostol. Como mencionado foi testada apenas uma unidade de cada, assim novos testes foram necessários para confirmar os resultados.

Os resultados obtidos com 2 % do tensoativo para as duas bases, apresentaram perfil de curva heterogêneo, entre os tempos de coleta, e com valores próximos entre si, que pode ter sido ocasionado pela maior proporção de tensoativo que diminuiu o poder discriminativo do método (ANVISA, 2021; BROWN *et al.*, 2004).

De acordo com os resultados obtidos optou-se por empregar o meio de dissolução contendo 1 % de lauril sulfato de sódio, por proporcionar um meio homogêneo após a dissolução do supositório, sem separação entre as fases e sem provocar grandes incrementos no % dissolvido quando comparado com o meio de dissolução contendo 0,1 % de lauril sulfato de sódio. Novos testes foram realizados

para confirmação dos resultados obtidos. Seguiram nessa parte do trabalho as bases NA15 e AS2X.

#### 4.4.7 Dissolução - Método 7

Este foi o último teste realizado, antes do início da validação, para estabelecer método final descrito no item 4.2.4. O teste foi realizado com 6 unidades do supositório de misoprostol 600 µg das bases NA15 e AS2X, com concentração final das amostras e da solução SQR de 2,0 µg/mL. Os parâmetros de dissolução foram:

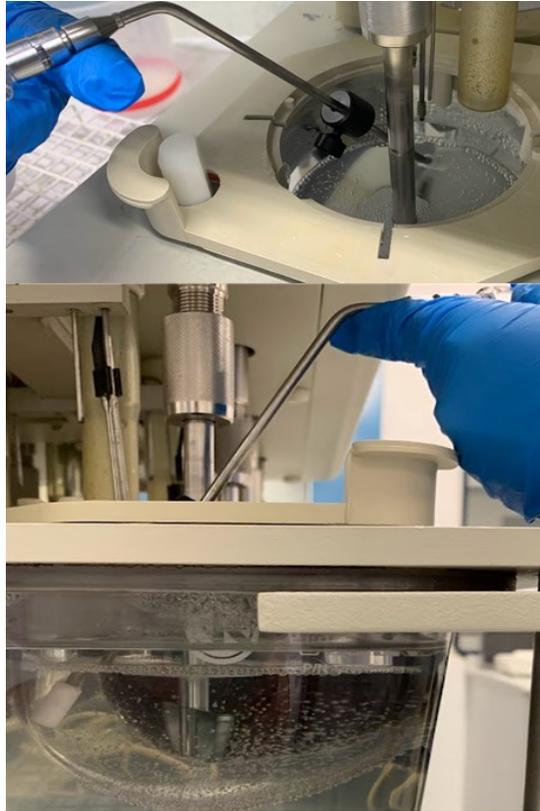
- Aparato: pá com âncora de aço do tipo espiral;
- Rotação: 75 rpm;
- Temperatura do banho: 37°C;
- Meio de dissolução: tampão fosfato de sódio pH 7,2 com lauril sulfato de sódio 1%;
- Volume de meio: 300 mL;
- Tempos de coleta: 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos;
- Volume de coleta: 5 mL;
- Tipo de coleta: manual com filtro de 35 µm;
- Filtração para o *vial*: com filtro seringa PVDF de 0,45 µm da marca Millex.

O volume do meio selecionado de 300 mL estava acima do mínimo de 250 mL (ANVISA, 2021) e foi uma modificação importante para manter a concentração final, com a nova dose do supositório, dentro das limitações do método junto ao HPLC em relação ao limite de quantificação observado até o momento e ainda para mimetizar o baixo volume dos fluidos retais (AULTON; TAYLOR, 2016; JANNIN *et al.*, 2014).

Foram acrescentados os tempos de coleta em 5 e 15 minutos para acompanhar de forma mais adequada o processo de derretimento da unidade e liberação do fármaco.

As coletas foram realizadas em um ponto específico entre o fundo da cuba e a superfície do meio e sem contato com a pá em movimento (figura 45).

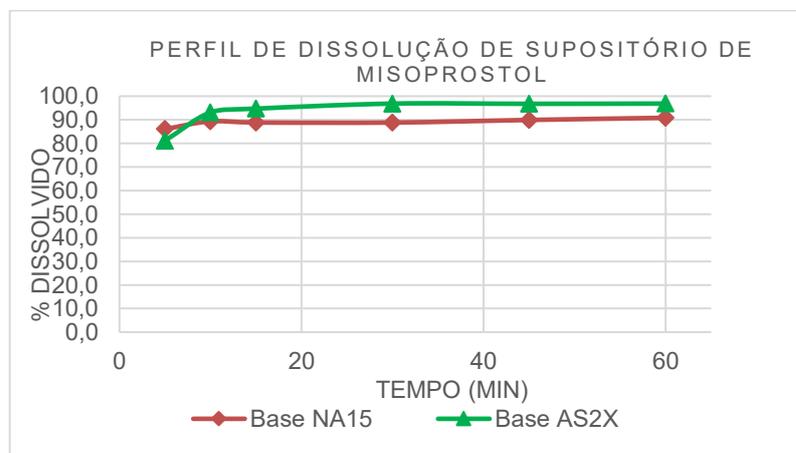
Figura 45 – Ponto de coleta na cuba com volume de 300 mL de meio de dissolução



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados obtidos para o perfil de dissolução para as bases NA15 e AS2X estão demonstrados na figura 46.

Figura 46 – Gráfico com os resultados das amostras de supositório de misoprostol 600 µg do teste de dissolução do método 7



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2021).

Os resultados obtidos indicaram mais uma vez maior dissolução com a base AS2X, em relação à NA15, e uma liberação adequada de ambas com 1 % do tensoativo no meio de dissolução.

A alteração do volume e concentração final foi considerada satisfatória para ambas as bases, dado o percentual de dissolução alcançado maior que 80 % para ambas as bases já em 10 minutos de dissolução, demonstrando a rápida liberação do misoprostol sob a forma farmacêutica de supositório, o que é uma característica desejável para o uso pretendido para o supositório de misoprostol (FEBRASGO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; OPAS, 2018b). Além disso, método tem preparo relativamente simples e é de fácil execução.

O desempenho superior obtido com a base AS2X pode ser justificado por sua composição, em relação às outras bases testadas, por apresentar a faixa do ponto de fusão mais próxima à temperatura corporal de 37°C e por seu alto valor de hidroxila. Segundo Jannin e colaboradores (2014), os grupos de hidroxilas livres da base interferem na sua capacidade de interação com a água e, desta forma, podem aumentar a taxa de dissolução do fármaco.

A presença do tensoativo polissorbato em sua composição pode também ter contribuído, pois Hanaee e colaboradores (2004), sugerem que o polissorbato presente na base pode diminuir a tensão interfacial entre o supositório e o meio de dissolução e desta forma, aumentar a dispersibilidade da base e com isso aumentar a taxa de liberação do fármaco da base. Também foi encontrada maior liberação do fármaco com a base AS2X no trabalho conduzido por Berkó e colaboradores (2002). Mas ainda assim, as duas bases (NA15 e AS2X) seguiram para a etapa de validação da metodologia desenvolvida.

#### **4.5 Análise de validação do método de doseamento do supositório de misoprostol**

A validação de doseamento foi conduzida com o método desenvolvido conforme o item 3.2.3.3.

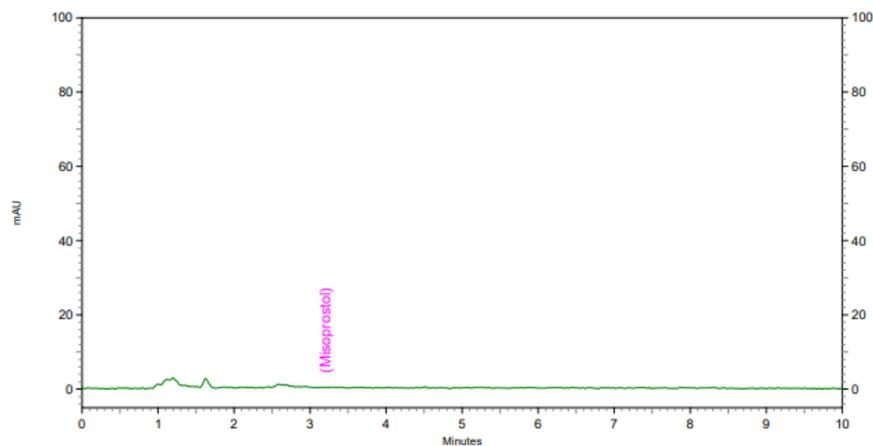
Os testes foram conduzidos com as unidades selecionadas a partir do peso médio das amostras de supositórios de misoprostol 600 µg da base NA15 (Lotes

P2111082, P2111083, P2111084 e P2111085) e da base AS2X (Lotes P2111086, P2111087, P2111088 e P2111089) e com os supositórios de HPMC da base NA15 (Lote P2108068) e da base AS2X (Lote P2108069).

#### 4.5.1 Seletividade/ Especificidade

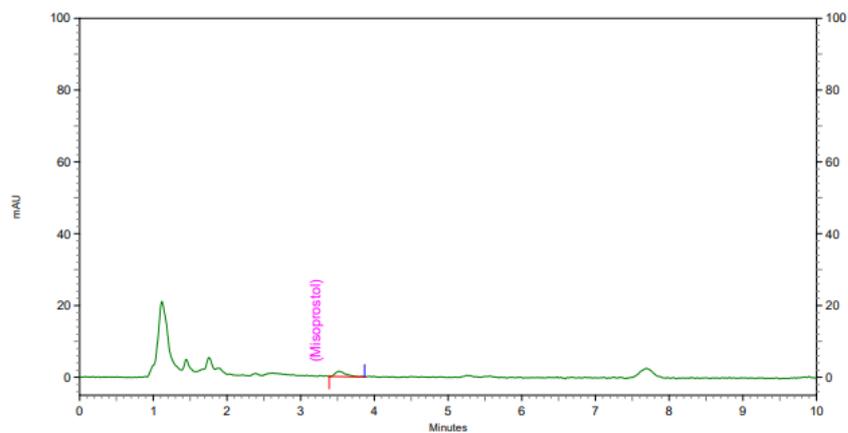
A seletividade foi comprovada através da análise dos cromatogramas das soluções do branco da amostra (solução diluente) e do placebo (supositório de HPMC) que não identificaram a presença de picos que apresentem no mesmo tempo de retenção do pico principal do analito (misoprostol), conforme demonstrado nas figuras 47 a 49.

Figura 47– Cromatograma da amostra de branco (solução diluente) do teste de seletividade do método de doseamento



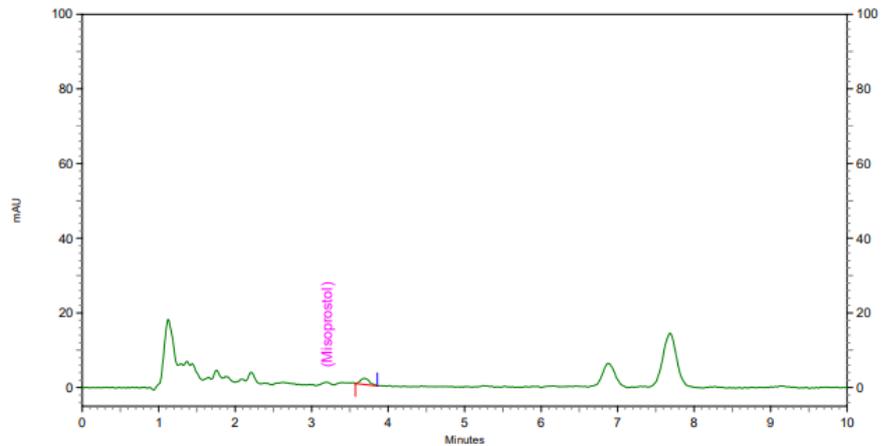
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 48 – Cromatograma da amostra de supositório placebo (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

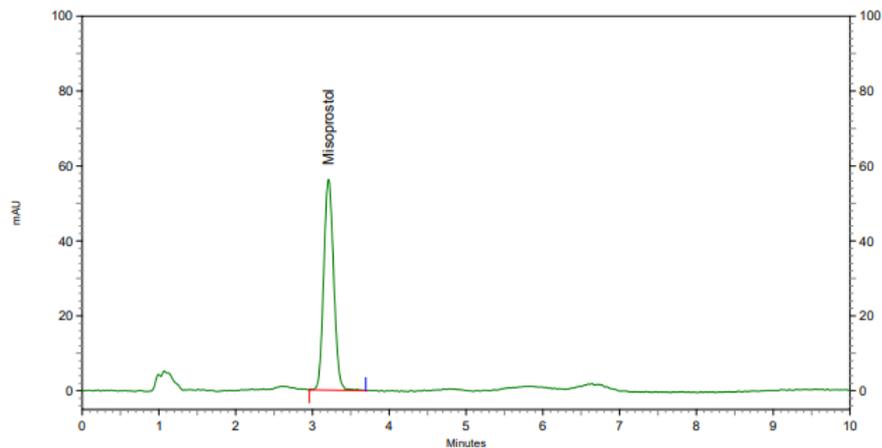
Figura 49 – Cromatograma da amostra de placebo (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

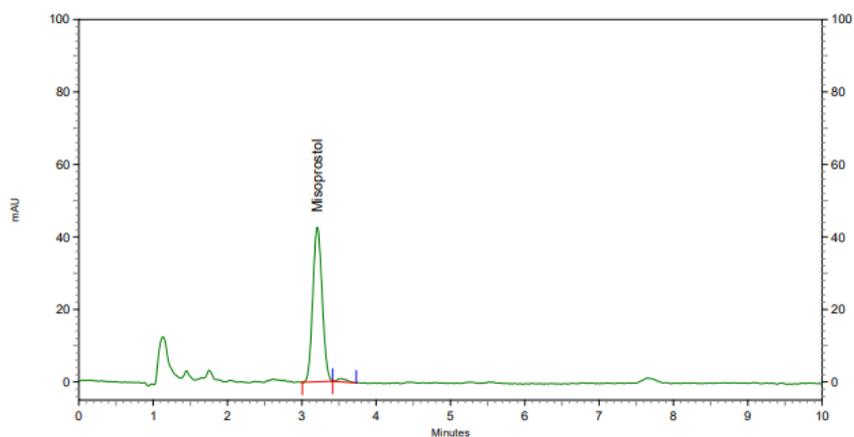
A análise visual do tempo de retenção, em 3,2 minutos, e do formato dos picos da solução SQR de misoprostol e das amostras de supositórios de misoprostol 600 µg, evidenciou que não havia deformação ou irregularidades que indicassem uma possível coeluição de outros picos com o do analito a ser dosado, conforme o demonstrado nas figuras 50 a 52.

Figura 50 – Cromatograma da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método de doseamento



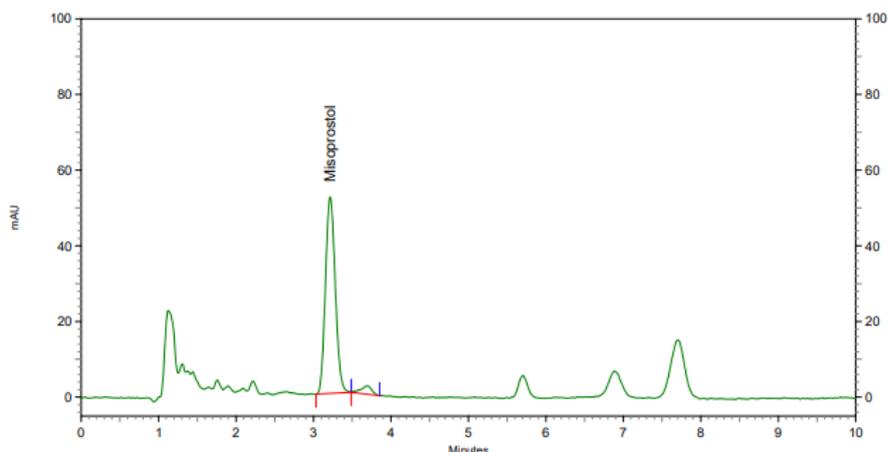
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 51 – Cromatograma da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 52 – Cromatograma da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

A especificidade foi demonstrada somente pela da análise de pureza cromatográfica/ pureza de pico, que é uma técnica avaliativa para detecção de coeluição de possíveis impurezas com o pico principal do analito, realizada pelo detector de arranjo de fotodiodos (DAD) que gera espectros UV-Visível (BRASIL, 2017a; PAPADOYANNIS; GIKA, 2004). Como não foi possível a obtenção das impurezas, não foram avaliadas.

O teste foi realizado com auxílio do software EZChrom Elite (Versão 3.3.2) do detector de arranjo de fotodiodos do cromatógrafo Merck-Hitachi Lachrom Elite, que

realizou varredura, na faixa de 200 a 400 nm e traçou os espectros no UV do pico do fármaco misoprostol.

A primeira análise realizada foi a similaridade do pico, que avalia o início, meio e fim do pico do espectro de absorção no UV gerado em cada tempo (SNYDER *et al.*, 1997). A partir da análise visual dos cromatogramas obtidos para solução SQR de misoprostol e amostras de supositórios de misoprostol 600 µg (figuras 48, 49 e 50) verificou-se que os espectros podiam ser sobrepostos em seu tempo de retenção (3,2 minutos) demonstrando que o pico principal era atribuído a um só fármaco e que não havia presença de interferentes (SNYDER *et al.*, 1997).

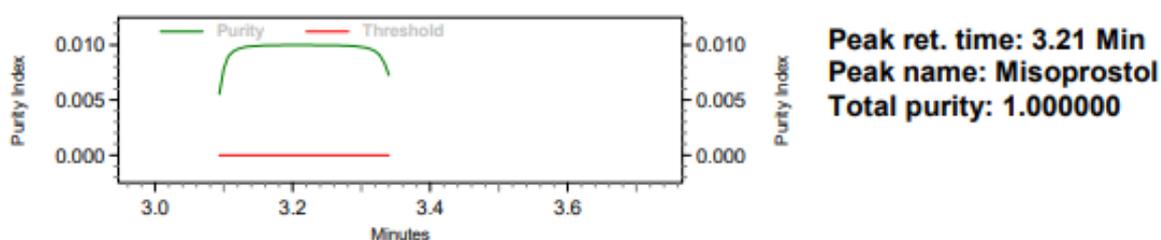
A segunda análise, de pureza do pico, foi realizada através do gráfico do tipo “*ratio*gram”, construído pelo software, que plota a razão entre as absorbâncias, em 2 comprimentos de onda, em função do tempo de corrida. A razão deve ser menor que 1 e o gráfico deve ter a forma retangular, a fim de mostrar que a razão é uma constante (SNYDER *et al.*, 1997). Nas figuras 53, 54 e 55 é possível observar para solução SQR de misoprostol e amostras de supositórios de misoprostol 600 µg gráficos do tipo “*ratio*gram” retangular, mostrando que a razão foi constante e com alto índice de similaridade, com índice de pureza de 1.

Figura 53 – Pureza de pico da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método de doseamento

## Purity Report

All named detected peaks

### Multi-Chrom 1 (1: 202 nm, 4 nm)



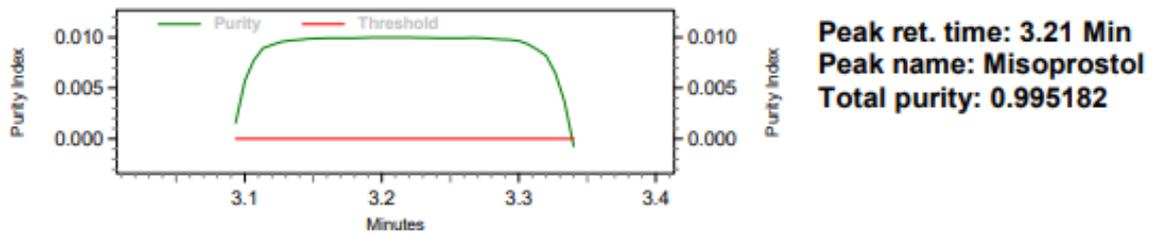
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 54 – Pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do teste de seletividade do método de doseamento

## Purity Report

All named detected peaks

Multi-Chrom 1 (1: 202 nm, 4 nm)



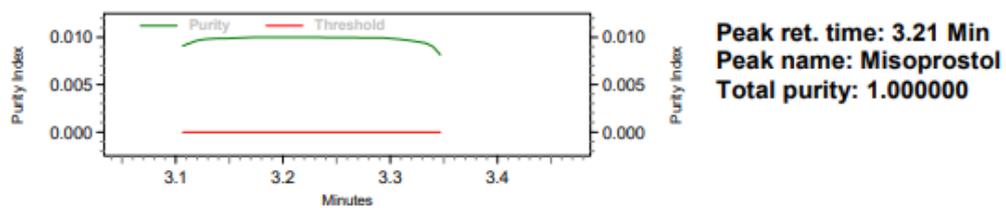
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 55 – Pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento

## Purity Report

All named detected peaks

Multi-Chrom 1 (1: 202 nm, 4 nm)



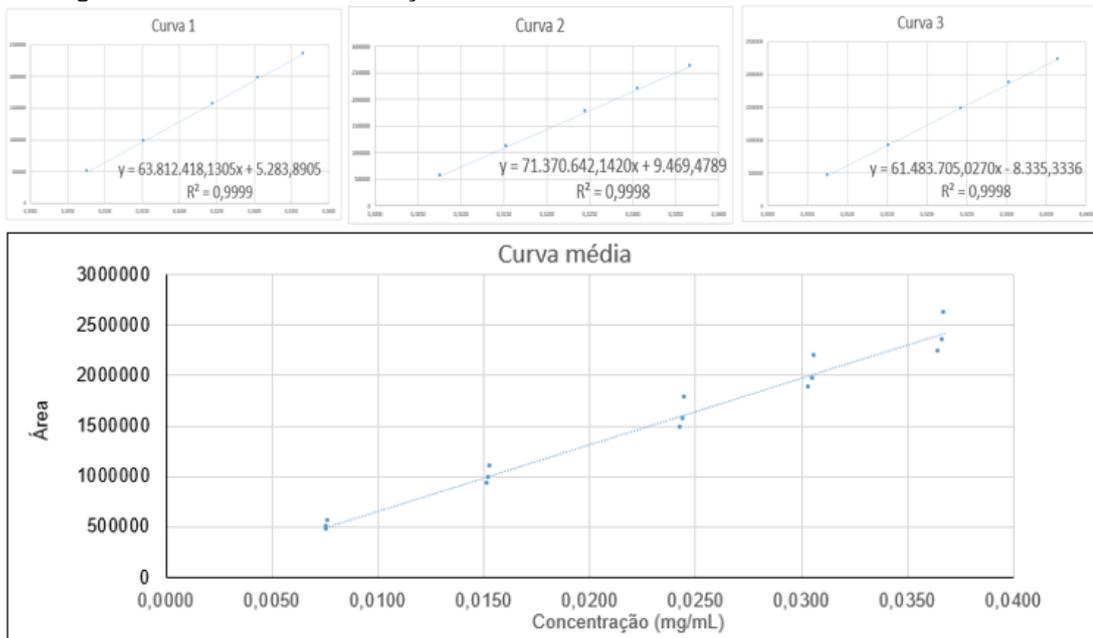
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Com os resultados obtidos foi possível afirmar que o método é seletivo e específico para o fármaco misoprostol. Por se tratar de base lipofílica com muitos componentes, foi de grande importância desses parâmetros.

#### 4.5.2 Linearidade

A linearidade foi determinada através da análise visual da curva média de concentração *versus* área. A curva média foi preparada a partir de três curvas padrão preparadas com 5 pontos cada, com concentrações de 7,5 a 35 µg/mL (figura 56).

Figura 56 – Curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Os parâmetros médios provenientes das curvas estão descritos na tabela 21.

Tabela 21 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento

CURVAS	INTERCEPTO	MÉDIA	INCLINAÇÃO	MÉDIA	COEFICIENTE CORRELAÇÃO	MÉDIA
1	5283,89	7696,23	63812418,13	67591530,14	0,9999	0,9998
2	9469,48		71370642,14		0,9998	
3	8335,33		61483705,03		0,9998	

A análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, para as três curvas preparadas, apresentou coeficientes de correlação superiores a 0,999, demonstrando baixa dispersão dos dados e alta correlação linear. Enquanto os valores

de inclinação (coeficientes angulares) foram significativamente diferentes de zero (RIBANI *et al.*, 2004; BRASIL, 2017a).

Foi realizada também, a avaliação da homocedasticidade pelo teste de Cochran. Os resultados obtidos estão descritos na tabela 22.

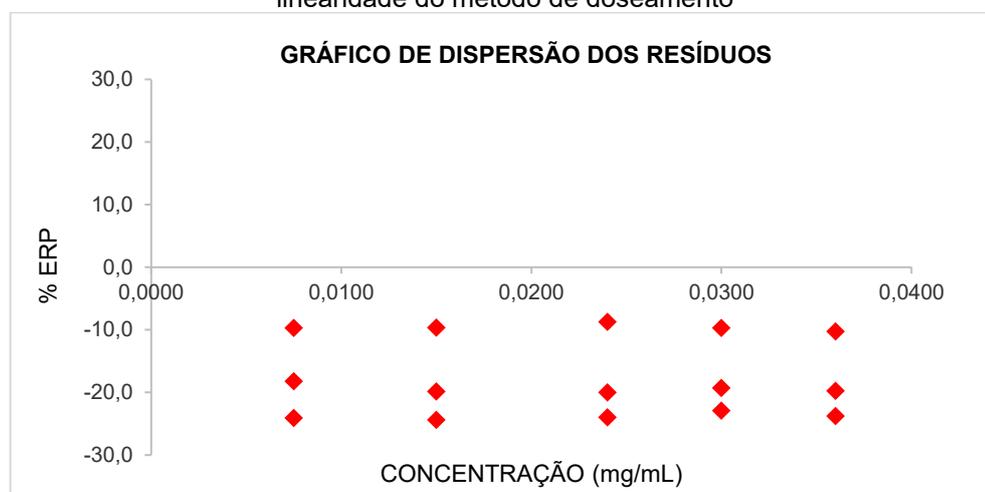
Tabela 22 – Resultados da homoscedasticidade do teste de linearidade do método de doseamento

NÍVEL (%)	MÉDIA ÁREA	DP	VARIÂNCIA (S <sup>2</sup> )	S <sup>2</sup> <sub>máx</sub>	C <sub>CALC</sub>	C <sub>TAB 5%</sub>	C <sub>CALC</sub> < C <sub>TAB</sub>
25	502967	39227	1,5E+09	32745209944,567	0,3989	0,6838	SIM
50	998409	82193	6,8E+09				
80	1604709	137775	1,9E+10				
100	2012488	148519	2,2E+10				
120	2396432	180956	3,3E+10				

Através da análise de variância pelo teste F, os dados foram considerados homocedásticos porque o C calculado obtido foi menor do que C tabelado, usando um nível de significância de 5 %. Desta maneira, pôde-se afirmar com 95 % de confiança que o método é linear (BRASIL, 2017a; CALLEGARI-JACQUES, 2009).

Foi feita ainda a análise de dispersão dos resíduos através do cálculo do erro relativo percentual (% ERP), que compara a concentração obtida experimentalmente com a concentração nominal, sendo os dados obtidos apresentados em um gráfico de dispersão para avaliação dos valores dos erros em função da concentração (FRANCISCO, 2008; PINTO, 2018). Os resultados obtidos indicam maiores desvios das concentrações próximas ou iguais ao limite inferior da curva de calibração, conforme figura 57.

Figura 57 – Gráfico de distribuição % ERP *versus* concentração da análise de dispersão do teste de linearidade do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022)

A análise estatística para verificar a homocedasticidade dos resultados obtidos foi realizada conforme descrito por Francisco (2008), através do cálculo empregando a razão entre as variâncias das concentrações limites da curva de calibração e do teste F para um nível de confiança a 95 % (BRASIL, 2017a; FRANCISCO, 2008; PINTO, 2018). O valor calculado ( $F_{\text{calc}}$ ) foi menor do que o F encontrado na tabela ( $F_{\text{tab}}$ ) indicando que a homoscedasticidade foi cumprida, conforme tabela 23.

Tabela 23 – Resultados da análise de dispersão do teste de linearidade do método de doseamento

$F_{\text{CALC}}$	$F_{\text{TAB } 5\%}$	$F_{\text{CALC}} < F_{\text{TAB}}$
2,13E+01	6,39	SIM

#### 4.5.3 Precisão

O teste de precisão foi realizado com os supositórios das bases NA15 e AS2X, e avaliado segundo os valores do DPR (%) apresentados na tabela 24 e 25.

Tabela 24 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base NA15) do método de doseamento

AMOSTRA	MASSA DA AMOSTRA (mg)	ÁREA MÉDIA	TEOR (mg/mL)	TEOR (%)	MÉDIA (%)	DPR (%)
AM1	2157,76	1431227	0,4433	73,89	76,3	2,2
AM2	2153,90	1457580	0,4523	75,39		
AM3	2158,75	1471815	0,4557	75,95		
AM4	2158,56	1491162	0,4617	76,96		
AM5	2160,13	1495374	0,4627	77,12		
AM6	2156,97	1523908	0,4722	78,70		

Os resultados obtidos para os supositórios de misoprostol 600 µg da base NA15 mostraram teores abaixo do mínimo almejado de 90 %, conforme os testes de doseamento das monografias de supositórios das Farmacopeias Americana e Japonesa (JP, 2016; USP, 2021). Dessa forma, ficou evidente que havia um problema de extração, mesmo com DPR (%) adequado, ou ainda na sua produção manual e por isso, os supositórios dessa base não seguiram nos testes seguintes da validação, uma vez que os resultados de teor não foram satisfatórios.

Tabela 25 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do método de doseamento

AMOSTRA	MASSA DA AMOSTRA (mg)	ÁREA MÉDIA	TEOR (mg/mL)	TEOR (%)	MÉDIA (%)	DPR (%)
AM1	2220,39	1730342	0,5472	91,20	94,8	5,1
AM2	2252,43	1988091	0,6198	103,29		
AM3	2218,62	1846263	0,5843	97,39		
AM4	2230,81	1728590	0,5441	90,68		
AM5	2242,72	1757642	0,5503	91,71		
AM6	2239,68	1804008	0,5656	94,26		

Os resultados dos supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X apresentaram teores dentro da faixa 90 – 110 % (JP, 2016; USP, 2021) e com o DPR (%) de 5,1 %, menor que a especificação de 7,3 %, estabelecida a partir da

concentração final da solução (AOAC, 2016). O método proposto possuiu repetibilidade adequada, sendo aprovado para precisão (BRASIL, 2017a).

Acredita-se que a base AS2X apresentou melhor desempenho com o fármaco misoprostol devido à sua composição, com maior valor de hidroxila, faixa de ponto de fusão e presença do tensoativo polissorbato, conforme discutido no desenvolvimento do método de dissolução no item 4.4.7.

Foi ainda realizado um teste de precisão intermediária, somente para a base AS2X, sendo as amostras preparadas sob as mesmas condições por outro analista (analista b) e os resultados obtidos descritos na tabela 26.

Tabela 26 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do método de doseamento

AMOSTRA	ANALISTA B						ANALISTA A	DPR <sub>A-B</sub> (%) CUMULATIVO
	MASSA AM (mg)	ÁREA MÉDIA	TEOR (mg/mL)	TEOR (%)	MÉDIA (%)	DPR (%)	TEOR (%)	
AM1	2279,98	1746721	0,5572	92,86	92,8	0,9	91,20	3,7
AM2	2277,20	1734515	0,5539	92,32			103,29	
AM3	2270,25	1767394	0,5662	94,36			97,39	
AM4	2283,63	1750863	0,5576	92,93			90,68	
AM5	2273,51	1726248	0,5522	92,03			91,71	
AM6	2277,36	1736422	0,5545	92,42			94,26	

Os resultados de DPR encontrados para os supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X, indicaram a reprodutibilidade do método, devido ao grau de concordância obtido entre os analistas, sendo possível afirmar que a metodologia proposta era precisa.

#### 4.5.4 Limite de quantificação

A partir das curvas de calibração dos fármacos, obtidas no teste de linearidade (4.5.2.), foram estimados os limites teóricos de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) do método, conforme o cálculo descrito na RDC nº 166/2017. No qual, o LQ é calculado por 10 vezes o desvio padrão do intercepto das 3 curvas de

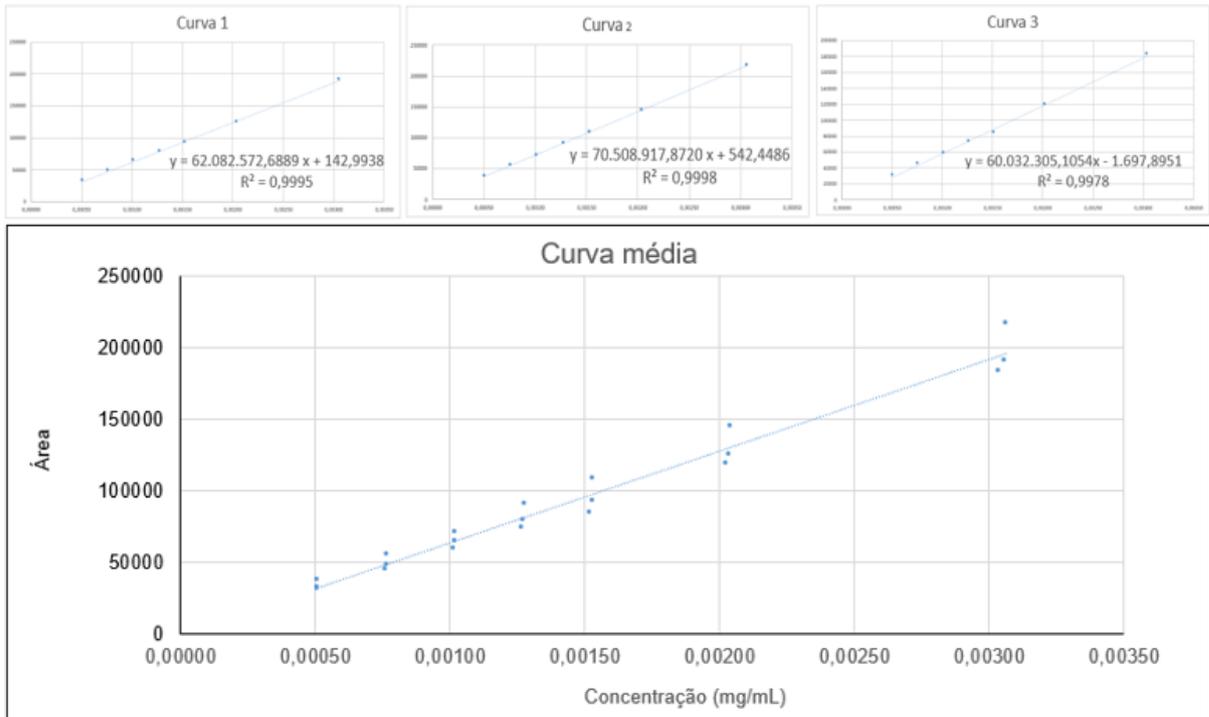
calibração divididos pela média de inclinação das três curvas de calibração. Enquanto para calcular o LD, o desvio padrão do intercepto é multiplicado por 3,3 e dividido pela média de inclinação (BRASIL, 2017a).

O resultado encontrado para LD foi de 0,10 µg/mL e do LQ de 0,32 µg/mL.

Após estabelecer os limites teóricos, foi realizado o teste de linearidade com três curvas padrão com concentrações de 0,5 a 3,0 µg/mL, a fim de se estabelecer o LQ experimental, adequado ao método e de acordo com o HPLC disponível.

A curva de linearidade com as médias obtidas está demonstrada na figura 58 e os resultados obtidos na tabela 27.

Figura 58 – Curvas de calibração do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Tabela 27 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento

CURVAS	INTERCEPTO	MÉDIA	INCLINAÇÃO	MÉDIA	COEFICIENTE CORRELAÇÃO	MÉDIA
1	5283,89	794,45	62082572,69	66295745,28	0,9995	0,9990
2	9469,48		70508917,87		0,9998	
3	8335,33		60032305,1054		0,9978	

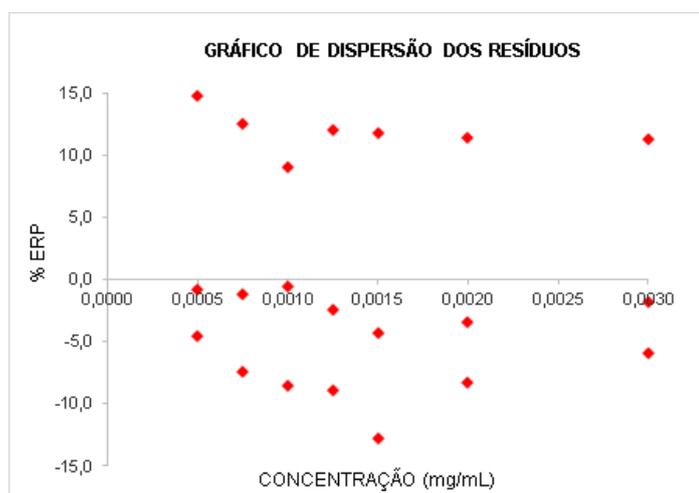
A análise de regressão linear seguiu os mesmos critérios de avaliação utilizados no teste de linearidade descrito no item 4.5.2. O teste foi considerado aprovado por terem sido obtidos coeficientes de correlação superiores a 0,999 e valores de inclinação diferentes de zero (BRASIL, 2017a; RIBANI *et al.*, 2004). A avaliação da homocedasticidade por Cochran, cujos resultados estão descritos na tabela 28, resultou na confirmação de que os dados eram homocedásticos porque o C calculado foi menor do que C tabelado.

Tabela 28 – Resultados da homocedasticidade do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento

NÍVEL	MÉDIA ÁREA	DP	VARIÂNCIA (S <sup>2</sup> )	S <sup>2</sup> <sub>máx</sub>	C <sub>CALC</sub>	C <sub>TAB 5%</sub>	C <sub>CALC</sub> < C <sub>TAB</sub>
1	33453	3009	9,1E+06	244617733,600	0,3907	0,5612	SIM
2	49303	4430	2,0E+07				
3	64866	5151	2,7E+07				
4	81269	7823	6,1E+07				
5	95563	11114	1,2E+08				
6	129606	11897	1,4E+08				
7	196922	15640	2,4E+08				

A análise de dispersão dos resíduos demonstrou desvios positivos e negativos das concentrações, conforme figura 59.

Figura 59 – Gráfico de distribuição % ERP *versus* concentração da análise de dispersão do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Os resultados descritos na tabela 29, comprovaram a homoscedasticidade.

Tabela 29 – Resultados da análise de dispersão do teste de linearidade no nível do LQ do método de doseamento

F <sub>CALC</sub>	F <sub>TAB 5%</sub>	F <sub>CALC</sub> < F <sub>TAB</sub>
2,70E+01	4,28	SIM

Após realizar o teste de linearidade do LQ foi possível estabelecer o LQ experimental, de 1 µg/mL, através de um teste de precisão com o preparo de 6 réplicas de amostras, conforme os resultados disponíveis na tabela 30.

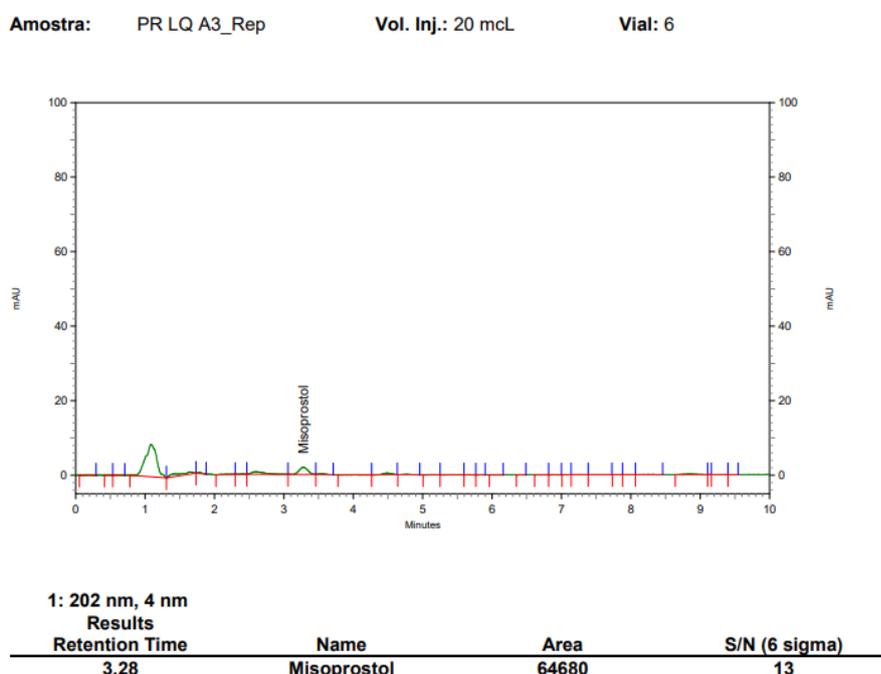
Tabela 30 – Resultados do teste de precisão no nível do LQ do método de doseamento

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	RECUPERAÇÃO (%)	MÉDIA (%)	DPR (%)
AM1	63186	0,00096	94,10	97,9	3,2
AM2	63466	0,00096	94,51		
AM3	65069	0,00099	96,90		
AM4	67340	0,00102	100,28		
AM5	67139	0,00102	99,98		
AM6	68181	0,00103	101,54		

O valor do DPR entre as replicatas da solução amostra encontrado foi menor que 11 %. O percentual de recuperação entre a concentração média experimental e a respectiva concentração teórica estava dentro do intervalo de 80 – 110 %, estabelecido a partir da concentração final da solução (AOAC, 2016).

O sinal-ruído é calculado pelo software EZChrom Elite (versão 3.3.2) do cromatógrafo Merck-Hitachi Lachrom Elite, e a média de sinal-ruído obtida foi de 50, sendo 13 a menor relação encontrada para a amostra 3, conforme figura 60.

Figura 60 – Cromatograma com cálculo do sinal-ruído da amostra 3 do teste de precisão no nível do LQ do método de doseamento



Os resultados de sinal-ruído obtidos foram aprovados no critério da RDC nº 166/2017 (BRASIL, 2017a) de ser no mínimo 10:1.

Portanto, é possível afirmar que o método proposto apresentou sensibilidade adequada as concentrações empregadas no método proposto.

#### 4.5.5 Exatidão

A exatidão foi calculada pelo procedimento de adição padrão em três níveis de concentração da solução SQR de misoprostol na solução placebo (supositório de

HPMC da base AS2X), conforme descrito no item 3.2.5.5. Os resultados estão apresentados na tabela 31.

Tabela 31 – Resultados do teste de exatidão do método de doseamento

CONC. (%)	RÉPLICA	CONC TEÓRICA (mg/mL)	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	RECUPERAÇÃO (%)	MÉDIA RECUPERAÇÃO (%)	DPR (%)
80	1	0,0244	1561835	0,0243	99,5	101,9	4,7
	2	0,0246	1564416	0,0244	98,9		
	3	0,0243	1676521	0,0261	107,4		
100	1	0,0306	1935447	0,0301	98,6	98,5	0,4
	2	0,0308	1956062	0,0305	98,9		
	3	0,0304	1913993	0,0298	98,1		
120	1	0,0367	2410013	0,0375	102,3	100,7	1,4
	2	0,0370	2374200	0,0370	100,0		
	3	0,0365	2332959	0,0363	99,6		

Os resultados de percentual de recuperação referem-se a razão entre concentração experimental e a concentração teórica. E as médias obtidas para cada nível foram aprovadas, por estarem compreendidas no intervalo de 80 - 110% (AOAC, 2016).

Para cada nível de concentração, também foi avaliada a variabilidade entre as réplicas, sendo o teste considerado aprovado por apresentar DPR menor que 7,3% (AOAC, 2016). Portanto, de acordo com os resultados obtidos, pode-se verificar que a metodologia aplicada foi capaz de medir com exatidão o fármaco misoprostol na presença de outros componentes da solução placebo.

#### 4.5.6 Robustez

A robustez da metodologia proposta deve mostrar segurança em relação às possíveis variações dos parâmetros estabelecidos no método. Esse ensaio foi realizado com alteração no parâmetro de fase móvel, a fim de avaliar o comportamento do pico de misoprostol para solução SQR e amostra de supositório

somente da base AS2X. O mesmo *via* foi injetado com fase móvel nas proporções de 62 % de acetonitrila/ 38 % de água, com 58 % de acetonitrila/ 42 % de água e a do método, utilizada na validação, com 60 % de acetonitrila/ 40 % de água. Os resultados obtidos foram próximos entre si, indicando que o método era robusto, conforme demonstrados na tabela 32.

Tabela 32 – Resultados do teste de robustez do método de doseamento

FASE MÓVEL	ÁREA MÉDIA SQR	ÁREA MÉDIA AMOSTRA	TEMPO RETENÇÃO SQR (min)	TEMPO RETENÇÃO AMOSTRA (min)
60/40	1987162	1300488	3,2	3,2
62/38	1948972	1298212	3,0	3,0
58/42	1957014	1399918	3,5	3,5

Ao longo do desenvolvimento muitos parâmetros foram avaliados e já inseridos ao longo do trabalho, uma vez que, a robustez perpassa todas as etapas. Os resultados da validação foram adequados e cumpriram os critérios estabelecidos. Dessa forma, o método se mostrou eficaz para ser empregado na análise de doseamento do misoprostol na forma farmacêutica de supositórios.

#### 4.6 Análise de validação do método de dissolução do supositório de misoprostol

A validação de dissolução foi conduzida com o método desenvolvido conforme item 4.4 e realizada com o método descrito no item 3.2.4.

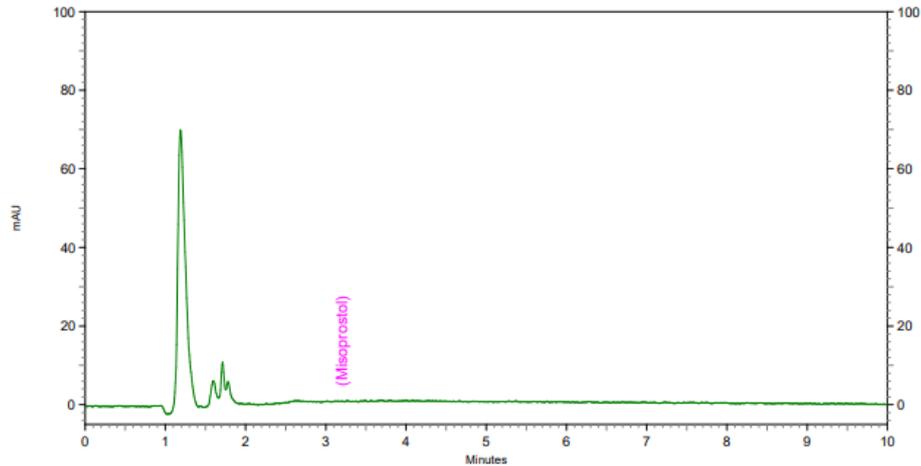
Os testes foram conduzidos com as unidades selecionadas a partir do peso médio das amostras de supositórios de misoprostol 600 µg somente AS2X (Lotes P2111086, P2111087, P2111088 e P2111089) e com os supositórios de HPMC da mesma base (Lote P2108069), uma vez que as amostras da base NA15 foram excluídas dessa etapa por conta das limitações analíticas encontradas na validação do doseamento.

##### 4.6.1 Seletividade/ Especificidade

A comprovação da seletividade do método se deu através da análise dos cromatogramas obtidos para solução diluente e do placebo com supositório de HPMC

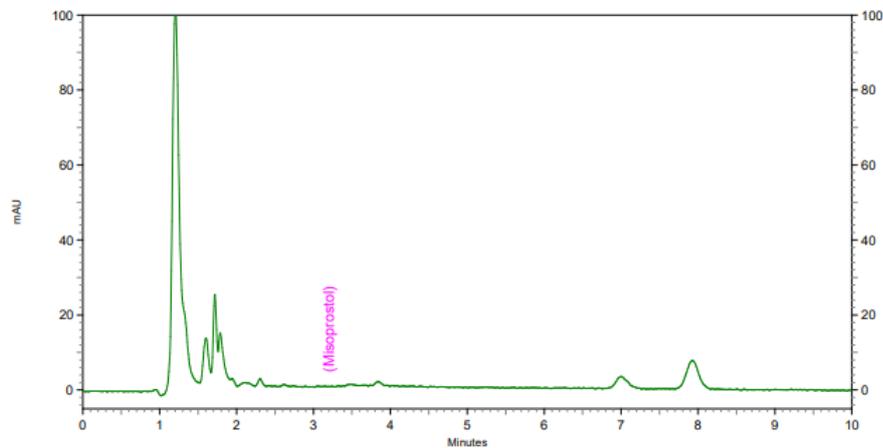
da base AS2X, não sendo identificada presença de picos no mesmo tempo de retenção do misoprostol, em 3,4 minutos, conforme demonstrado nas figuras 61 e 62.

Figura 61 – Cromatograma da amostra de branco (solução diluente) do teste de seletividade do método de dissolução



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Figura 62 – Cromatograma da amostra de placebo (base AS2X) do teste de seletividade do método de dissolução



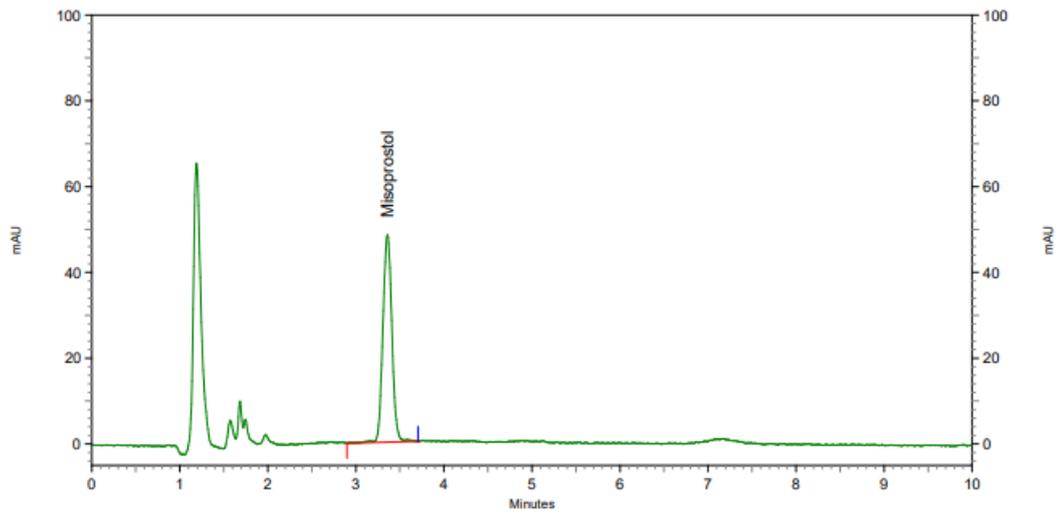
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Também pela análise visual da solução SQR de misoprostol e da amostra de supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X foi observado que não havia irregularidades ou deformações no formato dos picos, indicando que não havia coeluição de outros picos com o do misoprostol, conforme o demonstrado nas figuras 63 e 64 (PAPADOYANNIS; GIKA, 2004).

Na análise da pureza de pico das mesmas amostras, foi possível observar que os espectros obtidos eram sobreponíveis, sendo, portanto, o pico principal atribuído a um só fármaco sem a presença de interferentes. Os gráficos do tipo “*ratio*gram”

obtidos estavam com o formato retangular e alto índice de similaridade próximo a 1, comprovando a especificidade do método (SNYDER *et al.*, 1997).

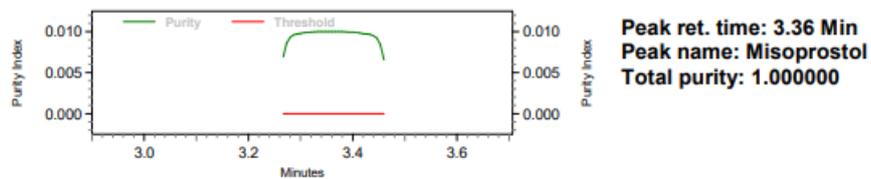
Figura 63 – Cromatograma e pureza de pico da amostra de solução SQR de misoprostol do teste de seletividade do método dissolução



### Purity Report

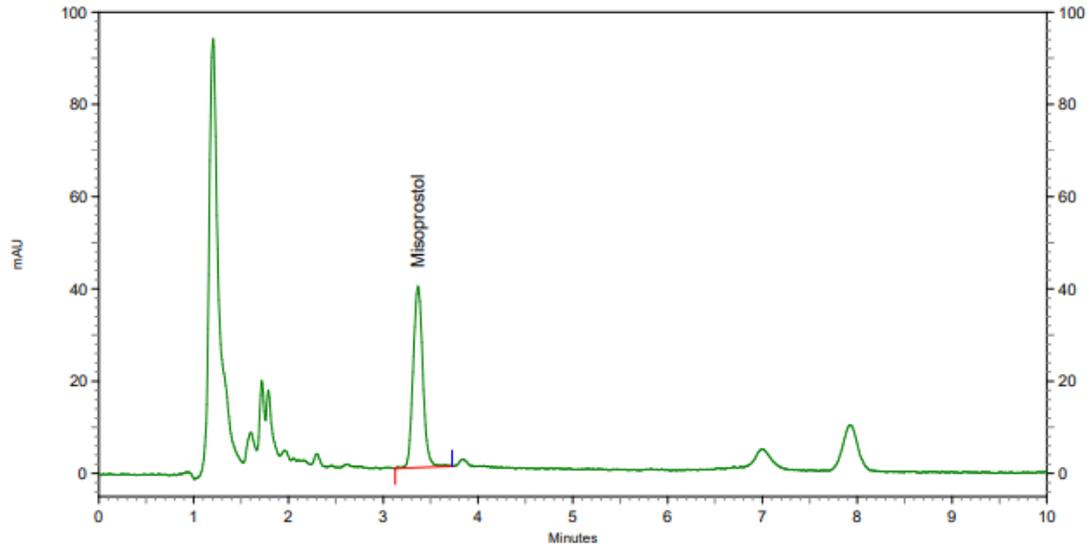
All named detected peaks

Multi-Chrom 1 (1: 202 nm, 4 nm)



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

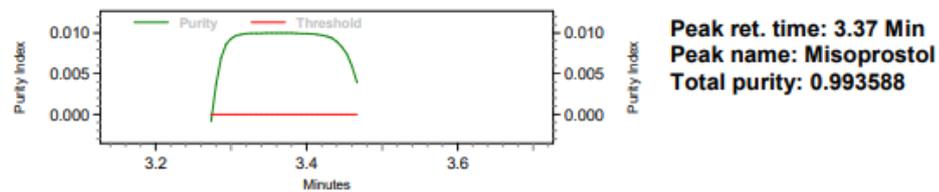
Figura 64 – Cromatograma e pureza de pico da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) do teste de seletividade do método de doseamento dissolução



### Purity Report

All named detected peaks

Multi-Chrom 1 (1: 202 nm, 4 nm)



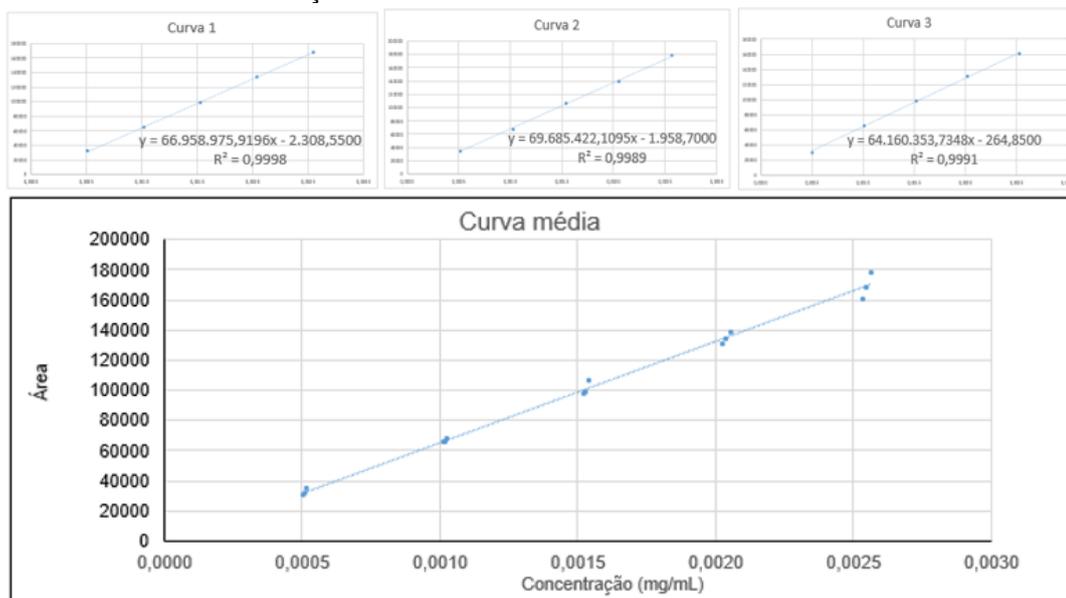
Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Portanto, o método proposto demonstrou ser seletivo e específico para o fármaco misoprostol.

#### 4.6.2 Linearidade

A linearidade do método foi determinada a partir do preparo de três curvas com 5 pontos cada, com concentrações de 0,5 a 2,5 µg/mL. A análise visual da curva média obtida está demonstrada na figura 65.

Figura 65 – Curvas de calibração do teste de linearidade do método de doseamento de dissolução



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Os parâmetros médios provenientes das curvas estão descritos na tabela 33.

Tabela 33 – Resultados das curvas de calibração do teste de linearidade do método de dissolução

CURVAS	INTERCEPTO	MÉDIA	INCLINAÇÃO	MÉDIA	COEFICIENTE CORRELAÇÃO	MÉDIA
1	2308,55	1510,70	66958975,92	65559664,83	0,9998	0,9993
2	264,85		64160353,73		0,9991	
3	1958,70		69685422,11		0,9989	

A análise de regressão linear, para as três curvas preparadas, apresentou coeficientes de correlação superiores a 0,999 e coeficientes angulares diferentes de zero (BRASIL, 2017a; RIBANI *et al.*, 2004).

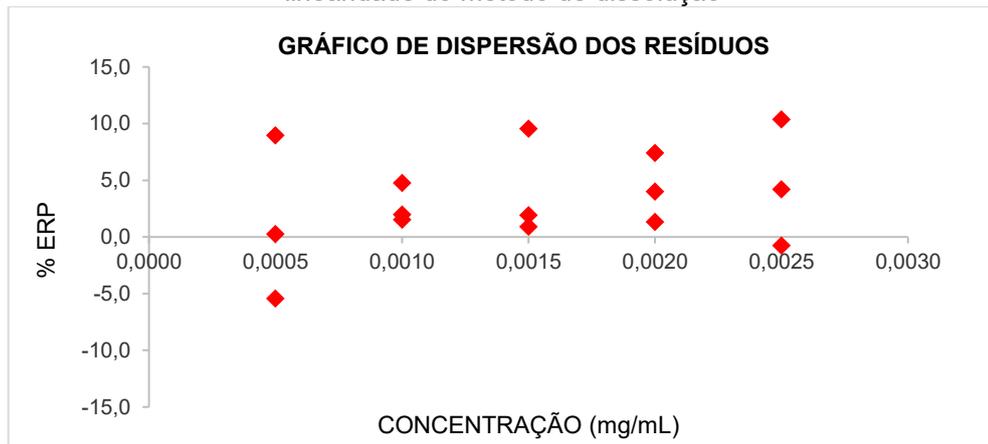
A homoscedasticidade foi avaliada com os mesmos critérios utilizados no doseamento, resultou em C calculado menor do que C tabelado, sendo os dados considerados homocedásticos (BRASIL, 2017a; CALLEGARI-JACQUES, 2009). E os resultados obtidos estão descritos na tabela 34.

Tabela 34 – Resultados da homocedasticidade do teste de linearidade do método de dissolução

NÍVEL (%)	MÉDIA ÁREA	DP	VARIÂNCIA (S <sup>2</sup> )	S <sup>2</sup> <sub>máx</sub>	C <sub>CALC</sub>	C <sub>TAB 5%</sub>	C <sub>CALC</sub> < C <sub>TAB</sub>
25	32750	2258	5,1E+06	66258243,467	0,5606	0,6838	SIM
50	66466	1231	1,5E+06				
75	101025	5571	3,1E+07				
100	134860	3780	1,4E+07				
125	169157	8140	6,6E+07				

Foi possível afirmar com esses resultados obtidos que o método foi linear. A análise de dispersão dos resíduos demonstrou maior quantidade de desvios positivos, do que negativos, das concentrações, conforme figura 66.

Figura 66 – Gráfico de distribuição % ERP versus concentração da análise de dispersão do teste de linearidade do método de dissolução



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022)

A homoscedasticidade foi comprovada conforme os resultados descritos na tabela 35.

Tabela 35 – Resultados da dispersão do teste de linearidade do método de dissolução

F <sub>CALC</sub>	F <sub>TAB 5%</sub>	F <sub>CALC</sub> < F <sub>TAB</sub>
1,30E+01	6,39	SIM

#### 4.6.3 Precisão

O teste de precisão foi realizado com os supositórios da base AS2X em dois tempos de coleta, em 15 e 30 minutos, pois é esperado que a forma farmacêutica de supositório libere o ativo imediatamente (AMIN *et al.*, 2021). Esses tempos foram escolhidos, embora o único método de dissolução de supositório descrito na Farmacopeia Americana, para Indometacina supositório, indique 60 minutos e da Farmacopeia Internacional indique 30 minutos para misoprostol comprimido como os tempos máximos que devem ser dissolvidas a quantidade mínima de substância ativa (Ph. Int., 2020; USP, 2021). Os resultados obtidos estão descritos nas tabelas 36 e 37.

Tabela 36 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 15 minutos do método de dissolução

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	% DISSOLVIDO	MÉDIA (%)	DPR (%)
C1	122937	0,0019	92,9	90,1	2,7
C2	122287	0,0019	92,4		
C3	120893	0,0019	91,3		
C4	118364	0,0018	89,4		
C5	115357	0,0018	87,1		
C6	115873	0,0018	87,5		

Tabela 37 – Resultados do teste de precisão da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 30 minutos do método de dissolução

AMOSTRA	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	% DISSOLVIDO	MÉDIA (%)	DPR (%)
C1	126364	0,0019	95,4	92,2	3,9
C2	127043	0,0020	96,0		
C3	125742	0,0019	95,0		
C4	117917	0,0018	89,1		
C5	125742	0,0018	89,0		
C6	117336	0,0019	88,6		

As amostras de supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X obtiveram DPR (%) menores que a especificação de 11% em ambos os tempos de coleta (AOAC, 2016), demonstrando que o método possui precisão e repetibilidade.

O teste de precisão intermediária foi realizado por outro analista (analista B), para verificar a reprodutibilidade do método, gerou os resultados descritos nas tabelas 38 e 39.

Tabela 38 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 15 minutos do método de dissolução

AMOSTRA	ANALISTA B					ANALISTA A	DPR <sub>A-B</sub> (%) CUMULATIVO
	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	% DISSOLVIDO	MÉDIA (%)	DPR (%)	TEOR (%)	
C1	109070	0,0017	81,6	85,0	2,2	92,9	3,9
C2	112792	0,0017	84,4				
C3	115221	0,0018	86,2				
C4	114521	0,0017	85,7				
C5	116367	0,0018	87,0				
C6	113656	0,0017	85,0				

Tabela 39 – Resultados do teste de precisão intermediária da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no tempo de 30 minutos do método de dissolução

AMOSTRA	ANALISTA B					ANALISTA A	DPR <sub>A-B</sub> (%) CUMULATIVO
	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	% DISSOLVIDO	MÉDIA (%)	DPR (%)	TEOR (%)	
C1	111315	0,0017	83,3	86,3	2,1	95,4	4,6
C2	115062	0,0018	86,1				
C3	116461	0,0018	87,1				
C4	117762	0,0018	88,1				
C5	117498	0,0018	87,9				
C6	114248	0,0017	85,5				

Os resultados de DPR encontrados, para ambos os tempos de coleta, estão dentro do limite de 11 %. Desta forma, é possível afirmar que o método apresenta reprodutibilidade e precisão.

#### 4.6.4 Limite de quantificação

A partir das curvas de calibração dos fármacos, realizado no teste de linearidade (4.6.2.), foram estimados os limites teóricos de LD de 0,05 µg/mL e o LQ de 0,16 µg/mL conforme o cálculo descrito na RDC nº 166/2017 (BRASIL, 2017a).

Contudo, não foi possível determinar experimentalmente o LQ devido à limitação do HPLC disponível, visto que o método de dissolução já possuía baixa concentração (2 µg/mL) e o menor ponto preparado no teste de linearidade (0,5 µg/mL) era menor do que o LQ do método de doseamento (1 µg/mL), que foi feito no mesmo equipamento e sob as mesmas condições cromatográficas.

#### 4.6.5 Exatidão

Os resultados da exatidão foram executados por adição padrão de solução SQR de misoprostol na solução placebo em três níveis de concentração. Os resultados estão apresentados na tabela 40.

Tabela 40 – Resultados do teste de exatidão do método de dissolução

CONC. (%)	RÉPLICA	CONC TEÓRICA (mg/mL)	ÁREA MÉDIA	CONC. EXPERIMENTAL (mg/mL)	RECUPERAÇÃO (%)	MÉDIA RECUPERAÇÃO (%)	DPR (%)
25	1	0,00051	35748	0,00055	107,5	102,5	6,9
	2	0,00051	35469	0,00054	105,8		
	3	0,00053	31215	0,00048	94,4		
75	1	0,00153	94800	0,00145	95,0	94,2	2,9
	2	0,00154	97065	0,00149	96,5		
	3	0,00152	90687	0,00139	91,2		
100	1	0,00201	126512	0,00194	95,1	95,3	2,7
	2	0,00205	131445	0,00201	98,0		
	3	0,00203	122955	0,00188	92,9		

Os resultados encontrados para média de recuperação, em cada nível de concentração, foram aprovados por estarem com DPR menor que 11% e compreendidos no intervalo de 80 – 110 %. (AOAC, 2016), sendo, portanto, o método proposto aprovado para exatidão.

#### 4.6.6 Robustez

O teste de robustez da metodologia proposta não foi realizado, visto que foi realizado na validação do teste de doseamento, com as mesmas condições cromatográficas, conforme item 4.5.6.

### 4.7 Análise de doseamento do supositório de misoprostol

Os resultados do teste realizado com os mesmos lotes de supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X utilizado na validação do método. Os resultados estão descritos na tabela 41.

Tabela 41 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de doseamento

AMOSTRA	MASSA DA AMOSTRA (mg)	ÁREA MÉDIA	TEOR (mg/mL)	TEOR (%)	MÉDIA (%)	DPR (%)
AM1	2361,09	1801529	0,5604	93,4	98,5	3,0
AM2	2349,09	1859456	0,5814	96,9		
AM3	2381,85	1927855	0,5945	99,1		

O teste foi aprovado no critério de teor, por estar compreendido na faixa de 90,0 – 110,0 %, faixa adequada a formas farmacêuticas em geral que inclusive constam nos testes de doseamento das monografias de supositórios das Farmacopeias Americana e Japonesa (JP, 2016; USP, 2021).

A tabela 42 apresenta, com o mesmo método, o primeiro estágio do teste de uniformidade de conteúdo com 10 unidades, conforme o descrito na Farmacopeia Brasileira (FB, 2019).

Tabela 42 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de uniformidade de conteúdo doseamento

AMOSTRA	ÁREA	ÁREA MÉDIA	TEOR (mg/g)	MÉDIA (mg/dose)	TEOR %	MÉDIA (%)	DPR %
AM1	1703714	1685046	0,4981	0,5225	83,0	87,1	4,5
	1666377				83,0		
AM2	1745678	1750240	0,5173		86,2		
	1754801				86,2		
AM3	1879548	1875140	0,5543		92,4		
	1870731				92,4		
AM4	1851496	1827955	0,5403		90,1		
	1804413				90,1		
AM5	1695317	1692584	0,5003		83,4		
	1689850				83,4		
AM6	1630637	1626051	0,4806	80,1			
	1621464			80,1			
AM7	1799964	1797853	0,5314	88,6			
	1795742			88,6			
AM8	1859049	1855753	0,5485	91,4			
	1852457			91,4			
AM9	1789489	1771627	0,5237	87,3			
	1753764			87,3			
AM10	1821588	1795409	0,5307	88,4			
	1769229			88,4			

O teste obteve DPR (%) satisfatório, mas os teores obtidos foram menores do que os obtidos no ensaio do doseamento e estão abaixo do mínimo de 90%. Essa diferença deve ter sido ocasionada por deficiência na extração, uma vez que o ensaio de uniformidade foi realizado com uma unidade íntegra do supositório e não de um *pool* de unidades maceradas. Outra possibilidade é que a produção das unidades de supositórios por processo totalmente manual tenha sido a responsável, uma vez que Kalmar e colaboradores (2014), relataram que a produção não automatizada pode gerar problemas na uniformidade de conteúdo.

Esse teste, é dividido em dois estágios que são avaliados pelo cálculo do valor de aceitação (VA) descrito na Farmacopeia Brasileira pela equação:

$$VA = |M - \bar{X}| + ks$$

Onde:

$\bar{X}$ : média dos conteúdos individuais (x1, x2,..., xn), expressa como porcentagem da quantidade declarada.

K: constante de aceitabilidade (se n = 10, então k = 2,4; se n = 30, então k = 2,00).

S: desvio padrão da amostra.

T (usado para calcular o M): média dos limites especificados na monografia individual para a quantidade ou potência declarada, expressa em porcentagem.

M: quando  $T \leq 101,5$

Se  $98,5\% \leq X \leq 101,5\%$ , então  $M = X$  (VA = ks)

Se  $X < 98,5\%$ , então  $M = 98,5\%$

Se  $X > 101,5\%$ , então  $M = 101,5\%$

quando  $T > 101,5$

Se  $98,5 \leq X \leq T$ , então  $M = X$  ( $VA = ks$ )

Se  $X < 98,5\%$ , então  $M = 98,5\%$

Se  $X > T$ , então  $M = T$

Para ser considerado aprovado no estágio 1, o VA deve ser menor ou igual a 15,0 (FB, 2019). Desta forma, o teste foi reprovado, pois o valor de aceitação obtido foi de 20,9 e deveria seguir para o estágio 2 com repetição do teste com mais 20 unidades, o VA passa a ser de 25,0. Porém, não havia mais disponibilidade de unidades com peso médio dentro da especificação para realização do teste, que não pôde ser realizado.

#### **4.8 Análise de perfil de dissolução do supositório de misoprostol**

Com o método de dissolução desenvolvido e validado, foi realizado o teste de perfil de dissolução com os mesmos lotes de supositórios de misoprostol 600 µg da base AS2X utilizados na validação e com 3 unidades do medicamento referência Prostokos® 200 µg comprimido vaginal, por cuba, a fim de mimetizar a dose de 600 µg. Foi realizada a coleta nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos, com inclusão do tempo de 45 minutos para avaliação da liberação do medicamento referência, haja vista que os únicos métodos de dissolução encontrados para o misoprostol comprimido oral utilizam tempo de coleta de 30 minutos (MEHTA *et al.*, 2010; Ph. Int., 2020). Os resultados obtidos estão apresentados nas tabelas 43 e 44.

Tabela 43 – Resultados da amostra de supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) no ensaio de perfil de dissolução

<b>MISOPROSTOL 600 µg SUPOSITÓRIO</b>		
<b>TEMPO (MIN)</b>	<b>MÉDIA % DISSOLVIDO</b>	<b>DPR (%)</b>
5	76,36	6,68
10	85,71	4,54
15	87,04	3,21
20	86,80	2,97
30	87,06	3,00
45	87,72	3,30

Tabela 44 – Resultados da amostra de supositório de Prostokos® 200 µg comprimido vaginal no ensaio de perfil de dissolução

<b>PROSTOKOS® 200 µg COMPRIMIDO VAGINAL</b>		
<b>TEMPO (MIN)</b>	<b>MÉDIA % DISSOLVIDO</b>	<b>DPR (%)</b>
5	59,38	7,07
10	82,02	2,04
15	85,85	1,55
20	86,68	1,57
30	86,88	1,28
45	87,19	1,38

O teste de perfil de dissolução não foi realizado para comparação das duas formulações, e sim para avaliar o perfil de liberação de cada uma delas em condições que mimetiza o misoprostol administrado por via retal.

A Farmacopeia Brasileira determina que em caso de inexistência do método farmacopeico deve ser desenvolvido um método pela empresa solicitante do registro e reforça a importância do teste no desenvolvimento de formulações para conhecer seu funcionamento (FB, 2019).

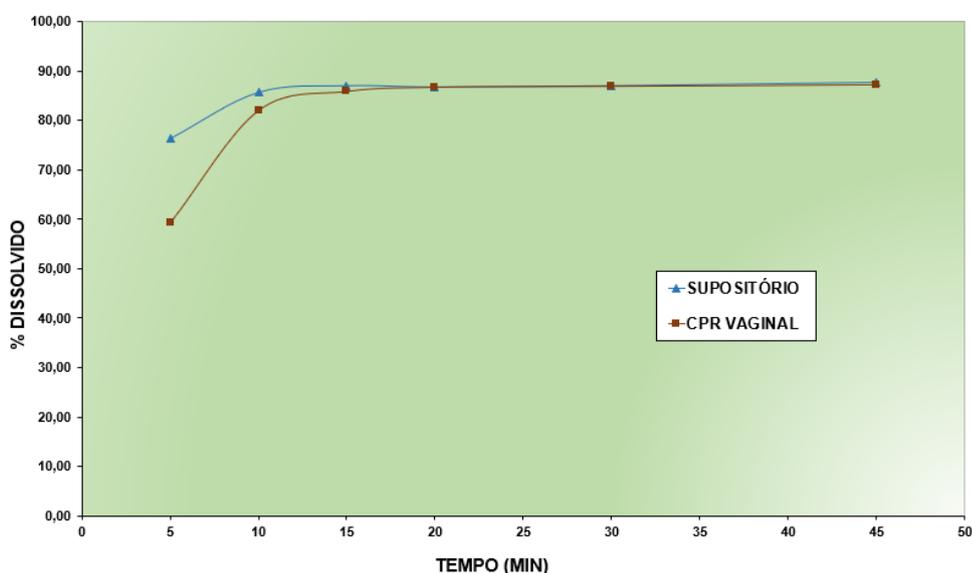
Foi avaliado o (Q) que a Farmacopeia Brasileira define como “quantidade dissolvida em tempo infinito” descrito para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata de (Q) maior que 75 % + 5 % de 15 a 45 minutos, de acordo com cada bibliografia (EMA, 2017; FB, 2019; FDA, 1997a; SIEWERT, 1996; USP, 2021).

Os critérios estabelecidos para o teste de dissolução das formas sólidas orais podem também ser aplicados no desenvolvimento de ensaio de liberação *in vitro* das formas farmacêuticas especiais, como supositórios (FONSECA, 2007; SIEWERT, 1996; SIEWERT *et al.*, 2003).

O valor do (Q) utilizado como critério de aceitação também foi baseado no teste de dissolução da monografia de indometacina supositório da Farmacopeia Americana, sendo o valor de Q de 75 % (USP, 2021).

Desta forma, a avaliação dos resultados obtidos para as duas amostras se deu pelo (Q) + 5 % estabelecido de 75 % em 15 minutos, sendo atingido pelas duas formulações testadas, além de alcançar os critérios estabelecidos para dissolução muito rápida, que é dissolução maior ou igual a 85 % em 15 minutos e DPR inferior a 20 % nos três primeiros pontos de coleta e 10 % nos demais pontos (BRASIL, 2010; FB, 2019). É possível observar na figura 67, que o supositório alcança esse percentual de dissolução em 10 minutos, em relação ao comprimido vaginal.

Figura 67 – Curva do perfil de dissolução comparativo do supositório de misoprostol 600 µg (base AS2X) versus Prostokos® 200 µg comprimido vaginal



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Pôde ser observado que o supositório atinge mais rapidamente a liberação do misoprostol no fluido retal simulado. Esse início rápido de ação é essencial para o

efeito pretendido de interrupção do fluxo de hemorragia no menor tempo possível (FEBRASGO, 2010; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; OPAS, 2018b).

Deve ser levado também em consideração o conforto proporcionado pela forma farmacêutica, a fim de alcançar maior adesão ao tratamento, pois o misoprostol é administrado para o tratamento da HPP por 3 ou 4 unidades de comprimidos de 200 µg consecutivos para alcançar a dose de 600 µg ou 800 µg (FIGO, 2012; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009b; WHO, 2018), enquanto com a forma farmacêutica de supositórios de misoprostol 600 µg proposta, será necessário administrar somente 1 unidade e que além de tudo é apropriada para a via retal.

No contexto do Brasil, onde somente há disponibilidade do comprimido vaginal Prostokos<sup>®</sup> 200 µg (ANVISA, 2015), foi possível fazer um comparativo das dimensões das duas formas farmacêuticas, conforme demonstrado nas figuras 68 e 69.

Figura 68 – Comparativo de medidas do supositório de misoprostol 600 µg *versus* Prostokos<sup>®</sup> 200 µg comprimido vaginal



Fonte: (PRÓPRIO AUTOR, 2022).

Portanto, a forma farmacêutica de supositório de misoprostol 600 µg provavelmente ocasionará menor desconforto nas pacientes, por ocupar menor espaço e ser anatomicamente compatível com a cavidade retal em relação aos comprimidos.

## 5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pôde-se concluir que:

- A base Suppocire<sup>®</sup> AS2X, do fabricante Gattefossé, apresentou com o fármaco misoprostol o melhor desempenho nas validações de doseamento e dissolução, provavelmente em função da sua composição contendo o tensoativo polissorbato.
- O método cromatográfico (CLAE) utilizado para análise quantitativa dos supositórios demonstrou parâmetros de validação adequados à análise de doseamento e de dissolução do misoprostol na presença dos componentes da base lipofílica Suppocire<sup>®</sup> AS2X do fabricante Gattefossé.
- A melhor extração de misoprostol das bases lipofílicas testadas foi obtida com acetonitrila em banho-maria a 40°C para o método de doseamento.
- O meio de dissolução de tampão fosfato de sódio pH 7,2 com lauril sulfato de sódio a 1 % foi o mais adequado com o aparato pá na velocidade de 75 rpm e âncora adaptada em espiral de aço.
- A formulação desenvolvida de supositório de misoprostol 600 µg foi adequada em relação ao teste de doseamento e dissolução, testes importantes no controle de qualidade. O teste de variação de peso e uniformidade de conteúdo não foram adequados, mas pode ter sido devido a deficiência na extração e/ou pelo processo manual de preparo dos supositórios, que podem ser ajustados.
- Os perfis de dissolução obtidos para o supositório de misoprostol 600 µg e Prostokos<sup>®</sup> 200 µg comprimido vaginal, apresentaram percentual de dissolução semelhantes a partir de 15 minutos, onde ambos são enquadrados pela legislação como de liberação muito rápida. Porém, nos primeiros pontos de coleta o supositório apresentou maior percentual de dissolução.

- O supositório de misoprostol 600 µg apresentou como vantagens, em relação ao comprimido vaginal, liberação mais rápida do IFA e possibilidade de gerar menor desconforto para as pacientes.
- O trabalho demonstrou ser viável o desenvolvimento da forma farmacêutica de supositório de misoprostol e de métodos adequados para futuro emprego no controle de qualidade. Nesse trabalho não houve tempo hábil para desenvolver o método de impurezas orgânicas para compor a monografia de controle de qualidade do produto acabado, tornando-se uma perspectiva futura.

## REFERÊNCIAS

- ABDOU, H. M. Dissolution. In: **Remington: The science and practice of pharmacy**. 19. ed. Easton: Mack Publishing Company, 1995, v. 1, p. 593-604.
- ABRASCO. Misoprostol em falta no SUS causa prejuízos à saúde da mulher, 2019. Disponível em: <https://www.abrasco.org.br/site/outras-noticias/saude-da-populacao/misoprostol-em-falta-no-sus-causa-prejuizos-a-saude-da-mulher/40211/>. Acesso em: 24/05/2021.
- ALLEN, L. V. Quality control of suppositories. In: **Suppositories**. First edit ed. [s.l.] Pharmaceutical Press, 2007. p. 139–158.
- ALLEN, Rebecca; O'BRIEN, Barbara M. Uses of misoprostol in obstetrics and gynecology. **Reviews in Obstetrics and Gynecology**, v. 2, n. 3, p. 159, 2009.
- ALLEN JR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos-9**. Artmed Editora, 2013.
- AMIN, Purnima D. et al. Medicated topicals. In: **Remington**. Academic Press, 2021. p. 381-393.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa proíbe a propaganda de medicamentos à base de misoprostol, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/anos-anteriores/anvisa-proibe-a-propaganda-de-medicamentos-a-base-de-misoprostol>. Acesso em 16/05/2021.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Dissolução Aplicável a Medicamentos Genéricos, Novos e Similares. 2021. Disponível em: [http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3364628/Guia+14\\_2018\\_vers%C3%A3o+2\\_de+29+10+21.pdf/9cecbb40-217e-4b6e-bf2c-0237641edacb](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3364628/Guia+14_2018_vers%C3%A3o+2_de+29+10+21.pdf/9cecbb40-217e-4b6e-bf2c-0237641edacb). Acesso em 08/11/2021.
- AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis of aoac international. 20th edition, 2016.
- AZARMI, Shirzad; ROA, Wilson; LÖBENBERG, Raimar. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. **International Journal of pharmaceuticals**, v. 328, n. 1, p. 12-21, 2007.
- AULTON, M.E.; TAYLOR, K.M.G. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 4ª Ed., Elsevier, 855p, 2016.
- BARBOSA, Regina Maria; ARILHA, Margareth. A experiência brasileira com o Cytotec. **Revista Estudos Feministas**, v. 1, n. 2, p. 408, 1993.

BARBOSA, Ana Raquel Castro; AYRES-DE-CAMPOS, Diogo. Misoprostol for the prevention of postpartum hemorrhage. **Acta Obstétrica Ginecológica Portuguesa**, v. 7, n. 4, p. 298-305, 2013.

BERKÓ, Szilvia et al. In vitro and in vivo study in rats of rectal suppositories containing furosemide. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 53, n. 3, p. 311-315, 2002.

BRASIL. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. 1973.  
Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l5991.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l5991.htm) Acesso em: 19/05/2021.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 27 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. 1976.  
Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l6360.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6360.htm). Acesso em: 19/05/2021.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/constituicao/constituicao.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm). Acesso em: 19/05/2021.

BRASIL. Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições de promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. 1990.  
Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l8080.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm). Acesso em: 19/05/2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução - Portaria SVS/MS nº 344, 12 de maio de 1998a. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial.  
Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/controlados/lista-substancias>. Acesso em: 11/05/2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 3916, 30 de outubro de 1998b. Define a Política Nacional de Medicamentos. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt3916\\_30\\_10\\_1998.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt3916_30_10_1998.html). Acesso em: 20/05/2021.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. 1999. Disponível

em:[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9782compilado.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9782compilado.htm). Acesso em: 19/05/2021.

BRASIL. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. Vigilância em Saúde. **Coleção Progestores: Para entender a gestão do SUS**. v. 6, Brasília: CONASS, 2007a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007b. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinas para Uso Humano em farmácias. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0067\\_08\\_10\\_2007.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0067_08_10_2007.html). Acesso em: 21/05/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0031\\_11\\_08\\_2010.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0031_11_08_2010.html). Acesso em: 04/06/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017a. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412). Acesso em: 21/05/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 200, de 26 de dezembro de 2017b. Disponível em: [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/2198623/do1-2018-01-29-resolucao-rdc-n-200-de-26-de-dezembro-de-2017--2198619](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/2198623/do1-2018-01-29-resolucao-rdc-n-200-de-26-de-dezembro-de-2017--2198619). Acesso em: 29/05/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 390 de 26 de maio de 2020. Estabelece critérios, requisitos e procedimentos para o funcionamento, a habilitação na Reblas e o credenciamento de laboratórios analíticos que realizam análises em produtos sujeitos ao regime de vigilância sanitária e dá outras providências. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-390-de-26-de-maio-de-2020-258911913>. Acesso em: 11/06/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 511, de 27 de maio de 2021a. Dispõe sobre a admissibilidade de códigos farmacêuticos estrangeiros. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-511-de-27-de-maio-de-2021-323003585>. Acesso em: 11/06/2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução - RDC nº 512, de 27 de maio de 2021b. Dispõe sobre as Boas Práticas para Laboratórios de Controle de

Qualidade. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-512-de-27-de-maio-de-2021-322975673>. Acesso em: 11/06/2021.

BROWN, Cynthia K. et al. Dissolution testing of poorly soluble compounds. **Pharmaceutical Technology**, v. 28, p. 56-43, 2004.

CALLEGARI-JACQUES, Sidia M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Artmed Editora, 2009.

CASS, Q.; CASSIANO, N. **Cromatografia Líquida: Novas Tendências e Aplicações**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Ltd, 2015.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Coord.). **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Ed. UNICAMP, 2006.

COLLINS, Paul W. Misoprostol: discovery, development, and clinical applications. **Medicinal Research Reviews**, v. 10, n. 2, p. 149-172, 1990.

CONSTANTIN, Isabelle et al. Development of Misoprostol Suppositories for Postpartum Hemorrhage. **Pharmacology and Pharmacy**, v. 4, p. 71-76, 2013.

CORRÊA, Marilena Cordeiro Dias Villela; MASTRELLA, Miryam. Aborto e misoprostol: usos médicos, práticas de saúde e controvérsia científica. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, p. 1777-1784, 2012.

COSTA, E.A.; ROZENFELD, S. Constituição da Vigilância Sanitária no Brasil. In: ROSENFELD, S., (org). **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, p. 15-40, 2000.

CHORILLI, M.; SOUZA, A. A.; CORRÊA, F. e SALGADO, H. R. N. Estudos de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genéricos e similares contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2010.

DELANEY, Louisa et al. Hemorragia pós-parto. *Acta Méd (Porto Alegre)*, v. 37, n. 7, 2016.

DE SIQUEIRA, Thiago Vinícius et al. Medicamentos uterotônicos utilizados em hemorragia puerperal. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 6112-6123, 2019.

DIAS, Júlia Maria Gonçalves et al. Mortalidade materna. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 25, n. 2, p. 173-179, 2015.

DRUGBANK, 2020. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00929>. Acesso em 31/05/2021.

DUNN, R. et al. Suppository dissolution utilizing USP Apparatus 4. *Dissolution Technologies*, v. 3, n. 1, p. 18-19, 1996.

EL PAÍS. A regra da Anvisa que prolonga o sofrimento de mulheres, 2020. Disponível em: <https://brasil.elpais.com/brasil/2020-02-22/restricao-da-anvisa-impede-acesso-a-tratamento-recomendado-internacionalmente-para-saude-da-mulher.html>. Acesso em 12/05/2021.

EMA. European Medicines Agency. Assessment report MISOPROSTOL, 2014. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/outside-eu-assessment-report/hemoprostol-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/outside-eu-assessment-report/hemoprostol-public-assessment-report_en.pdf). Acesso em: 04/06/2021.

EMA. European Medicines Agency. Quality Working Party. Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action, 2017. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-dissolution-specification-generic-solid-oral-immediate-release-products-systemic\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-dissolution-specification-generic-solid-oral-immediate-release-products-systemic_en.pdf). Acesso em: 14/04/2022.

EMA. European Medicines Agency. List of nationally authorised medicinal products Active substance: misoprostol (gynaecological indication - termination of pregnancy), 2021a. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/psusa/misoprostol-gynaecological-indication-termination-pregnancy-list-nationally-authorized-medicinal/00010354/202005\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/psusa/misoprostol-gynaecological-indication-termination-pregnancy-list-nationally-authorized-medicinal/00010354/202005_en.pdf). Acesso em: 04/06/2021.

EMA. European Medicines Agency. List of nationally authorised medicinal products Active substance: misoprostol (gynaecological indication - labour induction), 2021b. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/psusa/misoprostol-gynaecological-indication-labour-induction-list-nationally-authorized-medicinal-products/00010353/202005\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/psusa/misoprostol-gynaecological-indication-labour-induction-list-nationally-authorized-medicinal-products/00010353/202005_en.pdf). Acesso em: 04/06/2021.

FANALI, S. et al. **Liquid chromatography: fundamentals and instrumentation**. [s.l.] Elsevier Science, 2013.

FB. FARMACOPEIA BRASILEIRA. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019. 1 v. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 21/05/2021.

FDA. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, 1997a. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/dissolution-testing-immediate-release-solid-oral-dosage-forms>. Acesso em: 20/04/2022.

FDA. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations, 1997b.

Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/extended-release-oral-dosage-forms-development-evaluation-and-application-vitroin-in-vivo-correlations>. Acesso em: 20/04/2022.

FDA. Food and Drug Administration. Orange Book: Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations, 2021.

Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/ob/index.cfm>  
Acesso em: 21/02/2022.

FEBRASGO. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia Manual de Orientação Assistência ao Abortamento, Parto e Puerpério. São Paulo: FEBRASGO; 2010.

FERREIRA, A.O. **Guia Prático de Farmácia Magistral**. 4.ed. Vol. 2. São Paulo: Pharmabooks Editora, 2011.

FEITOSA-ASSIS, Ana Isabela; SANTANA, Vilma Sousa. Ocupação e mortalidade materna. **Revista de Saúde Pública**, v. 54, p. 64, 2020.

FIGO. Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia. Tratamento da Hemorragia Pós-Parto com Misoprostol, 2012. Disponível em: [https://www.figo.org/sites/default/files/uploads/project-publications/Miso/PPH%20treatment/Annotated%20versions/4172%20Brief%20Portuguese%20Treatment\\_0.pdf](https://www.figo.org/sites/default/files/uploads/project-publications/Miso/PPH%20treatment/Annotated%20versions/4172%20Brief%20Portuguese%20Treatment_0.pdf). Acesso em: 24/05/2021.

FLEISHER, David et al. Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 36, n. 3, p. 233-254, 1999.

FONSECA, L. B. **Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida**. 2007. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

FRANCISCO, A. M. A. **Estudo da lamotrigine em doentes epilépticos submetidos a monitorização video eletroencefalográfica**. 2008. 343 f. Doutorado. Universidade de Coimbra, Portugal, 2008.

FREIRE, Ana Cristina et al. Liberação específica de fármacos para administração no cólon por via oral. I-O cólon como local de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 319-335, 2006.

GATTEFOSSÉ. Rectal Drug Delivery: With Lipid Excipients. 2019.

Disponível em: <https://www.gattefosse.com/pharmaceuticals-range-of-products/range-of-products#rectal-vaginal>.  
Acesso em: 30/05/2021.

GIL, Eric de Souza. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. In: **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 2010. p. 511-511.

GÖRÖG, Sándor. The sacred cow: the questionable role of assay methods in characterising the quality of bulk pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 5, p. 931-937, 2005.

GÖRÖG, Sándor. Drug safety, drug quality, drug analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 2, p. 247-253, 2008.

HAAS, S.; WOERDENBAG, H.; SZNITOWSKA, M. Rectal and vaginal. In: **Practical Pharmaceutics**. Springer, Cham, 2015. p. 189-227.

HAFIRASSOU, Halim et al. Stability of misoprostol in suppositories. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 62, n. 11, p. 1192-1194, 2005.

HANAEE, J. et al. The role of various surfactants on the release of salbutamol from suppositories. **Il Farmaco**, v. 59, n. 11, pág. 903-906, 2004.

HERTING, R. L.; NISSEN, C. H. Overview of misoprostol clinical experience. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 31, n. 2, p. 47S-54S, 1986.

HORI, Seiichi et al. Comparative release studies on suppositories using the basket, paddle, dialysis tubing and flow-through cell methods I. Acetaminophen in a lipophilic base suppository. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 22, n. 1, p. 130-135, 2017.

INFAN. Indústria Química Farmacêutica Nacional S/A. Bula do medicamento Prostokos®. 2020. Disponível em: [https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/250000139349919/?nomeProduto=prostokos](https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/250000139349919/?nomeProduto=p%20rostokos). Acesso em: 10/05/2021.

IFF. Instituto Fernandes Figueira. Hemorragia pós-parto, 2018. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/atencao-mulher/hemorragia-pos-parto/>. Acesso em: 25/06/2021.

IFF. Instituto Fernandes Figueira. Principais Questões sobre Manejo da Hemorragia no Pós-Parto, 2019. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/atencao-mulher/principais-questoes-sobre-manejo-da-hemorragia-no-pos-parto>. Acesso em: 23/04/2021.

JAMZAD, Shahla; FASSIHI, Reza. Role of surfactant and pH on dissolution properties of fenofibrate and glipizide—a technical note. **Aaps Pharmscitech**, v. 7, n. 2, p. E17-E22, 2006.

JANICKI, S. et al. Evaluation of paracetamol suppositories by a pharmacopoeial dissolution test—comments on methodology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 52, n. 2, p. 249–54, 2001.

JANNIN, Vincent et al. Rectal route in the 21st Century to treat children. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 73, p. 34-49, 2014.

JP. The Japanese Pharmacopoeia 17th edition, pág. 1064-1065, 2016.

KALMAR, Eva et al. Dosage uniformity problems which occur due to technological errors in extemporaneously prepared suppositories in hospitals and pharmacies. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 4, p. 338-342, 2014.

KHAN, Rehan-Uddin; EL-REFAEY, Hazem. Pharmacokinetics and adverse-effect profile of rectally administered misoprostol in the third stage of labor. **Obstetrics & Gynecology**, v. 101, n. 5, p. 968-974, 2003.

KHAN, Rehan-Uddin et al. Oral, rectal, and vaginal pharmacokinetics of misoprostol. **Obstetrics & Gynecology**, v. 103, n. 5, p. 866-870, 2004.

KOCH, Daeska Marcella; RATTMANN, Yanna Dantas. Uso do misoprostol no tratamento da hemorragia pós-parto: uma abordagem farmacoepidemiológica. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, 2019.

KRUGH, Marissa; MAANI, Christopher V. Misoprostol. **StatPearls [Internet]**, 2020.

LANÇAS, Fernando M. et al. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LAURENTI, Ruy; MELLO-JORGE, M. Helena P.; GOTLIEB, Sabina Léa Davidson. Reflexões sobre a mensuração da mortalidade materna. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 1, p. 23-30, 2000.

MANADAS, Rui; PINA, Maria Eugénia; VEIGA, Francisco. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 117 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

MARGULIES M., CAMPOS P. G., VOTO L. S. Misoprostol to induce labour. **The Lancet**. V 339, n.8784, p.64, 1992.

MARIANI NETO, Corintio et al. Uso do Misoprostol para indução do parto com feto morto. **Revista Paulista de Medicina**, p. 325-328, 1987.

MARTINS, Alaerte Leandro. Mortalidade materna de mulheres negras no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2473-2479, 2006.

MEDINA, Jose Raul, et al. In vitro release of ketoprofen suppositories using the USP basket and the flow-through cell dissolution methods. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 3, p. 453-458, 2014.

MEHTA, Jigar et al. Development & validation of an in vitro dissolution method with HPLC analysis for misoprostol in formulated dosage form. **Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 72-75, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de Saúde Departamento de Formulação de Políticas de Saúde. Política Nacional de Medicamentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_medicamentos.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_medicamentos.pdf). Acesso em: 21/05/2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica do óbito materno / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise de Situação em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2009a. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_epidem\\_obito\\_materno.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidem_obito_materno.pdf). Acesso em: 21/05/2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Avaliação e manejo em emergências obstétricas – Hemorragia pós-parto. Brasília: Ministério da Saúde, 2009b. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/cartazes/avaliacao\\_manejo\\_obstetricias\\_hemorragia\\_pos\\_parto.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/cartazes/avaliacao_manejo_obstetricias_hemorragia_pos_parto.pdf). Acesso em: 23/05/2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Área Técnica de Saúde da Mulher. Protocolo para utilização de misoprostol em obstetrícia. Editora MS, 1 ed., 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico N° 20. Volume 51. Maio /2020a. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2020/06/Boletim-epidemiologico-SVS-20-aa.pdf>. Acesso em: 27/05/2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasil reduziu 8,4% a razão de mortalidade materna e investe em ações com foco na saúde da mulher, 2020b. Disponível em: <https://aps.saude.gov.br/noticia/8736>. Acesso em: 27/05/2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2020**. 2020c.

MISIUK, Wieslawa. The role of assay methods in characterizing the quality of bulk pharmaceuticals. **Journal of Pharmacy and Bioapplied Sciences**, v. 2, n. 2, p. 88, 2010.

MORRIS, Jessica L. et al. FIGO's updated recommendations for misoprostol used alone in gynecology and obstetrics. **The International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 138, n. 3, p. 363-366, 2017.

NICOARA, ANCA CECILIA et al. **Formulation and in vitro release testing of rectal suppositories containing nimesulide**. *Farmacia*, v. 63, n. 1, p. 111-117, 2015.

NIKOLIN, Branko et al. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 5, 2004.

NORMAN, J. E.; THONG, K. Joo; BAIRD, D. T. Uterine contractility and induction of abortion in early pregnancy by misoprostol and mifepristone. **The Lancet**, v. 338, n. 8777, p. 1233-1236, 1991.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Folha informativa - Mortalidade materna, 2018a. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5741:folha-informativa-mortalidade-materna&Itemid=820](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5741:folha-informativa-mortalidade-materna&Itemid=820). Acesso em: 23/04/2021.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de orientação para o curso de prevenção de manejo obstétrico da hemorragia: Zero Morte Materna por Hemorragia. Brasília: OPAS; 2018b. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/34880>. Acesso em: 24/05/2021.

ONU. Organização da Nações Unidas. Mortalidade materna cresce no Brasil, 2018. Disponível em: <http://portalods.com.br/noticias/mortalidade-materna-cresce-no-brasil/>. Acesso em: 24/05/2021.

PALMIERI, Anthony. Suppository dissolution testing: Apparatus design and release of aspirin. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 7, n. 2, p. 247-259, 1981.

PAPADOYANNIS, I. N.; GIKA, H. G. Peak purity determination with a diode array detector. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 27, n. 6, p. 1083-1092, 2004.

PENILDON, S. **Farmacologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

PFIZER. Bula do medicamento Cytotec®. 2021. Disponível em: <https://www.pfizer.com/products/product-detail/cytotec>. Acesso em: 10/05/2021.

PHARMACOMPASS, Forma farmacêuticas de Misoprostol, 2021. Disponível em: <https://www.pharmacompass.com/active-pharmaceutical-ingredients/misoprostol/finished-dosage-forms/dossiers>. Acesso em: 06/06/2021.

Ph. Eur. European Pharmacopoeia, 10th Edition. 2019.

Ph. Int. International Pharmacopoeia, 10th Edition. 2020.

PINTO, D. P. **Determinação dos parâmetros farmacocinéticos de um novo postulante a fármaco, para uso no tratamento da asma**. 2018. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fiocruz, Rio de Janeiro.

PUBCHEM, 2020. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Misoprostol>. Acesso em 31/05/2021.

RANG, H.P. et al. **Rang&Dale: farmacologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

REALDON, N. et al. Effects of surfactant characteristics on drug availability from suppositories. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 6, p. 459-463, 2008.

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

ROBERT, André, et al. Inhibition of gastric secretion by prostaglandins. **The American Journal of Digestive Diseases**, v. 12, n. 10, p. 1073-1076, 1967.

ROWE, Raymond C.; SHESKEY, Paul; QUINN, Marian. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, 2009.

SILVA, Ana Célia Pessoa da. O laboratório oficial na avaliação analítica. **Fundamentos da Vigilância Sanitária**, p. 271, 2000.

SHOHIN, I. E. et al. A brief review of the FDA dissolution methods database. **Dissolution Technologies**, v. 23, n. 3, p. 6-10, 2016.

SILVA, Regina Lengruher da; VOLPATO, Nadia Maria. Meios para dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 163-172, 2002.

SIEWERT, Martin. FIP guidelines for dissolution testing of solid oral products (final draft, 1995). **Drug Information Journal**, v. 30, n. 4, p. 1071-1084, 1996.

SIEWERT, Martin *et al.* FIP/AAPS guidelines to dissolution/in vitro release testing of novel/special dosage forms. **Aaps PharmSciTech**, v. 4, n. 1, p. 43-52, 2003.

SNYDER; LLOYD, K.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC Method Development**. 2 ed. John Wiley & Sons, p.77-79, 1997.

SOUZA, Alex Sandro Rolland *et al.* Farmacocinética e farmacodinâmica do misoprostol em Obstetrícia. **Femina**, p. 679-684, 2009.

STORPIRTIS, Silvia; CONSIGLIERI, Vladi Olga. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. **Revista Farmacêutica Bioquímica da Universidade São Paulo**, p. 63-70, 1995.

TANG, Oi Shan *et al.* Pharmacokinetics of different routes of administration of misoprostol. **Human Reproduction**, v. 17, n. 2, p. 332-336, 2002.

TANG, O. S.; GEMZELL-DANIELSSON, K.; HO, P. C. Misoprostol: pharmacokinetic profiles, effects on the uterus and side-effects. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 99, p. S160-S167, 2007.

TANG, Oi Shan *et al.* Pharmacokinetics of repeated doses of misoprostol. **Human Reproduction**, v. 24, n. 8, p. 1862-1869, 2009.

THAKUR, Srishti; PRATAP, Charu. Comparison between sublingual 600 and 800 microgram misoprostol after mifepristone for MTP up to 9 weeks gestation. **International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology**, v. 7, n. 12, p. 4997, 2018.

UFMG. Universidade Federal de Minas Gerais. Mortalidade materna: principais causas e estratégia de combate no país, 2018. Disponível em: <https://www.medicina.ufmg.br/mortalidade-materna-principais-causas-e-estrategia-de-combate-no-pais>. Acesso em: 23/04/2021.

USP. The United States Pharmacopeia. Safety data sheet Misoprostol, 2009. Disponível em: <https://static.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1444300.pdf>. Acesso em: 23/05/2021.

USP. The United States Pharmacopeia 43. National Formulary 38. Rockville: U.S. Pharmacopeia, 2021.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; MELLO, João Carlos P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 464-471, 2008.

WANNMACHER, Lenita. Misoprostol na hemorragia pós-parto: salvando vidas. ISBN: 978-85-7967-108-1 Vol. 1, Nº 13 Brasília, agosto de 2016.

WHO. World Health Organization et al. **WHO Statement regarding the use of misoprostol for postpartum haemorrhage prevention and treatment**. World Health Organization, 2009.

WHO. World Health Organization. 18th Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines. 2010. Disponível em: [https://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/18/applications/misoprostol2/en/](https://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/18/applications/misoprostol2/en/). Acessado em: 04/06/21.

WHO. World Health Organization et al. **WHO recommendations for the prevention and treatment of postpartum haemorrhage**. World Health Organization, 2012.

WHO. World Health Organization et al. **WHO recommendations Uterotonics for the prevention of postpartum haemorrhage: Web annex 7: Choice of uterotonic agents**. World Health Organization, 2018.

WHO. World Health Organization. ICD-11 for mortality and morbidity statistics. 2019a. Disponível em: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>. Acessado em 26/05/21.

WHO. World Health Organization. **The selection and use of essential medicines 2019**. Report of the 22nd who expert Committee on the selection and use of essential medicines, 2019b.

ZIEMAN, Miriam et al. Absorption kinetics of misoprostol with oral or vaginal administration. **Obstetrics & Gynecology**, v. 90, n. 1, p. 88-92, 1997.

ZORDO, Silvia De. The biomedicalisation of illegal abortion: the double life of misoprostol in Brazil. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 23, n. 1, p. 19-36, 2016.

## ANEXO A

## Misoprostol Dispersion

### DEFINITION

Misoprostol Dispersion is a mixture of Misoprostol and Hypromellose. It contains NLT 95.0% and NMT 104.0% of the labeled amount of misoprostol ( $C_{22}H_{38}O_6$ ).

### IDENTIFICATION

#### A. ULTRAVIOLET ABSORPTION

Perform both Procedure 1 and Procedure 2.

##### Procedure 1

**Medium:** Methanol and water (4:1)

**Sample solution:** Nominally 16 µg/mL of misoprostol in Medium prepared as follows. Dissolve the amount of Misoprostol Dispersion, equivalent to 400 µg of misoprostol, in 25 mL of Medium.

**Blank:** Prepare a solution of hypromellose in Medium having the same concentration as in the Sample solution.

**Analysis:** Determine UV absorption spectrum of Sample solution against the Blank from 330–230 nm.

**Acceptance criteria 1:** It exhibits no maximum near 280 nm.

##### Procedure 2

**Medium:** Methanol and 1 N potassium hydroxide (4:1)

**Sample solution:** Add 10 mL of Medium to 10 mL of the Sample solution prepared from Procedure 1. Allow to stand for 30 min at room temperature.

**Blank:** Add 10 mL of Medium to 10 mL of the Blank prepared from Procedure 1. Allow to stand for 30 min at room temperature.

**Analysis:** Determine UV absorption spectrum of Sample solution against the Blank from 330–230 nm.

**Acceptance criteria 2:** It exhibits a maximum near 280 nm.

- B. The retention time of the major peak of the Sample solution corresponds to that of the Standard solution, as obtained in the Assay.

### ASSAY

#### PROCEDURE

[NOTE— During addition of water to a solution of misoprostol in isopropyl alcohol, an exothermic reaction takes place. After each addition of water, invert the flask to mix isopropyl alcohol and water. Allow the solution to cool to room temperature before the final dilution.]

**Buffer:** 1.36 g/L of monobasic potassium phosphate in water, adjusted with phosphoric acid to a pH of  $3.0 \pm 0.1$

**Mobile phase:** Isopropyl alcohol and Buffer (27:73)

**Standard stock solution:** 0.5 mg/mL of USP Misoprostol RS in isopropyl alcohol. [NOTE— This solution is stable up to 28 days when stored at  $5 \pm 3^\circ$ .]

**Standard solution:** 0.1 mg/mL of USP Misoprostol RS in water from Standard stock solution. [NOTE— This solution is stable up to 7 days when stored at  $5 \pm 3^\circ$ .]

**Sample solution:** Nominally 0.1 mg/mL of misoprostol prepared as follows. Place an amount of Misoprostol Dispersion, equivalent to about 10 mg of misoprostol, into a 100-mL volumetric flask, and add 25 mL of isopropyl alcohol. Shake to disperse the solid, place the solution in an ice bath, swirl, and allow to cool for 10 min. Carefully add about 70 mL of water, previously chilled in a refrigerator, remove from the ice bath, and shake. Sonicate as necessary at a temperature not exceeding  $20^\circ$ . Equilibrate to room temperature, dilute with water to volume, and immediately cool the solution to  $5^\circ$ . [NOTE— This solution is stable up to 7 days when stored at  $5 \pm 3^\circ$ .]

#### Chromatographic system

(See Chromatography (621), System Suitability.)

**Mode:** LC

**Detector:** UV 205 nm

**Column:** 4.6-mm  $\times$  15-cm; 5-µm packing L7

#### Temperatures

**Column:**  $50 \pm 2^\circ$ ; the Mobile phase must be preheated prior to introduction on the column.

**Autosampler:**  $5 \pm 3^\circ$

**Flow rate:** 1.5 mL/min

**Injection volume:** 100 µL

#### System suitability

**Sample:** Standard solution

[NOTE— USP Misoprostol RS contains 12-epimisoprostol as a minor component. The relative retention times for 12-epimisoprostol and misoprostol are 0.84 and 1.0, respectively.]

## ANEXO A

**Suitability requirements****Resolution:** NLT 2.7 between 12-epimisoprostol and misoprostol**Relative standard deviation:** NMT 1.0%**Analysis****Samples:** *Standard solution* and *Sample solution*Calculate the percentage of the labeled amount of misoprostol (C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub>) in the portion of Misoprostol Dispersion taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

 $r_U$  = peak response from the *Sample solution* $r_S$  = peak response from the *Standard solution* $C_S$  = concentration of [USP Misoprostol RS](#) in the *Standard solution* (mg/mL) $C_U$  = nominal concentration of misoprostol in the *Sample solution* (mg/mL)**Acceptance criteria:** 95.0%–104.0%**IMPURITIES****• ORGANIC IMPURITIES**

[NOTE— During the addition of water to a solution of misoprostol in isopropyl alcohol, an exothermic reaction takes place. After each addition of water, invert the flask to mix isopropyl alcohol and water. Allow the solution to cool to room temperature before the final dilution.]

**Buffer, Mobile phase, Standard solution, Sample solution, and Chromatographic system:** Proceed as directed in the *Assay*.**Diluent:** Isopropyl alcohol and water (27:73)**Blank:** Prepare a solution of hypromellose in the *Diluent* having the same concentration as in the *Sample solution*.**Diluted standard solution:** 0.5 µg/mL of [USP Misoprostol RS](#) in *Diluent* from *Standard solution***Sensitivity solution:** 0.1 µg/mL of [USP Misoprostol RS](#) in *Diluent* from *Diluted standard solution***System suitability****Samples:** *Standard solution* and *Sensitivity solution***Suitability requirements****Resolution:** NLT 2.7 between 12-epimisoprostol and misoprostol, *Standard solution***Signal-to-noise ratio:** NLT 10, *Sensitivity solution***Analysis****Samples:** *Sample solution*, *Blank*, and *Diluted standard solution*

Calculate the percentage of any individual impurity in the portion of Misoprostol Dispersion taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times (1/F) \times 100$$

 $r_U$  = peak response of any individual impurity from the *Sample solution* $r_S$  = peak response of misoprostol from the *Diluted standard solution* $C_S$  = concentration of [USP Misoprostol RS](#) in the *Diluted standard solution* (µg/mL) $C_U$  = nominal concentration of misoprostol in the *Sample solution* (µg/mL) $F$  = relative response factor (see [Table 1](#))**Acceptance criteria:** See [Table 1](#). Disregard a peak from the *Diluent*, eluting at about 4 min, and any other peak observed in the *Blank*.**Table 1**

Name	Relative Retention Time	Relative Response Factor	Acceptance Criteria, NMT (%)
12-Epimisoprostol	0.84	—	— <sup>a</sup>
8-Epimisoprostol <sup>b</sup>	0.90	0.90	0.50
Misoprostol	1.0	—	—
B-Type misoprostol <sup>c</sup>	1.6	0.78	0.30
A-Type misoprostol <sup>d</sup>	1.9	2.6	0.50

## ANEXO A

Name	Relative Retention Time	Relative Response Factor	Acceptance Criteria, NMT (%)
Any other individual impurity	—	1.0	0.1
Total impurities	—	—	1.8

<sup>a</sup> This is a process impurity in the manufacturing of misoprostol. It is controlled in the misoprostol, which is the starting material for the Misoprostol Dispersion. This impurity is included in the table for identification only, and it is not to be reported or included in the total impurities for the Misoprostol Dispersion.

<sup>b</sup> Methyl (1S\*,2R\*,3R\*)-3-hydroxy-2-[(E)-4-hydroxy-4-methyl-1-octenyl]-5-oxocyclopentaneheptanoate.

<sup>c</sup> (E)-Methyl 7-[2-(4-hydroxy-4-methyloct-1-enyl)-5-oxocyclopent-1-enyl]heptanoate.

<sup>d</sup> Methyl 7-[(1R\*,2S\*)-2-[(E)-4-hydroxy-4-methyloct-1-enyl]-5-oxocyclopent-3-enyl]heptanoate.

## SPECIFIC TESTS

• [WATER DETERMINATION, Method Jc\(921\)](#)

**Sample:** 300 mg

**Analysis:** Perform the test immediately after opening the sample container. Use the evaporation technique in which water is released and evaporated from the Sample by heating it in an external oven at 105° and transferring it to the reaction cell with the aid of an inert gas.

**Acceptance criteria:** NMT 1.0%

## ADDITIONAL REQUIREMENTS

• **PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in tight containers, protected from light, and store in a refrigerator.

• **LABELING:** The label states that this article is not intended for direct administration to humans or animals. Label it to indicate the nominal concentration or percentage of misoprostol in the Misoprostol Dispersion.

• [USP REFERENCE STANDARDS \(11\)](#)  
[USP Misoprostol RS](#)

Auxiliary Information- Please [check for your question in the FAQs](#) before contacting USP.

Topic/Question	Contact	Expert Committee
MISOPROSTOL DISPERSION	<a href="#">Behnaz Almasi</a> Scientific Liaison	CHM32015 Chemical Medicines Monographs 3

Chromatographic Database Information: [Chromatographic Database](#)

Most Recently Appeared In:  
Pharmacopeial Forum: Volume No. 39(6)

## Page Information:

USP43-NF38 - 2963  
USP42-NF37 - 2946  
USP41-NF36 - 2769

Current DocID: [GUID-91713D53-1941-449A-ADEF-9D15FE2CCBB2\\_1\\_en-US](#)