

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

Daniela Silva Santana

**VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS FARMACOPEICOS NA VIGILÂNCIA SANITÁRIA
DE MEDICAMENTOS**

Rio de Janeiro

2020

Daniela Silva Santana

VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS FARMACÓPICOS NA VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE MEDICAMENTOS

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Mychelle Alves Monteiro

Preceptores: Amanda da Silva Rio

Euclides Q. da Silva Filho

Rio de Janeiro

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Santana, Daniela

Verificação De Métodos Farmacopeicos Na Vigilância Sanitária De Medicamentos. / Daniela Santana. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2020.

105 f. : il. ; fig. ; graf. ; tab.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

Tutora: Mychelle Monteiro.

Preceptora: Amanda Rio.

Preceptor: Euclides Filho.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. Verificação de Métodos. 2. Medicamentos. 3. Vigilância Sanitária. I. Título.

Verification of Pharmacopeial Methods in Drug Health Surveillance.

Daniela Silva Santana

VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS FARMACOPEICOS NA VIGILÂNCIA
SANITÁRIA DE MEDICAMENTOS

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Lucia Helena Pinto Bastos

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dra. Soraya de Mendonça Ochs

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Ma. Rosana Gomes Ferreira

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dra. Mychelle Alves Monteiro - Tutora

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Ma. Amanda da Silva Rio - Preceptora

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Me. Euclides Quintino da Silva Filho - Preceptor

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

AGRADECIMENTOS

Obrigada a Deus, meus pais e a todos os funcionários do Setor de Medicamentos/DQ!

RESUMO

As ações de vigilância sanitária são direcionadas, também, para a prevenção de riscos sanitários visando à investigação do grau desse risco na defesa da população. A Política Nacional de Medicamentos (PNM) sancionada no Brasil em 1998 possui dentre demais objetivos, assegurar o acesso da população a medicamentos de qualidade. No Brasil, os laboratórios oficiais são orientados a seguirem métodos de avaliação de medicamentos presentes na Farmacopeia Brasileira e em outras Farmacopeias Internacionais (RDC 37/2009). A verificação de métodos é um processo pelo qual um método farmacopeico demonstra ser adequado para a análise a ser realizada através da seleção de alguns parâmetros de validação. Essa avaliação é de suma importância para Laboratórios Oficiais, já que as ações voltadas para produtos sujeitos a Vigilância Sanitária como, por exemplo, medicamentos, precisam ter garantia de qualidade e confiabilidade analítica, por refletirem na saúde da população. Este trabalho objetiva realizar as verificações dos métodos descritos na Farmacopeia Brasileira 5ª e 6ª edição, nas seguintes amostras: Aciclovir, Cloridrato de Prometazina e Cloridrato de Ciprofloxacino por Espectrofotometria UV-VIS, enquanto o medicamento Diazepam foi avaliado por técnica cromatográfica e espectroscópica, e o Captopril somente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por detecção UV-DAD. A verificação de métodos foi avaliada no ensaio de doseamento, elencando-se os parâmetros seletividade, linearidade, repetibilidade, efeito matriz e exatidão. Em relação a seletividade, apenas uma matriz de Cloridrato de Prometazina não foi seletiva para o método compendial proposto, as demais matrizes atenderam aos critérios estabelecidos referentes a esse parâmetro. O intervalo de trabalho de 50% CT a 150% CT, em todas as matrizes mostrou-se linear. Os métodos, ainda, foram repetitivos. Na avaliação do efeito matriz, uma amostra de Diazepam (avaliada por espectrofotometria) e duas amostras de Cloridrato de Prometazina apresentaram efeito matriz. Os métodos farmacopeicos foram exatos nas matrizes da maioria dos medicamentos, excetuando-se uma amostra de Cloridrato de Prometazina. O trabalho desenvolvido provou a aplicabilidade dos métodos farmacopeicos para o Aciclovir e Cloridrato de Ciprofloxacino pelo método espectrofotométrico e para o Diazepam e Captopril por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Dessa maneira, colabora-se com as ações de vigilância sanitária no que diz respeito ao desenvolvimento e conhecimento

técnico-científico e, sobretudo, na proteção e promoção à saúde da população.

Palavras chave: Laboratório Oficial. Verificação de Métodos. Doseamento.

ABSTRACT

The health surveillance actions are also focused on preventing health risk, aiming at investigating the degree of this risk in the defence of the population. The National Medicines Policy (NMP) sanctioned in Brazil in 1998 has, among other objectives, to ensure the population's access to quality medicines. In Brazil, official laboratories are instructed to follow methods for evaluating medications present in Brazilian Pharmacopoeia and other International Pharmacopoeias (Resolution of the Collegiate Board 37/2009). Method verification is a process by which a pharmacopoeial method proves to be suitable for the analysis to be performed by selecting some validation parameters. It is of paramount importance for Official Laboratories, since actions aimed at products subject to Health Surveillance, such as medicines, need to be guaranteed quality and analytical reliability, as they reflect on the health of the population. This work aims to verify the methods described in the Brazilian Pharmacopoeia 5th and 6th editions, in the following samples: Acyclovir, Promethazine Hydrochloride and Ciprofloxacin Hydrochloride by UV-VIS Spectrophotometry. The medicine Diazepam was evaluated by chromatographic and spectroscopic technique, while Captopril only by High Performance Liquid Chromatography by UV-DAD detection. The verification of methods was evaluated in the assay, listing the parameters selectivity, linearity, repeatability, matrix effect and accuracy. Regarding selectivity, only one Promethazine Hydrochloride matrix was not selective for the proposed compendial method, the other matrices met the established criteria regarding this parameter. The working range of 50% Target Concentration to 150% Target Concentration, in all matrices, was linear. The methods were also repetitive. In the evaluation of the matrix effect, a sample of Diazepam (evaluated by spectrophotometry) and two samples of Promethazine Hydrochloride showed a matrix effect. The pharmacopoeial methods were accurate in the matrices of most drugs, except for a sample of Promethazine Hydrochloride. The work developed proved the applicability of the pharmacopoeial methods for Acyclovir and Ciprofloxacin Hydrochloride by the spectrophotometric method and Diazepam and Captopril by High Performance Liquid Chromatography. So, it collaborates with health surveillance actions about the development and technical-scientific knowledge and, above all, in the protection and promotion of the population's

health.

Key words: Official laboratory. Verification of methods. Assay.

LISTA DE SIGLAS

Abs - Absorbância

AMF 2 - Amostra fortificada nível 2

AMF 3 - Amostra fortificada nível 3

AMF 4 - Amostra fortificada nível 4

AMF - Amostra Fortificada

Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

AVC - Acidente Vascular Cerebral

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CT - Concentração de Trabalho

DAD - Detector de arranjo diodo

DPR - Desvio Padrão Relativo

ECA - Enzima Conversora De Angiotensina

FB - Farmacopeia Brasileira

GABA-A - Ácido Gama-AminoButírico tipo A

HSV - Herpes simplex vírus

HSV-1 - Herpes simplex vírus tipo 1

HSV-2 - Herpes simplex vírus tipo 2

ICH - *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*

IEC - *International Electrotechnical Commission*

IFA - Insumo Farmacêutico Ativo

INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Inmetro - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

ISO - *International Organization for Standardization*

OMS - Organização Mundial da Saúde

PNM - Política Nacional de Medicamentos

Proveme- Programa Nacional de Verificação de Medicamentos

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

SEAM - Solução Estoque da Amostra

SESQR - Solução estoque de substância química de referência

SQR - Substância química de referência

SUS - Sistema Único de Saúde

USEPA - *United States Environmental Protection Agency*

USP - *United States Pharmacopeia*

UV - Ultravioleta

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

vs - *versus*

VZV - Varicella zoster vírus

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Fluxograma de Verificação de Métodos nos Laboratórios. | 24 |
| Figura 2 - Estrutura do Aciclovir | 29 |
| Figura 3 - Estrutura do Ciprofloxacino | 30 |
| Figura 4 - Estrutura do Diazepam | 31 |
| Figura 5 - Estrutura do Captopril | 32 |
| Figura 6 - Estrutura da Prometazina | 33 |
| Figura 7 - Procedimento de verificação de métodos e sua avaliação | 43 |
| Figura 8 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante A – 200 mg (Referência). | 44 |
| Figura 9 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante A – 200 mg (Similar). | 45 |
| Figura 10 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante C – 200 mg (Genérico). | 45 |
| Figura 11 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante D – 200 mg (Genérico). | 46 |
| Figura 12 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante E – 400 mg (Genérico). | 46 |
| Figura 13 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante F – 400 mg (Genérico). | 47 |
| Figura 14 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante A (Referência, 200 mg). | 48 |
| Figura 15 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante B (Similar, 200 mg). | 48 |
| Figura 16 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante C (Genérico, 200 mg). | 48 |
| Figura 17 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante D (Genérico, 200 mg). | 49 |
| Figura 18 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante E (Genérico, 400 mg). | 49 |
| Figura 19 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante F (Genérico, 400 mg). | 49 |

| | |
|---|----|
| Figura 20 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as matrizes avaliadas..... | 50 |
| Figura 21 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Aciclovir em estudo. | 52 |
| Figura 22 - Avaliação visual gerada pelo software ActionStat® na comparação entre as curvas de calibração matriz fabricante B fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)..... | 53 |
| Figura 23 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Aciclovir nas seis matrizes em estudo. | 55 |
| Figura 24 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Ciprofloxacino. . | 56 |
| Figura 25 - Curva de calibração amostra fortificada do Cloridrato de Ciprofloxacino (Genérico, 2 mg.mL ⁻¹). | 57 |
| Figura 26 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino. | 57 |
| Figura 27 - Efeito matriz relativo da amostra fortificada Ciprofloxacino.HCl em cinco níveis de avaliação..... | 58 |
| Figura 28 - Avaliação visual gerada pelo software ActionStat® na comparação entre as curvas de calibração amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)..... | 60 |
| Figura 29 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Cloridrato de Ciprofloxacino nas cinco concentrações de trabalho. | 61 |
| Figura 30 - Espectro de avaliação da seletividade do Diazepam 10 mg. | 62 |
| Figura 31 - Cromatograma SQR Diazepam CT 100%. | 63 |
| Figura 32 - Cromatograma Diazepam 10 mg AMF 100%. | 63 |
| Figura 33 - Curva de calibração no produto Diazepam 10 mg obtida pela técnica Espectrofotométrica. | 66 |
| Figura 34 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, pela técnica espectrofotométrica. | 66 |
| Figura 35 - Curva de calibração no produto Diazepam 10 mg obtida pela técnica de Cromatografia Líquida..... | 67 |
| Figura 36 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, por CLAE..... | 67 |
| Figura 37 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 10 mg..... | 68 |

| | |
|--|----|
| Figura 38 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 10 mg..... | 69 |
| Figura 39 - Sobreposição gerada pelo software ActionStat® na comparação entre as curvas de calibração amostra de Diazepam 10 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde).. | 71 |
| Figura 40 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Diazepam 10 mg nas cinco concentrações de trabalho sob análise da técnica espectrofotométrica. .. | 73 |
| Figura 41 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Diazepam 10 mg nas cinco concentrações de trabalho sob análise da técnica de Cromatografia Líquida. | 74 |
| Figura 42 - Cromatograma SQR Diazepam CT 100%. | 75 |
| Figura 43 - Cromatograma Diazepam 5 mg AMF 100%. | 75 |
| Figura 44 - Curva de calibração no produto Diazepam 5 mg. | 77 |
| Figura 45 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, pela técnica espectrofotométrica. | 77 |
| Figura 46 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 5 mg. | 78 |
| Figura 47 - Avaliação da Exatidão - Resultados de recuperação do analito Diazepam 5 mg sob investigação nas cinco concentrações de trabalho..... | 80 |
| Figura 48 - Cromatograma SQR Captopril CT 100%. | 81 |
| Figura 49 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg, fabricante 1 (Similar). | 81 |
| Figura 50 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg , fabricante 2 (Genérico)..... | 81 |
| Figura 51 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg , fabricante 3 (Genérico)..... | 82 |
| Figura 52 - Cromatograma Matriz de Captopril 50 mg , fabricante 4 (Genérico)..... | 82 |
| Figura 53 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 1 (Similar, 25 mg) | 84 |
| Figura 54 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 2 (Genérico, 25 mg) | 84 |
| Figura 55 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 3 (Genérico, 25 mg) | 85 |
| Figura 56 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 4 (Similar, 25 mg) | 85 |
| Figura 57 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as quatro matrizes avaliadas..... | 85 |

| | |
|--|----|
| Figura 58 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Captopril em estudo. | 87 |
| Figura 59 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Captopril nas quatro matrizes em estudo. | 88 |
| Figura 60 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Prometazina fabricante 1 vs SQR. | 89 |
| Figura 61 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Prometazina fabricante 2 vs SQR. | 90 |
| Figura 62 - Curva de calibração amostra fortificada do Fabricante I de Cloridrato de Prometazina | 91 |
| Figura 63 - Curva de calibração amostra fortificada do Fabricante II de Cloridrato de Prometazina | 92 |
| Figura 64 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as matrizes de Cloridrato de Prometazina avaliadas. | 92 |
| Figura 65 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Cloridrato de Prometazina em estudo | 93 |
| Figura 66 - Comparação gerada pelo software ActionStat® entre as curvas de calibração da matriz do Fabricante I de Cloridrato de Prometazina 25 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde).. | 95 |
| Figura 67 - Comparação gerada pelo software ActionStat® entre as curvas de calibração da matriz do Fabricante II de Cloridrato de Prometazina 25 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR(gráfico de linha verde). | 95 |
| Figura 68 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Cloridrato de Prometazina nas duas matrizes em estudo..... | 96 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Quantitativo dos medicamentos verificados segundo classificação da Anvisa | 35 |
| Tabela 2 - Soluções estoque de SQR preparadas para verificação de método de doseamento para os princípios ativos estudados..... | 38 |
| Tabela 3 - Dados dos parâmetros de avaliação da linearidade do método farmacopeico nas matrizes de Aciclovir avaliadas | 50 |
| Tabela 4 - Resultados do DPR nas matrizes de Aciclovir em estudo para avaliação da Repetibilidade..... | 51 |
| Tabela 5 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Aciclovir fortificada vs SQR. | 53 |
| Tabela 6 - Resultados da avaliação da Repetibilidade para a matriz de Ciprofloxacino.HCl em análise. | 58 |
| Tabela 7 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino fortificada vs SQR. | 59 |
| Tabela 8 - Valores referentes à avaliação da seletividade, Diazepam 10 mg, método cromatográfico..... | 64 |
| Tabela 9 - Análise de Variância - ANOVA do SQR e Matriz do Diazepam 10 mg por CLAE | 65 |
| Tabela 10 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade da matriz de Diazepam 10 mg. | 68 |
| Tabela 11 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam 10 mg fortificada vs SQR no método espectrofotométrico..... | 70 |
| Tabela 12 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam 10 mg fortificada vs SQR no método cromatográfico. | 72 |
| Tabela 13 - Valores referentes à avaliação da seletividade, Diazepam 5 mg. | 75 |
| Tabela 14 - Análise de Variância - ANOVA do SQR e Matriz do Diazepam por CLAE. | 76 |
| Tabela 15 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade da matriz de Diazepam 5 mg. | 78 |

| | |
|---|----|
| Tabela 16 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam fortificada vs SQR. | 79 |
| Tabela 17 - Dados dos valores referentes a avaliação da seletividade para as amostras de Captopril em estudos..... | 83 |
| Tabela 18 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade nas quatro matrizes de Captopril estudadas..... | 86 |
| Tabela 19 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Captopril fortificada vs SQR. | 87 |
| Tabela 20 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade nas matrizes dos fabricantes 1 e 2, respectivamente, de Cloridrato de Prometazina 25 mg. | 93 |
| Tabela 21 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Cloridrato de Prometazina fortificada vs SQR. | 94 |

LISTA DE QUADRO

| | |
|---|----|
| Quadro 1 - Condições analíticas do sistema de cromatografia líquida para a verificação de métodos do ensaio de doseamento. | 37 |
| Quadro 2 - Critério de aceitação para exatidão. – Fonte: AOAC, 2016..... | 42 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 Referencial Teórico | 22 |
| 1.1.1 Verificação de Métodos | 22 |
| 1.1.1.1 Parâmetros Seleccionados para a Verificação de Métodos | 25 |
| 1.1.1.1.1 <u>Seletividade</u> | <u>25</u> |
| 1.1.1.1.2 <u>Linearidade</u> | <u>25</u> |
| 1.1.1.1.3 <u>Repetibilidade</u> | <u>25</u> |
| 1.1.1.1.4 <u>Avaliação do Efeito Matriz</u> | <u>25</u> |
| 1.1.1.1.5 <u>Exatidão</u> | 26 |
| 1.1.2 Ensaio Seleccionado para a Verificação de Método | 26 |
| 1.1.2.1 <i>Ensaio de Doseamento</i> | 26 |
| 1.1.3 <i>Técnicas de utilizadas na Verificação de Métodos</i> | 27 |
| 1.1.3.1 <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</i> | 27 |
| 1.1.3.2 <i>Espectrofotometria</i> | 28 |
| 1.1.4 Medicamentos com Métodos Verificados | 28 |
| 1.1.4.1 <i>Medicamentos antimicrobianos</i> | 29 |
| 1.1.4.1.1 <u>Aciclovir</u> | 29 |
| 1.1.4.1.2 <u>Cloridrato de Ciprofloxacino</u> | 30 |
| 1.1.4.2 <i>Medicamento para distúrbio do Sistema Nervoso Central</i> | 30 |
| 1.1.4.2.1 <u>Diazepam</u> | <u>30</u> |
| 1.1.4.3 <i>Medicamento de ação sobre o sistema cardiovascular</i> | 31 |
| 1.1.4.3.1 <u>Captopril</u> | <u>31</u> |
| 1.1.4.4 <i>Medicamento antialérgico</i> | 32 |
| 1.1.4.4.1 <u>Cloridrato de Prometazina</u> | <u>32</u> |
| 2 OBJETIVO | 34 |
| 2.1 Objetivo Geral | 34 |
| 2.2 Objetivos específicos | 34 |
| 3 METODOLOGIA | 35 |
| 3.1 Métodos Verificados | 35 |
| 3.2 Materiais | 36 |
| 3.2.1 Padrões analíticos | 36 |
| 3.2.2 Reagentes e solventes | 36 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2.3 Equipamentos e Acessórios | 36 |
| 3.3 Procedimentos..... | 37 |
| 3.3.1 Condições espectrofotométricas | 37 |
| 3.3.2 Condições cromatográficas | 37 |
| 3.3.3 Preparo de Solução para verificação do Ensaio de Doseamento | 38 |
| 3.3.3.1 Preparo de Solução Estoque de Substância Química Referência (SESQR).38 | |
| 3.3.3.2 Preparo de Solução Estoque da Amostra (SEAM) | 39 |
| 3.3.3.3 Soluções de Substância Química de Referência (SQR) | 39 |
| 3.4 Verificação de Métodos..... | 39 |
| 3.4.1 Determinações da Seletividade | 40 |
| 3.4.2 Determinação da Linearidade | 40 |
| 3.4.3 Determinação da Repetibilidade | 40 |
| 3.4.4 Avaliação do Efeito Matriz | 41 |
| 3.4.5 Determinação da Exatidão | 42 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 44 |
| 4.1 Aciclovir..... | 44 |
| 4.1.1 Seletividade..... | 44 |
| 4.1.2 Linearidade..... | 47 |
| 4.1.3 Repetibilidade..... | 51 |
| 4.1.4 Avaliação Do Efeito Matriz | 51 |
| 4.1.5 Exatidão | 54 |
| 4.2 Cloridrato De Ciprofloxacino | 55 |
| 4.2.1 - Seletividade..... | 55 |
| 4.2.2 Linearidade | 56 |
| 4.2.3 Repetibilidade..... | 57 |
| 4.2.4 Avaliação do Efeito Matriz | 58 |
| 4.2.5 Exatidão | 60 |
| 4.3 Diazepam | 61 |
| 4.3.1 Fabricante I – 10 mg | 61 |
| 4.3.1.1 Seletividade..... | 61 |
| 4.3.1.2 Linearidade..... | 65 |
| 4.3.1.3 Repetibilidade..... | 67 |
| 4.3.1.4 Avaliação do Efeito Matriz..... | 68 |

| | |
|---|-----------|
| 4.3.1.5 Exatidão | 72 |
| 4.3.2 Fabricante II – 5 mg | 74 |
| 4.3.2.1 Seletividade..... | 74 |
| 4.3.2.2 Linearidade..... | 76 |
| 4.3.2.3 Repetibilidade..... | 77 |
| 4.3.2.4 Avaliação do Efeito Matriz..... | 78 |
| 4.3.2.5 Exatidão | 79 |
| 4.4 Captopril..... | 80 |
| 4.4.1 Seletividade..... | 80 |
| 4.4.2 Linearidade..... | 84 |
| 4.4.3 Repetibilidade..... | 86 |
| 4.4.4 Avaliação do Efeito Matriz | 86 |
| 4.4.5 Exatidão | 88 |
| 4.5 Cloridrato de Prometazina..... | 89 |
| 4.5.1 Seletividade..... | 89 |
| 4.5.2 Linearidade..... | 91 |
| 4.5.3 Repetibilidade..... | 92 |
| 4.5.4 Avaliação do Efeito Matriz | 93 |
| 4.5.5 Exatidão | 96 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 97 |
| REFERÊNCIAS..... | 98 |

1 INTRODUÇÃO

Vigilância remete inicialmente, à palavra “Vigiar”. Esse verbo, segundo o Dicionário Etimológico Nova Fronteira (1982), é uma derivação da palavra latina *vig-ire*, composta pelo radical *vig-/-* - um adjetivo que corresponde a “estar bem vivo, bem acordado, atento” (CANIATO; NASCIMENTO, 2007). No Brasil, esse conceito abrange o viés sanitário, epidemiológico, ambiental e de saúde do trabalhador, formando práticas sanitárias que, em sua totalidade, objetivam promover, prevenir e proteger a saúde da população (SETA; OLIVEIRA; PEPE, 2017).

As ações de vigilância sanitária são direcionadas, também, para a prevenção de risco sanitário visando à investigação do grau desse risco na defesa da população (GOVERNO DO PARANÁ, 2018). O risco iatrogênico, o qual é definido como resultante de tratamento médico e uso de serviço de saúde, está relacionado, inclusive, ao uso de medicamentos (ANVISA, 2002) - produto farmacêutico, tecnicamente, obtido ou elaborado, que contém um ou mais fármacos e outras substâncias, com finalidade profilática; curativa; paliativa; ou para fins de diagnóstico (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Diante disso, ações de farmacovigilância podem ser usadas como instrumento para a mitigação desse risco, haja vista o propósito da Vigilância Sanitária de Medicamentos e Outros Insumos Farmacêuticos, que se caracteriza pela proteção da população no sentido de se evitar o consumo de substâncias ineficazes ou perigosas para a saúde (EDUARDO, 1998).

A Política Nacional de Medicamentos (PNM) sancionada no Brasil em 1998 é um componente da Política Nacional de Saúde e está fortemente vinculada à melhoria das condições da assistência à saúde. A PNM fundamenta-se nos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS) e objetiva assegurar o acesso da população à medicamentos de qualidade (LOMBARDO E ESERIAN, 2017).

Segundo a legislação federal 5991/1973, o laboratório do Ministério da Saúde ou congênere da União, dos Estados, do Distrito Federal e dos territórios que apresenta competência delegada, através de convênio ou credenciamento, para realizar a análise de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos é denominado laboratório oficial. As principais atividades do laboratório oficial, consistem na avaliação da qualidade de produtos envolvidos em queixas e denúncias

e na participação em programas periódicos para o monitoramento de produtos comercializados ou distribuídos à população (LOMBARDO; ESERIAM, 2017).

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde pertence a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), e caracteriz-se como um laboratório oficial cujas ações têm estreita cooperação com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), bem como com secretarias estaduais e municipais de saúde. Além disso, atua em área de ensino, pesquisa, tecnologias de laboratório relativas ao controle de qualidade de insumos, produtos, ambientes e serviços sujeitos à ação da Vigilância Sanitária (INCQS, 2019).

Laboratórios que trabalham em ambientes regulamentados ou de qualidade são recomendados a usarem os métodos oficiais desenvolvidos por organizações como as *United States Environmental Protection Agency (USEPA)*, *American Society for Testing and Materials (ASTM)*, *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*, *International Organization for Standardization (ISO)* ou a *United States Pharmacopeia (USP)* (HUBER, 2010). No Brasil, utiliza-se a Farmacopeia Brasileira que é o Código Oficial Farmacêutico do País, o qual estabelece, dentre outras coisas, os requisitos mínimos de qualidade para fármacos, insumos, drogas vegetais, medicamentos e produtos para a saúde (ANVISA, 2019). No entanto, a RDC 37/2009 estabelece que na ausência de monografias na Farmacopeia Brasileira há a admissibilidade das Farmacopeias estrangeiras, podendo ser adotada a última edição da monografia oficial de compêndios internacionais (BRASIL, 2009).

A ISO/IEC17025: 2017, é uma norma sobre os Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, aponta que “Métodos publicados em padrões internacionais, regionais ou nacionais devem ser usados preferencialmente”. Os métodos farmacopeicos já estão validados e, em decorrência disso, os analistas consideram, incorretamente, que os métodos podem ser usados como descritos sem qualquer validação, verificação ou teste adicional feito no laboratório (HUBER, 2010).

O processo de verificação para método compendial analisa se o procedimento pode ser usado para o propósito pretendido; e, em tal processo, se avalia alguns parâmetros de validação, sob as condições reais de uso do laboratório, para uma substância específica e/ou matriz de medicamento (USP, 2017). Os métodos analíticos compendiais devem ter sua adequabilidade demonstrada ao uso pretendido, nas condições operacionais do laboratório, por meio da apresentação de

um estudo de validação parcial – “*demonstração, por meio de alguns parâmetros de validação, que o método analítico previamente validado tem as características necessárias para obtenção de resultados com a qualidade exigida, nas condições em que é praticado*”. Em tal processo, deve-se avaliar, pelo menos, os parâmetros de precisão, exatidão e seletividade (BRASIL, 2017).

Nesse sentido, a realização de verificação é um procedimento de suma importância, uma vez que julga se o método farmacopeico orientado possui aplicabilidade para a análise química do insumo farmacêutico ativo (IFA) sob a matriz específica do produto a ser analisado nas reais condições de trabalho do laboratório.

1.1 Referencial Teórico

1.1.1 Verificação de Métodos

A Verificação de Métodos é um processo no qual há a avaliação da aplicabilidade do método compendial para a finalidade pretendida, sob as condições do laboratório, para uma substância específica de um medicamento e/ou para matriz do produto. Por meio de uma reflexão crítica que considera tanto a complexidade do método compendial como do produto a ser analisado, há a seleção de algumas características de desempenho analítico presentes em um procedimento de validação, tais como: o efeito da matriz sobre a recuperação de impurezas e do fármaco, seletividade, linearidade, a adequabilidade das condições cromatográficas e coluna, etc., para gerar dados relevantes e apropriados ao invés de repetir o processo de validação (USP, 2017).

Diferentes fabricantes podem produzir medicamentos com perfis de impureza característico de seu produto e, isso, no geral, não é abordado pelos métodos de compêndios oficiais. Além disso, a variabilidade de excipientes das variadas formulações para um mesmo medicamento pode interferir diretamente no procedimento Farmacopeico proposto ou causar a formação de impurezas que não são abordadas pelo método compendial e, ainda, um medicamento contendo diferentes excipientes, antioxidantes, tampões podem afetar a recuperação do medicamento da matriz. Assim, a verificação de métodos deve avaliar se o procedimento compendial é compatível para a análise com confiabilidade analítica

para o IFA e/ou a matriz do medicamento, considerando a rota sintética da substância, o método de fabricação do medicamento, ou ambos, se aplicável.

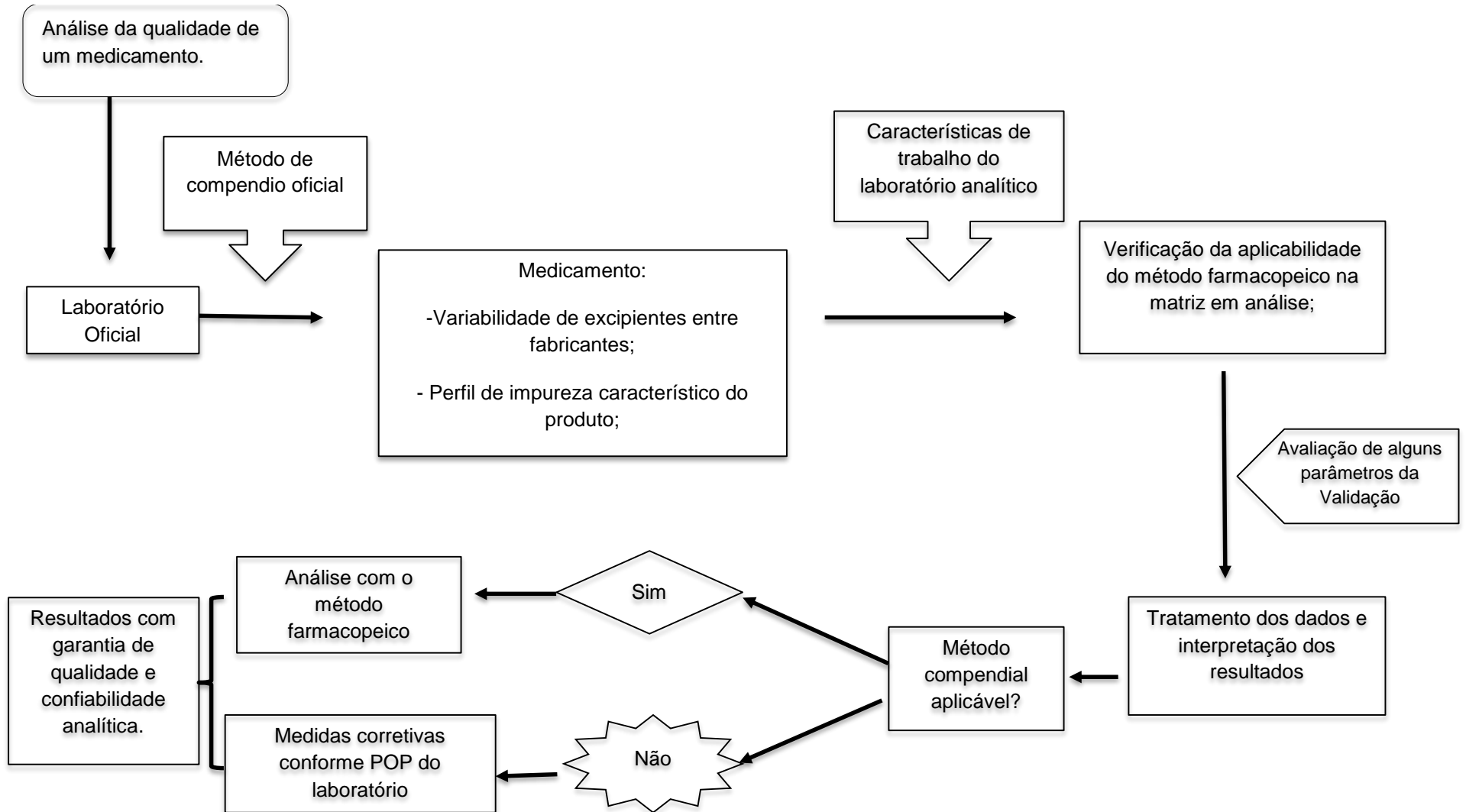
A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) Nº 166 de 2017 (BRASIL, 2017), determina que os métodos analíticos compendiais devem ter sua adequabilidade demonstrada ao uso pretendido, nas condições operacionais do laboratório, por meio da apresentação de um estudo de validação parcial. Em tal processo, deve-se avaliar, pelo menos, os parâmetros de precisão, exatidão e seletividade. No entanto, vale ressaltar, que segundo a USP 2017 a verificação deve incluir a avaliação de elementos como: o efeito da matriz sobre a recuperação de impurezas e do IFA no medicamento, a adequação das condições cromatográficas e coluna, a adequação da resposta do sinal do detector (USP, 2017).

No âmbito nacional, essa deliberação, se apresenta como uma medida de promoção da verificação de métodos compendiais. Com isso, executam-se análises cujo desempenho garanta a aplicabilidade do método, conferindo, no contexto de avaliação analítica de medicamentos, resultados com garantia e confiabilidade analítica.

Não é preciso realizar a verificação para métodos gerais compendiais básicos os quais rotineiramente são executados, como medida de pH, perda por secagem, cinzas sulfatadas, umidade, desintegração, além de métodos analíticos descritos em monografias individuais compendiais de insumos farmacêuticos não ativos (BRASIL, 2017; USP 2017).

A verificação de métodos precisa ser realizada em amostras que estão sendo analisadas pela primeira vez, para o analista realizar esse processo a fim de gerar resultados confiáveis (USP, 2017) que irão fundamentar ou não a aplicabilidade do método para a análise pretendida. Recursos Humanos, Procedimento Operacional Padrão ou protocolo aprovado, tratamento de dados, avaliação de critérios de aceitação, documentação resumida final e ação corretiva, são constituintes necessários para a implementação do processo de verificação de métodos em um laboratório analítico (HUBER, 2010). O Fluxograma (Figura 1) mostra como um Laboratório deve proceder para realizar a Verificação de Métodos. Nele consta as etapas necessárias desse processo e, assim, objetiva ajudar os laboratórios no desenvolvimento desse procedimento analítico.

Figura 1 - Fluxograma de Verificação de Métodos nos Laboratórios



Fonte: Autora do trabalho, 2020.

1.1.1.1 Parâmetros Seleccionados para a Verificação de Métodos

Os atributos avaliados tanto no Capítulo <1226> da USP quanto na RDC Nº 166/2017 para o processo de verificação de metodologia analítica advêm de uma seleção de alguns parâmetros de validação. No presente trabalho, os indicadores elencados foram: Seletividade, Exatidão, Repetibilidade, Avaliação do Efeito Matriz e Linearidade.

1.1.1.1.1 Seletividade

A seletividade está associada ao evento da detecção. Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo. Tal parâmetro assegura que o sinal resposta seja exclusivamente do analito alvo. Sem seletividade, um método linear, exato e preciso pode tornar-se comprometido. (INMETRO, 2018).

1.1.1.1.2 Linearidade

Um procedimento analítico é linear quando, dentro de uma faixa determinada de trabalho, possui capacidade de gerar resultados diretamente proporcionais à concentração (quantidade) do analito na amostra (ICH, 2005).

1.1.1.1.3 Repetibilidade

É uma medida que pode expressar a precisão do método (USP 2017) a partir de mensurações nas mesmas condições de operação em um curto intervalo de tempo. A Repetibilidade também é denominada precisão intra-ensaio (ICH, 2005).

1.1.1.1.4 Avaliação do Efeito Matriz

Efeito Matriz é um estudo de seletividade, cujo objetivo é investigar possíveis interferências causadas pelas substâncias presentes na matriz amostral e possam

gerar, basicamente, diminuição ou ampliação do sinal instrumental ou resposta instrumental (BRASIL, 2011).

1.1.1.1.5 Exatidão

É um grau da concordância entre o valor medido e o valor verdadeiro do mensurando (VIM, 2012).

1.1.2 Ensaio Selecionado para a Verificação de Método

O êxito do tratamento farmacoterapêutico depende da eficácia, segurança e qualidade dos medicamentos (CEDAFAR, 2019). As exigências mínimas de qualidade, autenticidade e pureza de medicamentos são estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (FB), via textos farmacopeicos (capítulos, métodos e monografias), os quais norteiam a execução de ensaios físico-químicos, como doseamento, identificação, determinação do peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, dissolução, uniformidade de dose e perfil de dissolução (BRASIL, 2019). Este estudo, a verificação da aplicabilidade do método compendial, constou dos ensaios para comprimidos no tocante ao doseamento – quantifica o teor de insumo farmacêutico ativo (IFA) no medicamento – tendo em vista que a administração de medicamentos com dose diferente da declarada no rótulo pode resultar em falhas terapêuticas ou, ainda, em efeitos toxicológicos (OLIVEIRA; CAMPOS, 2014).

1.1.2.1 *Ensaio de Doseamento*

Ensaio de Potência ou Doseamento pertence ao controle de qualidade físico-químico de medicamentos e caracteriza-se por quantificar o teor de substância ativa em medicamentos, a fim de garantir que o produto farmacêutico acabado tenha qualidade, segurança e eficácia adequada para fins de comercialização. Dentre os métodos analíticos de doseamento, há a subdivisão em métodos clássicos - métodos volumétricos e métodos gravimétricos - e métodos instrumentais (GIL, 2010; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019), cujas técnicas de análise química instrumental são principalmente Cromatografia, Eletroquímica e Espectroscopia (VAZ, 2010). Os métodos instrumentais, comparados aos clássicos, têm a vantagem de serem

aplicados às amostras com concentrações muito pequenas e, além disso, a rapidez na execução da análise (GIL, 2010).

1.1.3 Técnicas utilizadas na Verificação de Métodos

1.1.3.1 *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*

Conceitualmente, o princípio da cromatografia abrange a transferência de um soluto de uma fase para a outra, em que uma das fases se mantém imóvel e a outra se desloca. Se o solvente que se move, denominado fase móvel, ao atravessar a coluna for um líquido, tem-se a técnica de Cromatografia Líquida; já, a fase estacionária, caracterizada por ficar no interior da coluna, é um líquido viscoso quimicamente ligado, tanto no interior de um tubo capilar, quanto na superfície de partículas sólidas empacotadas dentro da coluna. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) promove a passagem da fase móvel através da coluna, a qual possuem partículas muito finas, com o uso de elevadas pressões; esse conjunto é capaz de gerar separações muito eficientes, ou seja, com alta resolução em misturas complexas (HARRIS, 2016).

A CLAE subdivide-se em diferentes categorias de cromatografia a partir tanto dos mecanismos de interação entre o soluto e a fase estacionária - partição ou cromatografia líquido-líquido, adsorção ou cromatografia líquido-sólido, troca iônica ou cromatografia de íons, cromatografia por exclusão, cromatografia por afinidade e cromatografia quiral – quanto pelo tipo de fase estacionária, podendo ser classificada em i) fase normal: coluna empacotada com moléculas de característica mais polar que a fase móvel); ii) fase reversa: fase estacionária relativamente não polar (por exemplo, hidrocarboneto C8 ou C18) usada em conjunto com fases móveis muito polares (por exemplo, aquosas). (SKOOG et al., 2009; SNYDER, 2010).

Um sistema cromatográfico líquido moderno, geralmente, inclui fase móvel, bomba (transporta a fase móvel líquida sob alta pressão), injetor de amostra (aplica a amostra na coluna), coluna e detector (dispositivo que monitora e mensura os analitos ao saírem da coluna) (HAGGER; CARR,2011).

1.1.3.2 Espectrofotometria

Espectrofotometria é o nome dado a qualquer técnica que utiliza a luz para medir concentrações por meio de um espectrofotômetro - sistema de medição da absorbância da luz (HARRIS, 2008). A Espectrofotometria de Absorção na Região do UV-Visível é caracterizada como uma técnica espectroscópica (VAZ, 2010) e como tal, sua aplicação em laboratórios de análise é ampla, envolvendo pesquisas físicas, químicas, bioquímicas, farmacológicas, etc (GALO; COLOMBO, 2009)

Os métodos espectroscópicos baseiam-se em mensurar quantitativamente a radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou por espécies atômicas de interesse. No que diz respeito à absorção da radiação eletromagnética, o processo se inicia com a transferência de energia a qual, dependendo da espécie molecular, é absorvida pela molécula, de modo a levar a um decréscimo de intensidade da radiação eletromagnética incidente. A diminuição do feixe incidente é regida pela lei de absorção, também conhecida como Lei de Lambert-Beer (Equação1), que quantitativamente relaciona a grandeza da atenuação com a concentração das moléculas absorventes e a extensão do caminho ótico sobre o qual ocorre a absorção (SKOOG *et al.*, 2009)

$$\text{Equação 1 - } A = \epsilon b C$$

A – Absorbância.

ϵ – absorvidade molar.

b – comprimento do caminho da célula.

C – Concentração do analito.

Segundo MALUF e colaboradores (2008), a espectrometria UV-Vis ainda que consolidada, não é recomendada para análise em sistemas complexos. Isso porque, a baixa seletividade apresenta-se como uma característica inerente à técnica e, assim, pode-se diminuir o potencial analítico de uma investigação nesse tipo de matriz.

1.1.4 Medicamentos com Métodos Verificados

O uso de medicamentos para tratamento de doenças causadas por agentes virais

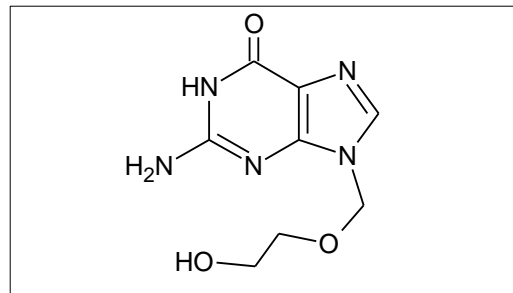
ou bacterianos, bem como os prescritos para doenças crônicas, aliado a prevalência dessas patologias na população, foi fator preponderante na seleção dos medicamentos cujos métodos oficiais foram verificados no presente trabalho.

1.1.4.1 Medicamentos antimicrobianos

1.1.4.1.1 Aciclovir

O Aciclovir (Figura 2) é um fármaco antiviral cuja indicação terapêutica é para o tratamento do herpes genital, oral, causadas pelo Herpes simplex vírus (HSV) tipos 1 e 2; HSV-1 e HSV-2) - e do herpes zoster - Varicella zoster vírus (VZV). Suas propriedades farmacológicas referem-se a alta seletividade e toxicidade seletiva ao agente infeccioso (MENDES et al., 2017).

Figura 2 - Estrutura do Aciclovir



Fonte: A autora, 2020.

ACD/ ChemSketch Freeware, versão 2015.2.5

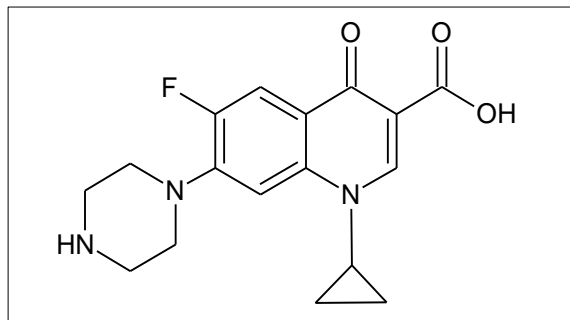
Tal fármaco é um análogo de nucleosídeos, sendo considerado como o antiviral mais importante no tratamento das infecções pelo vírus HSV-1 (SILVA, 2015).

A Herpes é uma infecção causada por dois vírus da família *Herpesviridae*, o HSV -1 e o HSV-2, os quais podem afetar a região da boca, principalmente labial, órgãos genitais e áreas próximas. As formas de manifestação divergem de indivíduo para indivíduo (GELLER et al., 2012). As infecções pelos vírus herpes simples (HSV-1 e HSV-2) representam as doenças sexualmente transmissíveis mais comuns a nível global, alcançando uma soroprevalência de 80% em adultos, e apresentam um amplo espectro de acometimento clínico (JOHNSON et al., 1989; ENGELBERG et al., 2003).

1.1.4.1.2 Cloridrato de Ciprofloxacino

Ciprofloxacino (Figura 3) é um agente antibiótico da classe da fluoroquinolonas usado no tratamento de infecções bacterianas, como infecções do trato urinário e pneumonia. Inibe a replicação do DNA inibindo a topoisomerase do DNA bacteriano e a DNA-girase (DAVIS; MARKHAM; BALFOUR, 1996).

Figura 3 - Estrutura do Ciprofloxacino



Fonte: A autora, 2020

ACD/ ChemSketch Freeware, versão 2015.2.5

Um dos grandes desafios da saúde pública relaciona-se a resistência aos antimicrobianos, a qual tem impacto na saúde humana e animal. Uma das causas para esse problema é o uso de antimicrobianos de má qualidade. A fim de assegurar medicamentos eficazes e com qualidade garantida, o monitoramento de antimicrobianos utilizados no Brasil é uma das ações planejadas pelo Ministério da Saúde. Nesse sentido, mediante as funções dos laboratórios oficiais, a estruturação e qualificação na análise desses medicamentos é estratégia para contenção da resistência antimicrobiana (BRASIL, 2018).

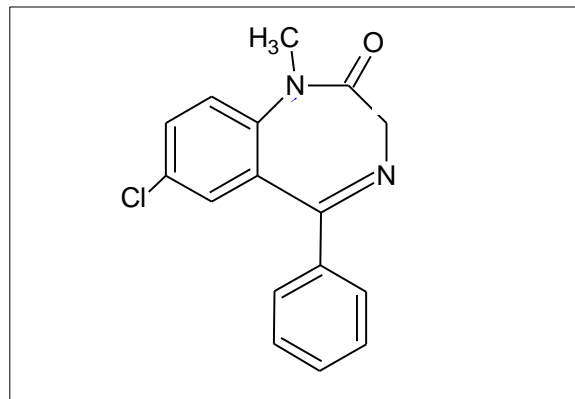
1.1.4.2 *Medicamento para distúrbio do Sistema Nervoso Central*

1.1.4.2.1 Diazepam

Diazepam (Figura 4) é um fármaco que modula o sistema nervoso, benzodiazepínico com ação duradoura e rápida. Seu mecanismo de ação consiste ao sítio alostérico nos canais iônicos de cloreto do receptor Ácido Gama-Aminobutírico Tipo A (GABA-A), o que gera um aumento da condutância dos íons cloreto. Essa mudança de carga leva a uma hiperpolarização da membrana neuronal e a uma

excitabilidade reduzida do neurônio. A indicação terapêutica mais comum é para o tratamento de transtornos de ansiedade, sendo também prescrito para a desintoxicação do álcool, convulsões recorrentes agudas e espasmos musculares graves e espasticidade associada a distúrbios neurológicos (CALCATERRA; BARROW, 2014).

Figura 4 - Estrutura do Diazepam



Fonte: A autora, 2020.
ACD/ ChemSketch Freeware, versão 2015.2.5

Segundo estudo publicado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), o transtorno de ansiedade atinge cerca de 3,6% da população no mundo e, nas Américas, essa prevalência possui, proporcionalmente, maior destaque por alcançar 5,6% dos seus habitantes. Nesse cenário, se evidencia o Brasil, em que os transtornos de ansiedades estão presentes em 9,3% da população, caracterizando-o como o país com maior número de casos desse distúrbio no mundo (OMS, 2017).

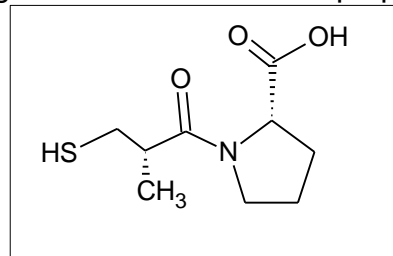
1.1.4.3 Medicamento de ação sobre o sistema cardiovascular

1.1.4.3.1 Captopril

O captopril (Figura 5) é um agente anti-hipertensivo cujo mecanismo de ação caracteriza-se pela inibição competitiva da Enzima Conversora De Angiotensina (ECA) (STULZE; TAGLIARI; SILVA, 2006). Os inibidores da ECA impedem a conversão de angiotensina I em Angiotensina II - um vasoconstritor potente, atenuando assim seus efeitos. O uso desse inibidor é a melhor alternativa de

medicamento por via oral ou sublingual para o tratamento de crises hipertensivas, principalmente quando o bloqueio do Sistema Renina-Angiotensina Aldosterona tenha indicação preferencial, como na insuficiência cardíaca congestiva, Acidente Vascular Cerebral (AVC), hipertensão arterial maligna e infarto agudo do miocárdio (MARTELLI; LONGO; SERIANO, 2008).

Figura 5 - Estrutura do Captopril



Fonte: A autora, 2020.
ACD/ ChemSketch Freeware, versão 2015.2.5.

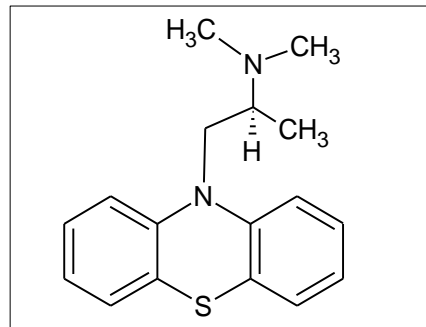
Segundo dados do Anuário Estatístico Farmacêutico de 2017, medicamentos para tratamento das doenças cardiovasculares alcançaram 16,6% do total de unidades farmacotécnicas vendidas no Brasil, o que caracteriza esse grupo de medicamentos como líder em vendas no mercado nacional (ANVISA, 2018).

1.1.4.4 Medicamento antialérgico

1.1.4.4.1 Cloridrato de Prometazina

A Prometazina (Figura 6) é um anti-histamínico de primeira geração pertencente ao grupo das fenotiazinas (PASTORINO, 2010). Sua ação consiste em inibir a liberação da histamina dos mastócitos ao antagonizar o receptor H₁ (HR1), impedindo os efeitos da histamina que ocorrem mediante a ligação dessa molécula com quatro subtipos de receptores: receptor de histamina HR1, HR2, HR3 e HR4 (CRIADO et al., 2010).

Figura 6 - Estrutura da Prometazina



Fonte: A autora, 2020

ACD/ ChemSketch Freeware, versão 2015.2.5.

Essa ligação é responsável por muitos sintomas das doenças alérgicas, tais como o prurido, a rinorreia, o broncoespasmo e a contração da musculatura lisa intestinal. Sua indicação é para o tratamento sintomático de todos os distúrbios incluídos no grupo das reações anafiláticas e alérgicas (BRUNTON; DANDAM; KNOLLMANN, 2012).

De acordo com dados da Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia, (2013) 30% da população brasileira possui algum tipo de alergia. Essa realidade caracteriza o Brasil como um país de alta prevalência de doenças alérgicas se comparado a outros países da América Latina e do mundo (FERNANDES et al., 2017).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Realizar a Verificação de Métodos da Farmacopeia Brasileira para controle de qualidade de medicamentos selecionados.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar a verificação de métodos farmacopeicos para os ensaios de Doseamento de amostras de comprimidos de Aciclovir, Diazepam, Captopril e Cloridrato de Prometazina;
- Realizar a verificação de métodos farmacopeicos para os ensaios de Teor do medicamento Cloridrato de Ciprofloxacino na forma farmacêutica de solução injetável de grande volume.

3 METODOLOGIA

3.1 Métodos Verificados

A Farmacopeia Brasileira 5ª e 6ª edição foi a fonte de busca para os métodos de controle de qualidade de medicamentos conforme orientado pela RDC Nº 37/2009. Utilizaram-se as técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por DAD e Espectrofotometria no UV-VIS.

As amostras foram oriundas do Provedor (Programa Nacional de Verificação de Medicamentos), Anvisa e compra comercial. Os princípios ativos compreenderam medicamentos Aciclovir (5 fabricantes e 6 amostras), Cloridrato de Prometazina (2 amostras), Captopril (3 fabricantes e 4 amostras), Diazepam (2 amostras) - na forma farmacêutica comprimido - e Ciprofloxacino (1 amostra) solução parenteral de grande volume. A Tabela 1 apresenta a relação dos medicamentos que foram utilizados no presente trabalho por classificação quanto ao registro na Anvisa.

Tabela 1 - Quantitativo dos medicamentos verificados segundo classificação da Anvisa

| Princípio ativo | Referência | Similar | Genérico |
|------------------------------|----------------------|-----------------------|--|
| Aciclovir | Uma amostra, 200 mg. | Uma amostra, 200 mg. | Duas amostras, 200 mg. Duas amostras, 400 mg. |
| Cloridrato de Ciprofloxacino | - | - | Uma amostra 2 mg/mL. |
| Diazepam | - | - | Uma amostra, 10 mg. Uma amostra, 5 mg. |
| Captopril | - | Uma amostra, 25 mg. | Duas amostras, 25 mg. Uma amostra, 50 mg |
| Cloridrato de Prometazina | - | Duas amostras, 25 mg. | - |

Fonte: Autora, 2020.

3.2 Materiais

3.2.1 Padrões analíticos

As substâncias químicas de referência utilizadas são oriundas do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Utilizou-se padrões da Farmacopeia Brasileira, (FB) - Aciclovir, Captopril, Cloridrato de Prometazina, Cloridrato de Ciprofloxacino e Diazepam - e da Farmacopeia Americana (USP) o Dissulfeto de Captopril.

3.2.2 Reagentes e Solventes

- a) Hidróxido de Sódio em lentilhas – com baixa % de Carbonato, Vetec;
- b) Água ultra purificada;
- c) Ácido Clorídrico 37%, Merck;
- d) Ácido Acético Glacial, Merck;
- e) Ácido Fosfórico P.A., Dinâmica;
- f) Metanol grau cromatográfico, gradiente Lichrosolv, Merck;
- g) Acetonitrila grau cromatográfico $\geq 99,9\%$, gradiente CHROMASOLV™ Honeywell;

3.2.3 Equipamentos e Acessórios

- a) Espectrofotômetro modelo Cary 50 Conc, software CaryWin UV e fabricante Varian.
- b) Cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo Nexera-i LC 2040 3D *Plus*, fabricante Shimadzu, sistema cromatográfico integrado em módulo único, composto por: bomba quartenária, degaseificador, autoamostrador, forno, detector UV-Vis (DAD) e software LabSolution®;
- c) balança semi-micro com resolução de 0,00001 g (Metler Toledo, Suíça);
- d) balança analítica XP 205 (Metler Toledo, Suíça);
- e) agitador mecânico Model 75 (BurrellScientific, EUA);
- f) capela de exaustão;

- g) Purificador de água, Milli-Q Integral 10 (Millipore, EUA);
- h) coluna *Symmetry*® C18, 5 µm, 4,6 mm x 250 mm;
- i) coluna ACE® C18 5 µm, 150 mm x 4,6 mm.

3.3 Procedimentos

3.3.1 Condições espectrofotométricas

As condições espectrofotométricas foram utilizadas para analisar os medicamentos com os princípios ativos Aciclovir, Cloridrato de Prometazina e Ciprofloxacino:

- a) Leitura com varredura, módulo *Scan*;
- b) Velocidade de leitura: Média;
- c) *Overlay Data*: Sobreposição entre os espectros.
- d) Comprimentos de onda: Aciclovir – 255 nm; Ciprofloxacino 272 nm; Cloridrato de Prometazina – 249 nm;

3.3.2 Condições cromatográficas

O Quadro 1 traz as condições do sistema cromatográfico, utilizadas de acordo com o princípio ativo analisado.

Quadro 1 - Condições analíticas do sistema de cromatografia líquida para a verificação de métodos de ensaio de doseamento

| Princípio ativo | Temperatura do forno | Volume de Injeção | Fluxo | Comprimento de Detecção (nm) | Fase móvel | Coluna |
|-----------------|----------------------|-------------------|------------|------------------------------|--|----------------------------|
| Captopril | 25°C | 20 µL | 1,0 mL/min | 220 | Ácido Fosfórico 0,11% (v/v)/ Metanol (45:55) | C18, 5 µm, 4,6 mm x 250 mm |
| Diazepam | 30°C | 20 µL | 0,8 mL/min | 254 | Água/ Acetonitrila/ Metanol (40:40:20) | C18 5 µm, 150 mm x 4,6 mm |

Fonte: Autora, 2020.

3.3.3 Preparo de Solução para verificação do Ensaio de Doseamento

3.3.3.1 Preparo de Solução Estoque de Substância Química de Referência (SESQR)

As soluções estoques foram preparadas na concentração de 200% e 250% da concentração de trabalho dos métodos referentes à cada princípio ativo, estão presentes na Tabela 2.

Tabela 2 - Soluções estoque de SQR preparadas para verificação de método de doseamento para os princípios ativos estudados

| Princípio Ativo | Concentração de Trabalho – Método farmacopeico | SESQR 200% | SESQR 250% | Diluyente |
|---------------------------|--|--------------|----------------|---|
| Aciclovir | 0,0015% (p/v) | 0,003% (p/v) | 0,00375% (p/v) | Hidróxido de Sódio/ Água/ Ácido Clorídrico |
| Ciprofloxacino. HCl | 0,0004% (v/v) | 0,0008% | 0,001% | Água |
| Diazepam | 20 µg/mL | 40 µg/mL | 50 µg/mL | Água, acetonitrila e álcool metílico (4:4:2) (método cromatográfico) e em Ácido Clorídrico 0,1 mol/L (Espectrofotometria) |
| Captopril | 1 mg/ mL | 2,0 mg/mL | 2,5 mg/mL | Ácido fosfórico a 0,11% (v/v) e álcool metílico(45:55) |
| Cloridrato de Prometazina | 5 µg/mL | 10,00 µg/mL | 12,50 µg/mL | Ácido Clorídrico 2 mol/L |

Fonte: Autora, 2020.

Com essas SESQR, avaliou-se a Seletividade, Exatidão, Linearidade e Efeito Matriz dos métodos Farmacopeicos dos diferentes fabricantes referentes aos medicamentos. A partir da adição de alíquotas crescentes da SESQR 250% à um volume fixo de SESQR 200%, construiu-se uma curva de calibração nas concentrações finais de 50%, 75%, 100%, 125% e 150% da concentração de trabalho.

3.3.3.2 *Preparo de Solução Estoque da Amostra (SEAM)*

A SEAM foi utilizada para preparar as soluções amostra fortificadas, a partir de um “pool” da amostra, sendo a sua concentração 200% da concentração de trabalho, a fim de avaliar os parâmetros de Seletividade, Exatidão, Linearidade, Efeito Matriz e Exatidão. A curva de calibração foi preparada a partir da fortificação da SEAM com a SESQR 250%, nas concentrações finais de 50%, 75%, 100%, 125% e 150% da concentração de trabalho.

3.3.3.3 *Soluções de Substância Química de Referência (SQR)*

Prepara-se uma solução de substância química de referência na concentração de trabalho que o método orienta. Essa solução permite a avaliação dos parâmetros de Exatidão e Efeito Matriz do método verificado.

- ✓ Aciclovir – SQR CT 0,0015% (p/v).
- ✓ Cloridrato de Ciprofloxacino – SQR CT 0,0004% (v/v).
- ✓ Diazepam – SQR CT 0,002% (p/v) ou 20 µg/mL.
- ✓ Captopril – SQR CT 1 mg/mL.
- ✓ Cloridrato de Prometazina – SQR CT 5 µg/mL.

3.4 **Verificação de Métodos**

Para os produtos Aciclovir, Cloridrato de Ciprofloxacino, Captopril, Diazepam e Cloridrato de Prometazina, desenvolveu-se o processo de verificação de métodos para ensaios de controle de qualidade de Doseamento, a partir do estudo dos seguintes parâmetros: Seletividade, Linearidade, Repetibilidade, Avaliação do Efeito Matriz e Exatidão.

A técnica de espectrofotometria de absorção no UV-Visível foi utilizada para a verificação de métodos no ensaio de teor dos medicamentos Aciclovir, Cloridrato de Prometazina, e Cloridrato de Ciprofloxacino.

A cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por UV-VIS foi empregada na verificação de métodos do ensaio de Teor. Utilizou-se tal técnica para a verificação dos medicamentos Captopril e Diazepam.

3.4.1 Determinações da Seletividade

Realizou-se o preparo de amostras fortificadas (AMF) a partir da mistura da SEAM 200% com a SESQR 250%, obtendo-se três soluções nas concentrações correspondentes a 75%, 100% e 125%, nível 2, 3 e 4, respectivamente da concentração de trabalho descrita no método.

Para métodos cromatográficos, a seletividade foi avaliada por meio de uma comparação dos sinais analíticos das soluções amostra fortificadas nos três níveis, com a solução SQR, comparando os sinais cromatográficos, resolução (quando aplicável) e pureza de pico. O pico do analito alvo deve ter pureza de pico $> 0,98$.

Em relação ao método espectrofotométrico realizou-se a comparação dos sinais analíticos de soluções da curva de calibração no diluente com soluções amostra fortificadas. A sobreposição dos espectros de varredura das soluções da curva de calibração no diluente 75%, 100% e 125% da concentração de trabalho e das soluções AMF2 (amostra fortificada com concentração de trabalho 75%), AMF3 (amostra fortificada com concentração de trabalho 100%) e AMF4 (amostra fortificada com concentração de trabalho 125%), demonstra a seletividade do método.

3.4.2 Determinação da Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir da curva de calibração construída das alíquotas crescentes da SESQR 250% adicionadas à alíquota fixa de SESQR 200%, para obter as concentrações correspondentes a cinco níveis 50%, 75%, 100%, 125% e 150%. Os cálculos para a avaliação da linearidade basearam-se no valor do coeficiente de correlação ($R \geq 0,990$), na investigação quanto a homocedasticidade dos dados - nível de significância de 5% - pelo teste paramétrico de *Breusch-Pagan* e o coeficiente angular significativamente diferente de zero, conforme preconizado na RDC 166/2017.

3.4.3 Determinação da Repetibilidade

A repetibilidade foi avaliada a partir do Desvio Padrão Relativo (DPR) das leituras da amostra, em quadruplicata, na concentração de trabalho do método. Para

considerar que o método seja repetitivo, o DPR tem que ser menor que 5% entre as leituras.

3.4.4 Avaliação do Efeito Matriz

O Efeito Matriz foi avaliado nas concentrações de 50 a 150% da concentração de trabalho em relação a SESQR e a matriz fortificada de duas formas:

a) Efeito Matriz Relativo

Recuperação das amostras, (pela fórmula abaixo) cujo limite definido é de 5%;

$$x = \frac{\text{Resposta da amostra} \times 100}{\text{Resposta do SQR}} - 100$$

Sendo:

Resposta do SQR: Absorbância ou Área.

Resposta da amostra: Absorbância ou Área.

b) Comparação entre curvas SESQR vs Amostra fortificada

Construiu-se uma curva de calibração em soluções de SESQR a partir de alíquotas crescentes da SESQR 250% adicionadas à alíquota fixa de SESQR 200%, obtendo concentrações correspondentes a cinco níveis de 50% a 150% da concentração de trabalho. Comparou-se essa curva com a curva de calibração construída na matriz com o auxílio do Software *ActionStat*®. Avaliou-se os resíduos quanto a homocedasticidade e a normalidade; primeiro, pelo Teste de *BruschPagan* em que a homocedasticidade, isto é, as variâncias são constantes ao longo do intervalo de medição, foi verificada quando $p\text{-valor} > 0,05$. Já, a normalidade na distribuição dos resíduos, foi avaliada pelo Teste de *Shapiro-Wilk*, sendo considerada normal a distribuição dos resíduos quando valor de $p >$ que 0,05.

Ao avaliar os dados e não havendo normalidade na distribuição dos resíduos e/ou não sendo homocedásticos, pode-se aplicar uma ponderação sendo uma variável transformada, como raiz quadrada, logaritmo e inverso. Se a variável transformada for homocedástica, ela pode ser usada na análise. Após esse tratamento, avalia-se os “Testes de Comparação” do Software *ActionStat*® em relação aos três parâmetros “Igualdade de intercepto”, “Coincidência” e “Paralelismo”, sendo considerado que não

há efeito matriz preponderante na avaliação da amostra quando para os três parâmetros o valor de p foi maior que 0,05.

3.4.5 Determinação da Exatidão

A Exatidão foi computada de acordo com a recuperação da amostra *versus* a recuperação da SQR, em cinco concentrações de trabalho (CT) (de 50 a 150%). O cálculo da exatidão em cada nível de concentração será feito de acordo com a equação abaixo:

$$x = \frac{\text{Resposta da amostra} \times 100}{\text{Resposta do SQR}}$$

Sendo:

Resposta do SQR: Absorbância ou Área.

Resposta da amostra: Absorbância ou Área.

A exatidão será considerada satisfatória quando a recuperação estiver dentro da faixa estabelecida no Quadro 2 referente a concentração de trabalho do ativo no método farmacopeico proposto para análise do mesmo.

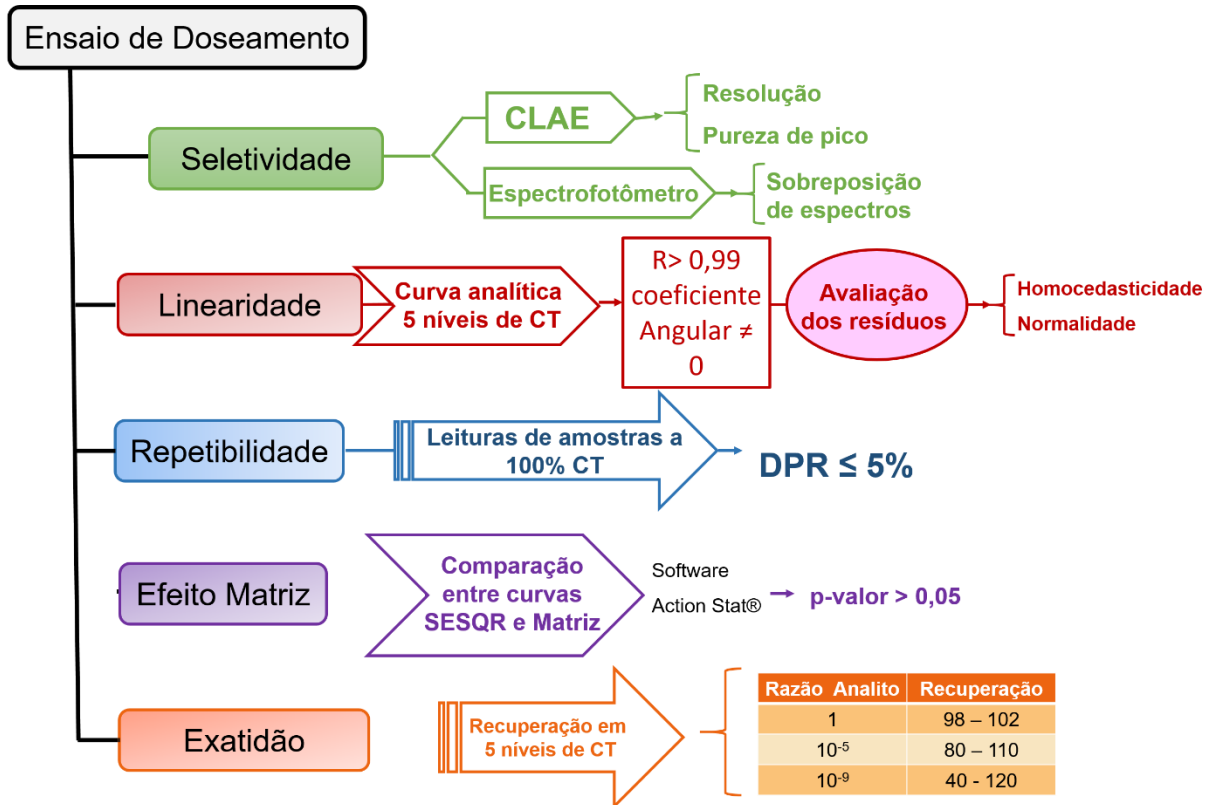
Quadro 2 - Critério de aceitação para exatidão

| Analito, % | Razão do analito | Unidade | Recuperação média, % |
|-------------------|-------------------------|----------------|---------------------------------|
| 100 | 1 | 100% | 98 – 102 |
| 10 | 10 ⁻¹ | 10% | 98 – 102 |
| 1 | 10 ⁻² | 1% | 97 – 103 |
| 0,01 | 10 ⁻³ | 0,1% | 95 – 105 |
| 0,001 | 10 ⁻⁴ | 100 ppm | 90 – 107 |
| 0,0001 | 10 ⁻⁵ | 10 ppm | 80 – 110 |
| 0,00001 | 10 ⁻⁶ | 1ppm | 80 – 110 |
| 0,000001 | 10 ⁻⁷ | 100 ppb | 80 – 110 |
| 0,0000001 | 10 ⁻⁸ | 10 ppb | 60 - 115 |
| 0,00000001 | 10 ⁻⁹ | 1ppb | 40 - 120 |

Fonte: AOAC, 2016.

Abaixo, a Figura 7, apresenta o fluxograma que guia o processo de verificação de método com suas avaliações utilizado nesse trabalho.

Figura 7 - Procedimento de verificação de métodos e sua avaliação



Fonte: Autora, 2020.

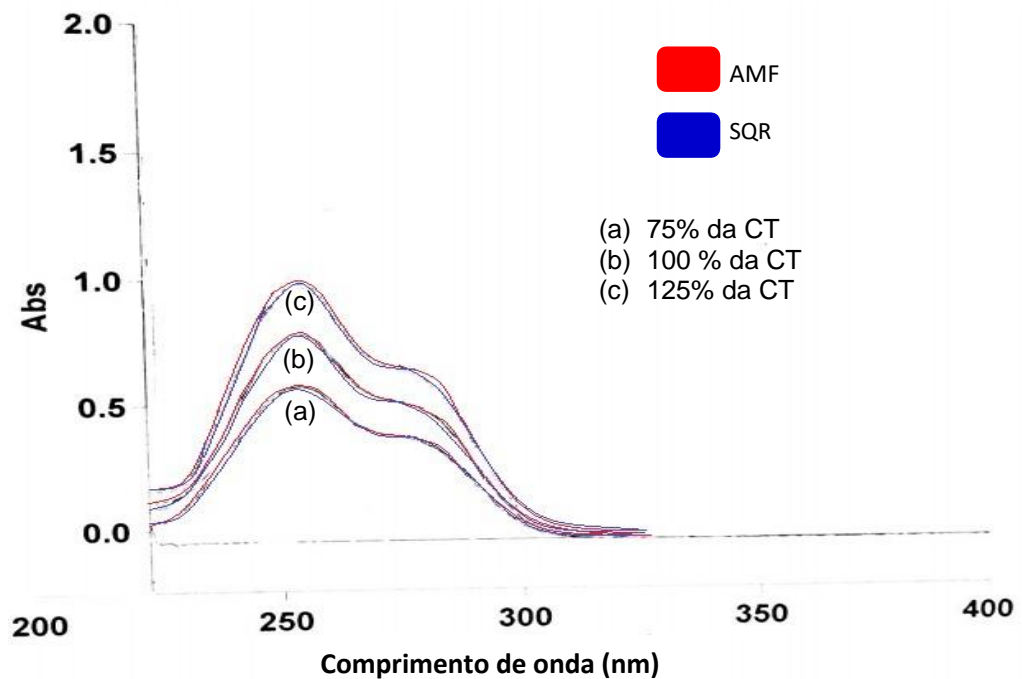
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Aciclovir

4.1.1 Seletividade

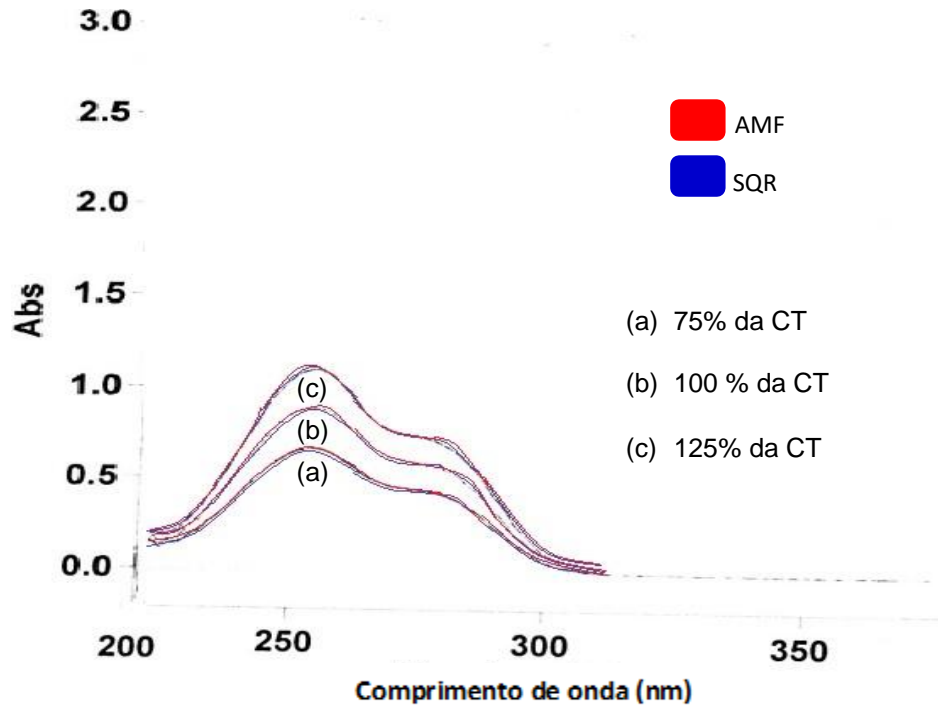
As Figuras 8 a 13 apresentam os dados da seletividade dos medicamentos Aciclovir.

Figura 8 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante A – 200 mg (Referência)



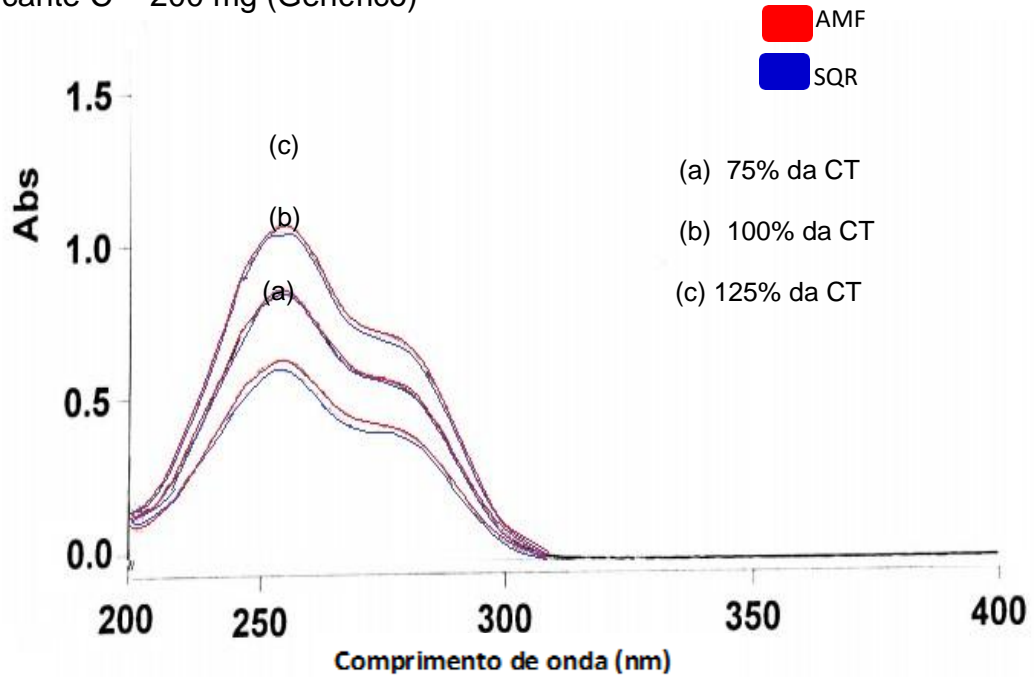
Fonte: Autora, 2020.

Figura 9 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante A – 200 mg (Similar)



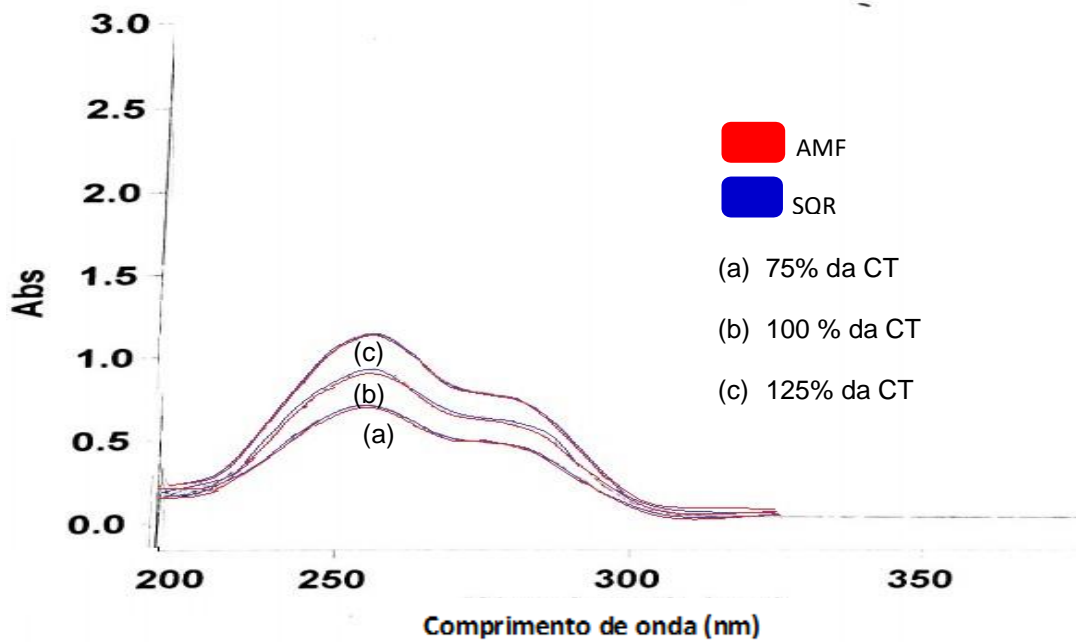
Fonte: Autora,2020

Figura 10 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante C – 200 mg (Genérico)



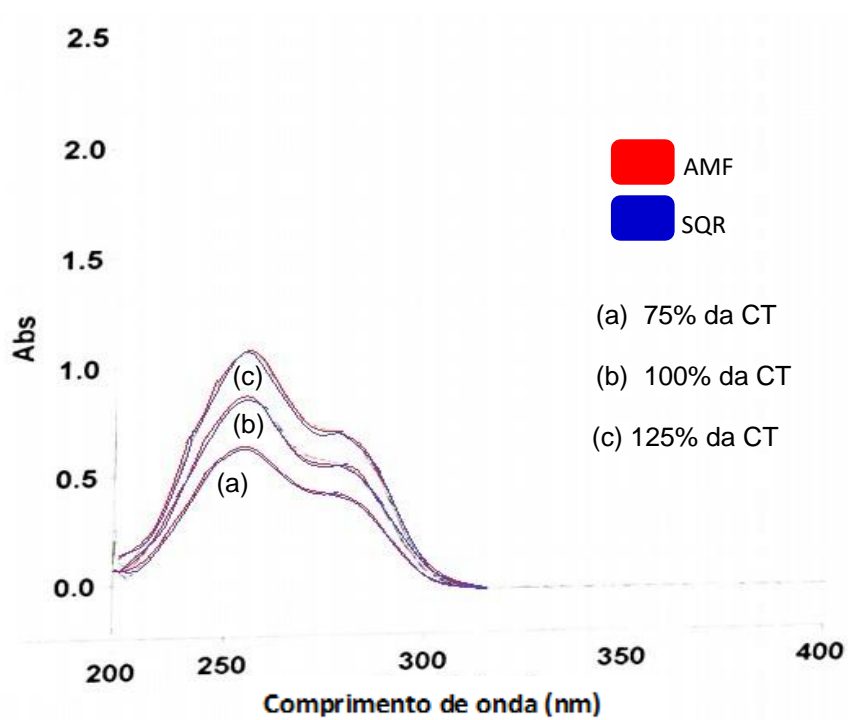
Fonte: Autora, 2020.

Figura 11 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante D – 200 mg (Genérico)



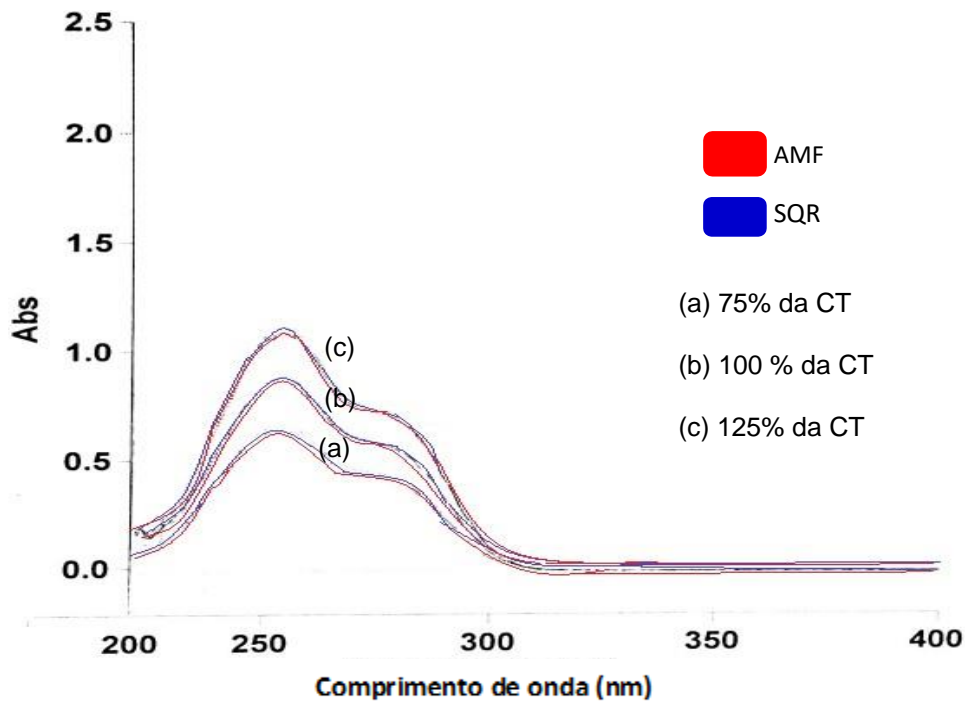
Fonte: Autora,2020.

Figura 12 - Espectros de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante E – 400 mg (Genérico).



Fonte: Autora,2020.

Figura 13 - Espectro de avaliação da seletividade do medicamento Aciclovir do Fabricante F – 400 mg (Genérico)



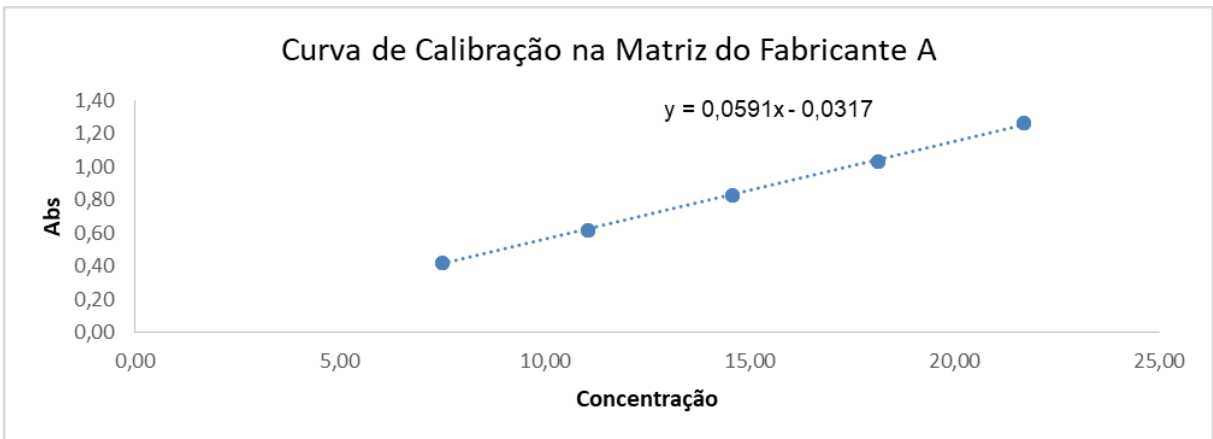
Fonte: Autora, 2020.

Avaliando as Figuras 8 a 13, observou-se, conforme os espectros demonstrados, que as amostras de medicamentos fortificados e a substância química de referência, em concentrações de trabalho de 75%, 100% e 125% obtiveram perfis espectrofotométricos semelhantes. Sendo assim, o método farmacopeico demonstrou ser seletivo para o ativo na presença de outros componentes da matriz mesmo com a vulnerabilidade inerente à medida de seletividade pela técnica espectrofotométrica.

4.1.2 Linearidade

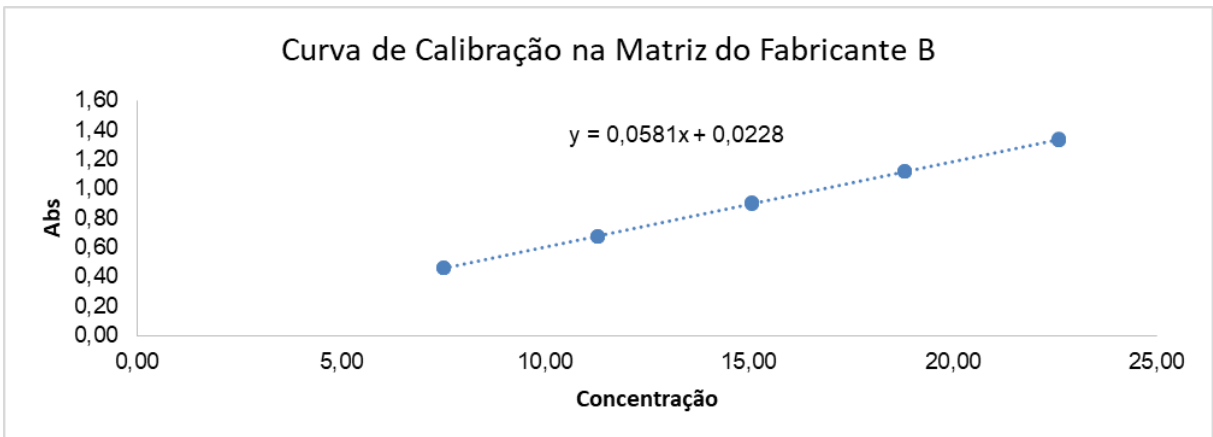
As Figuras 14 a 19 demonstram as curvas de linearidade obtidas para cada fabricante do medicamento Aciclovir com os respectivos coeficientes angulares (a) e os coeficientes lineares (b). Na Tabela 3, os dados referentes aos coeficientes de determinação (R^2) e correlação (R) são apresentados.

Figura 14 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante A (Referência, 200 mg)



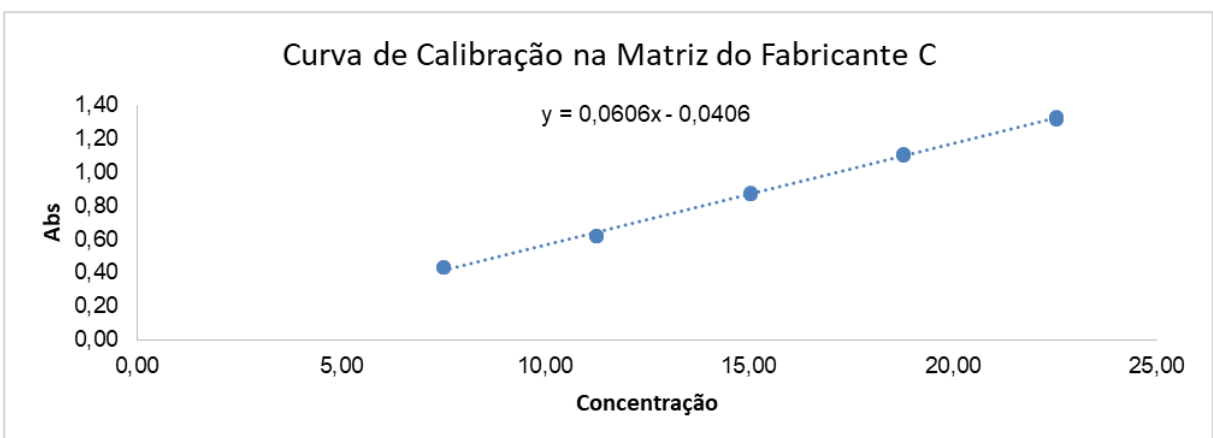
Fonte: Autora, 2020.

Figura 15 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante B (Similar, 200 mg)



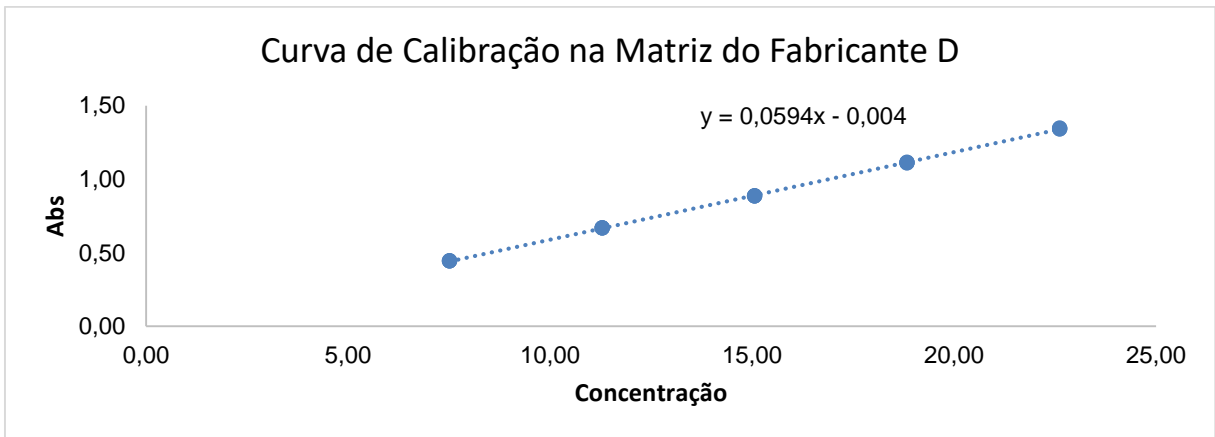
Fonte: Autora, 2020.

Figura 16 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante C (Genérico, 200 mg)



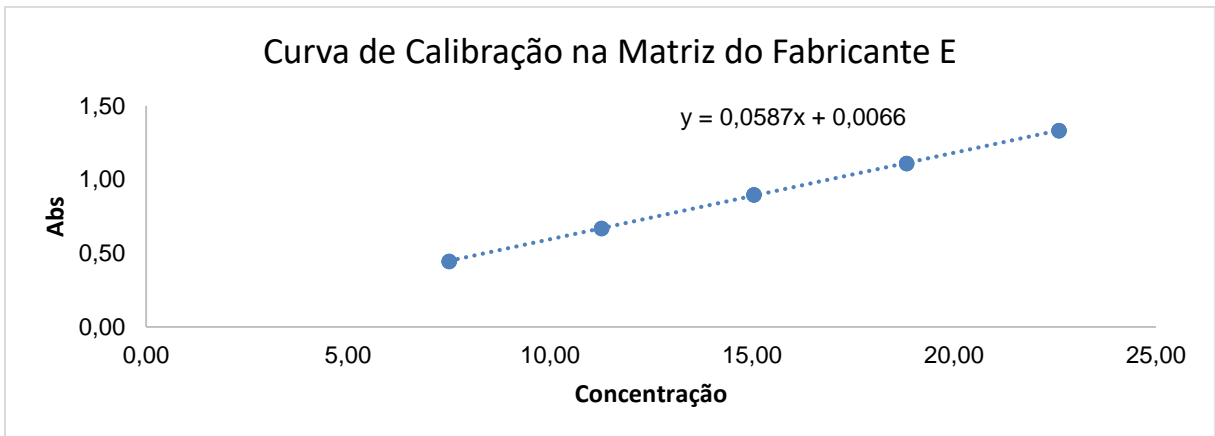
Fonte: Autora, 2020.

Figura 17 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante D (Genérico, 200 mg)



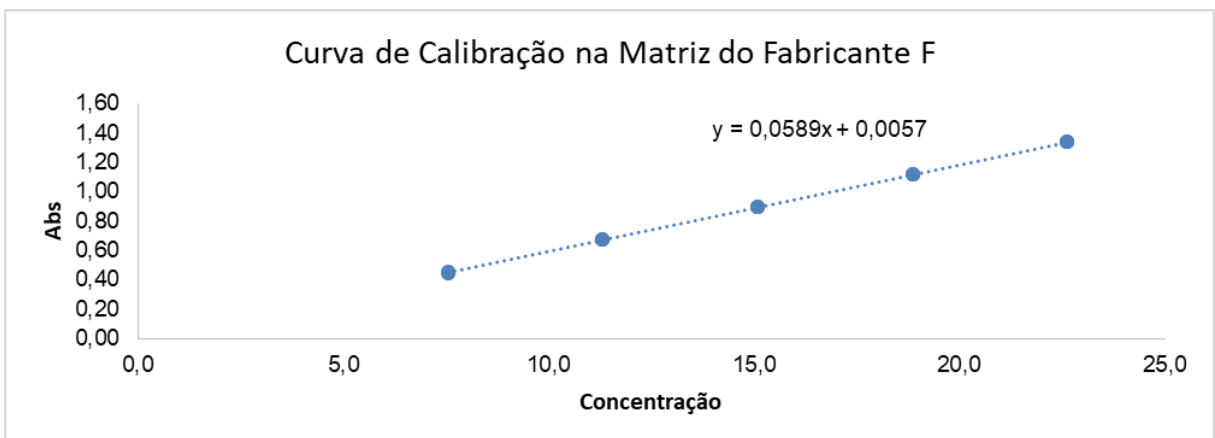
Fonte: Autora, 2020.

Figura 18 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante E (Genérico, 400 mg).



Fonte:

Figura 19 - Curva de calibração amostra fortificada do medicamento Aciclovir do Fabricante F (Genérico, 400 mg)



Fonte: Autora, 2020.

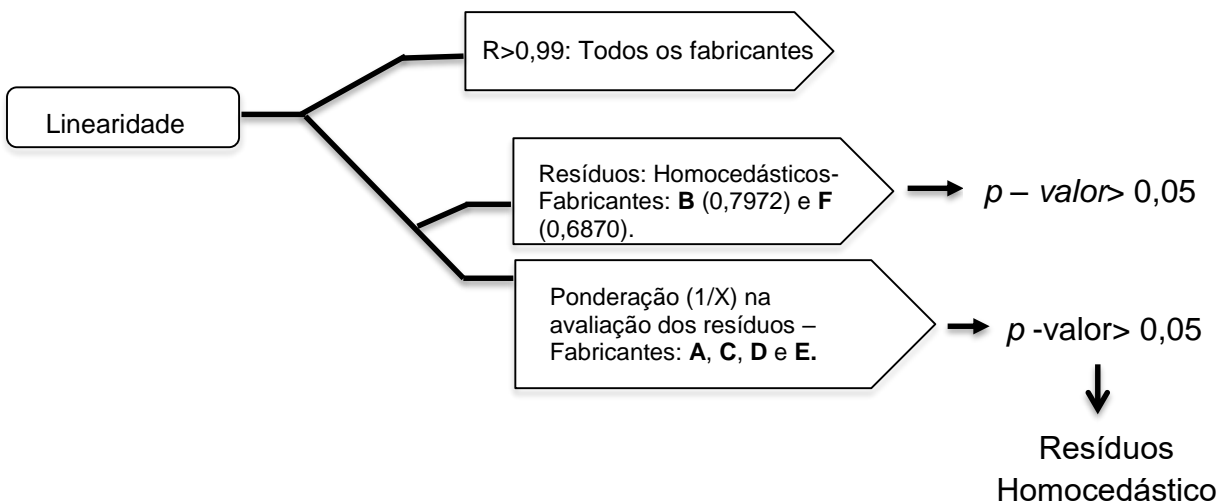
Tabela 3 - Dados dos parâmetros de avaliação da linearidade do método farmacopeico nas matrizes de Aciclovir avaliadas

| Fabricante | Coefficiente de Correlação | Coefficiente de Determinação |
|------------|----------------------------|------------------------------|
| A | $R^2 = 0,999$ | $R = 0,9994$ |
| B | $R^2 = 0,9998$ | $R = 0,9998$ |
| C | $R^2 = 0,9982$ | $R = 0,9990$ |
| D | $R^2 = 0,9999$ | $R = 0,99995$ |
| E | $R^2 = 0,9999$ | $R = 0,9995$ |
| F | $R^2 = 1$ | $R = 1$ |

Fonte: Autora, 2020.

A Figura 20 apresenta o esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método.

Figura 20 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as matrizes avaliadas



A linearidade na quantificação dos ativos na faixa de trabalho apresentou-se presente no método farmacopeico para as matrizes verificadas, como se observa com os coeficientes de correlação linear com valores maiores que 0,99, as análises de resíduos apresentaram-se com variância constante, demonstrando a homocedasticidade na distribuição — conforme apresentado na Figura 20 - e os coeficientes angulares diferentes de zero.

4.1.3 Repetibilidade

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos na avaliação da Repetibilidade do método Farmacopeico para os medicamentos avaliados.

Tabela 4 - Resultados do DPR nas matrizes de Aciclovir em estudo para avaliação da Repetibilidade

| % DPR | | | | | | | |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------------|
| Fabricante | A | B | C | D | E | F | Resultado |
| DPR (%) | 0,3 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,2 | 0,5 | < 5% APROVADOS |

Fonte: Autora, 2020.

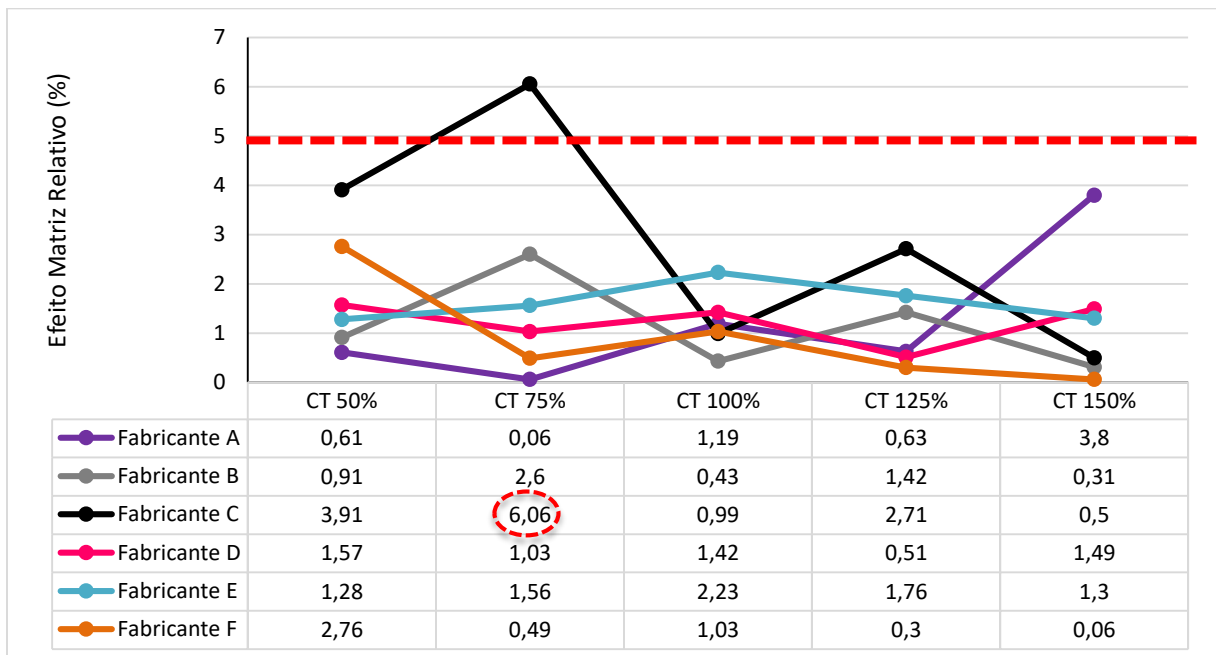
De acordo com os resultados da Tabela 4, os DPR apresentaram valores menores que 5%, sendo assim foi considerado um método repetitivo para os seis fabricantes avaliados.

4.1.4 Avaliação do Efeito Matriz

- Efeito matriz relativo

A Figura 21 apresenta os resultados gerados na avaliação do efeito matriz relativo.

Figura 21 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Aciclovir em estudo



Fonte: Autora, 2020.

A avaliação do efeito matriz relativo demonstrou, no geral, que para as seis matrizes verificadas não houve efeito matriz, porque os resultados estiveram abaixo do limite estabelecido de 5%. Vale ressaltar, ainda, que para o fabricante C, na concentração de trabalho de 75% houve presença de efeito matriz, cuja recuperação foi de 6,06%. Contudo, tal resultado não invalida a verificação de método para essa matriz, visto que na avaliação estatística entre as curvas não foi comprovada a presença de efeito matriz, conforme demonstrado na Tabela 5. Adicionalmente, há a possibilidade de ter ocorrido um erro analítico, porque o valor obtido foi próximo do valor tomado como referência nessa avaliação.

- Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística

A Tabela 5 mostra os resultados estatísticos da comparação entre curvas da amostra fortificada e do SQR.

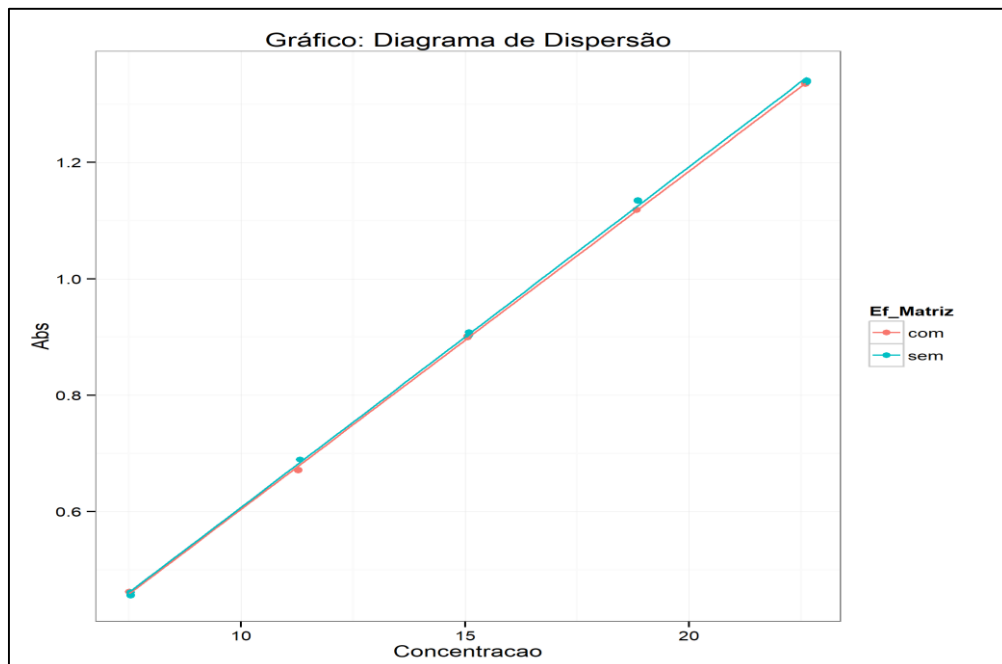
Tabela 5 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Aciclovir fortificada vs SQR

| Testes de Comparação - <i>p</i> -valor. | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Fabricante / Parâmetro | A | B | C | D | E | F |
| Intercepto | 0,42449949 | 0,9385168 | 0,92292304 | 0,94544776 | 0,82302363 | 0,21974913 |
| Paralelismo | 0,29150313 | 0,3167087 | 0,83901034 | 0,95467559 | 0,98708114 | 0,38549705 |
| Coincidência | 0,56626202 | 0,0297 961 | 0,97475993 | 0,99759563 | 0,94545026 | 0,31676144 |

Fonte: Autora, 2020.

A avaliação estatística comparando as curvas pelo software *ActionStat*® demonstrou ausência de efeito matriz, uma vez que, a maioria dos valores nos testes de comparação entre as curvas estiveram acima de 0,05. Para o fabricante B, observou-se que o parâmetro de coincidência *p*-valor foi menor que 0,05, no entanto, tomando em conta a preposição analítica, avaliaram-se visualmente as curvas, e observou-se a sobreposição entre as curvas, como mostrado na Figura 22.

Figura 22 - Avaliação visual gerada pelo software *ActionStat*® na comparação entre as curvas de calibração matriz fabricante B fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)



Fonte: Autora, 2020.

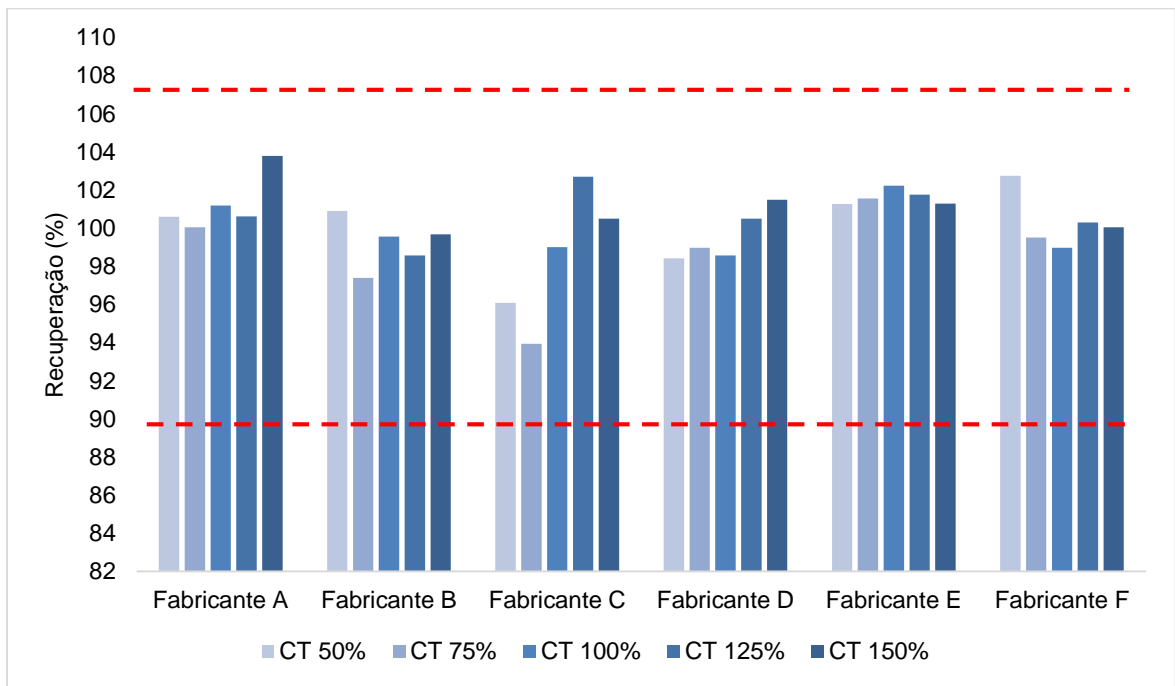
Outra abordagem utilizada na literatura e que embasa a avaliação do efeito matriz, diz respeito à comparação dos coeficientes angulares das curvas de calibração da amostra fortificada e do SQR. Um DPR de até 15% entre os coeficientes angulares é considerado aceitável e, pode-se estabelecer que os constituintes da matriz não alteram a resposta instrumental em relação à solução padrão (MATUSZEWSKI, 2006). Mediante à essa forma de estudo, o desvio padrão relativo encontrado foi de 0,49%, evidenciando a ausência de efeito matriz do medicamento Aciclovir referente ao fabricante B.

A partir dos dados obtidos pela avaliação do efeito matriz sob duas formas, pode-se inferir que o método farmacopeico nas matrizes analisadas não possui efeito matriz e, assim, a quantificação do Aciclovir em meio aos excipientes dos medicamentos de cada fabricante verificado não é afetada.

4.1.5 Exatidão

A avaliação da exatidão no doseamento do Aciclovir, a partir do método farmacopeico, têm seus resultados apresentados na Figura 23. A concentração de trabalho para a quantificação do Aciclovir, segundo a Farmacopeia Brasileira, é de 0,0015%. Dessa forma, a faixa de recuperação média na avaliação da Exatidão é de 90% – 107%, conforme estabelecido no Quadro 2.

Figura 23 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Aciclovir nas seis matrizes em estudo



Fonte: Autora, 2020.

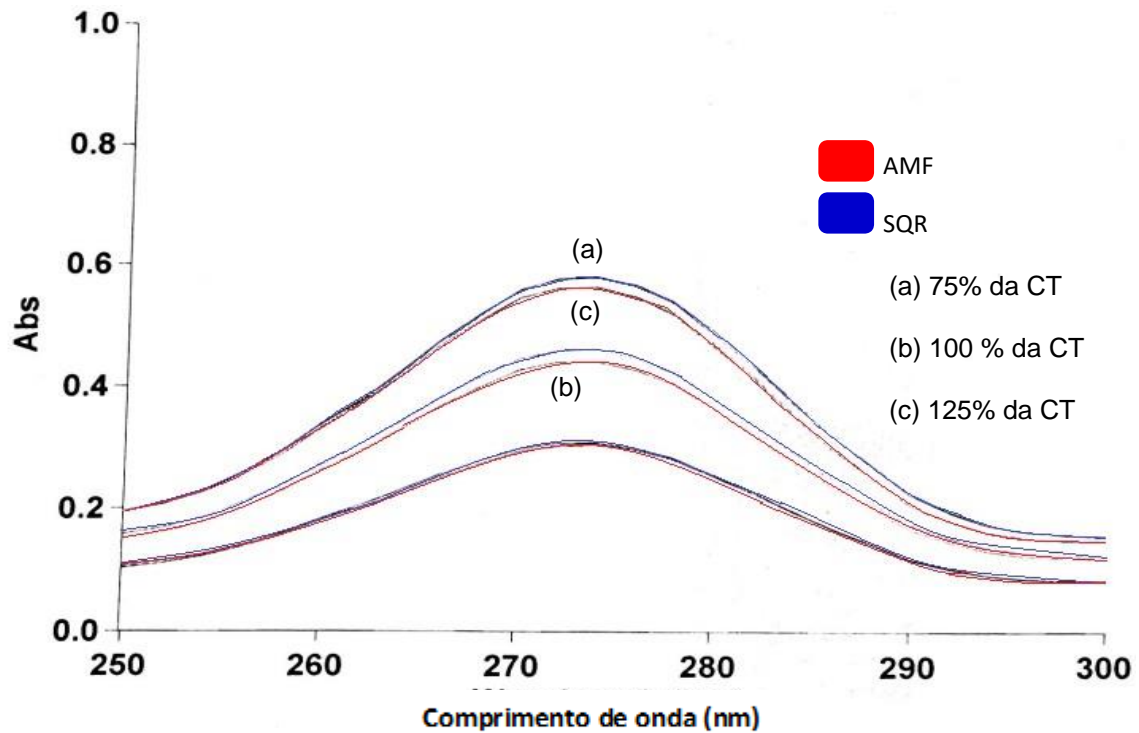
Todos os resultados estiveram presentes nessa faixa e, isso, demonstra a exatidão do método compendial, para as matrizes verificadas, para a determinação do teor de Aciclovir.

4.2 Cloridrato de Ciprofloxacino

4.2.1 Seletividade

A Figura 24 apresenta os dados referentes a avaliação da seletividade do medicamento Cloridrato de Ciprofloxacino.

Figura 24 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Ciprofloxacino.

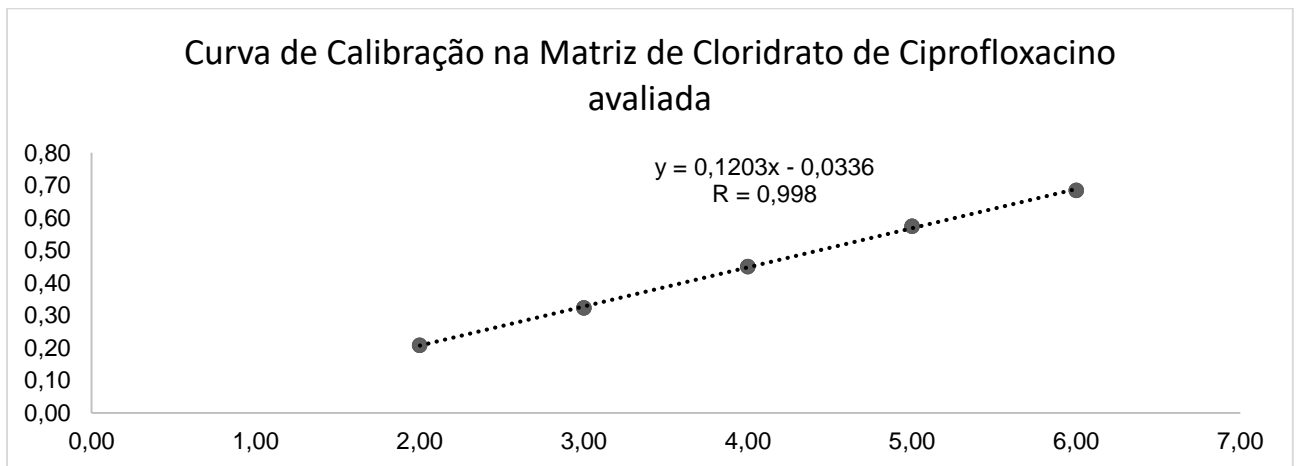


O espectro apresentado entre a amostra do medicamento fortificado e a SQR, em concentrações de trabalho de 75%, 100% e 125% obtiveram perfis espectrofotométricos semelhantes. O método farmacopeico demonstrou seletividade para o ativo na presença de outros componentes da matriz, mesmo diante da limitação da técnica espectrofotométrica.

4.2.2 Linearidade

A Figura 25 apresenta a curva de linearidade obtida para a matriz avaliada com coeficiente angular (a), o coeficiente linear (b) e o coeficiente de correlação (R).

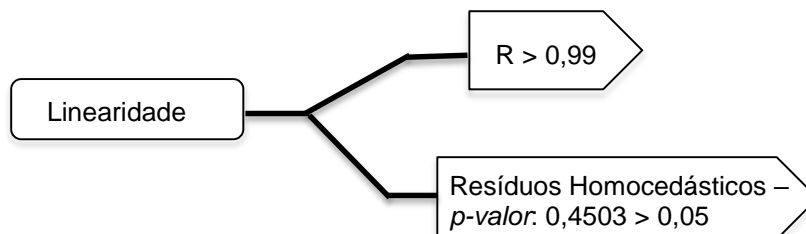
Figura 25 - Curva de calibração amostra fortificada do Cloridrato de Ciprofloxacino (Genérico, 2 mg.ml⁻¹)



Fonte: Autora, 2020.

A Figura 26 demonstra o Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método com os dados referentes ao coeficiente de correlação (R) da curva de calibração da matriz bem como a avaliação dos resíduos.

Figura 26: Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino



Fonte: Autora, 2020.

A avaliação da linearidade do método farmacopeico na quantificação do Ciprofloxacino sob a forma farmacêutica de solução injetável apresentou $R > 0,99$, resíduos com distribuição homocedástica e o coeficiente angular diferente de zero.

4.2.3 Repetibilidade

Os dados referentes ao estudo da exatidão no doseamento do Cloridrato de Ciprofloxacino, a partir do método farmacopeico, têm seus resultados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados da avaliação da Repetibilidade para a matriz de Ciprofloxacino.HCl em análise

| Produto | Ciprofloxacino.HCl |
|-----------|--------------------|
| DPR (%) | 0,7 |
| Resultado | Aprovado |

Fonte: Autora, 2020.

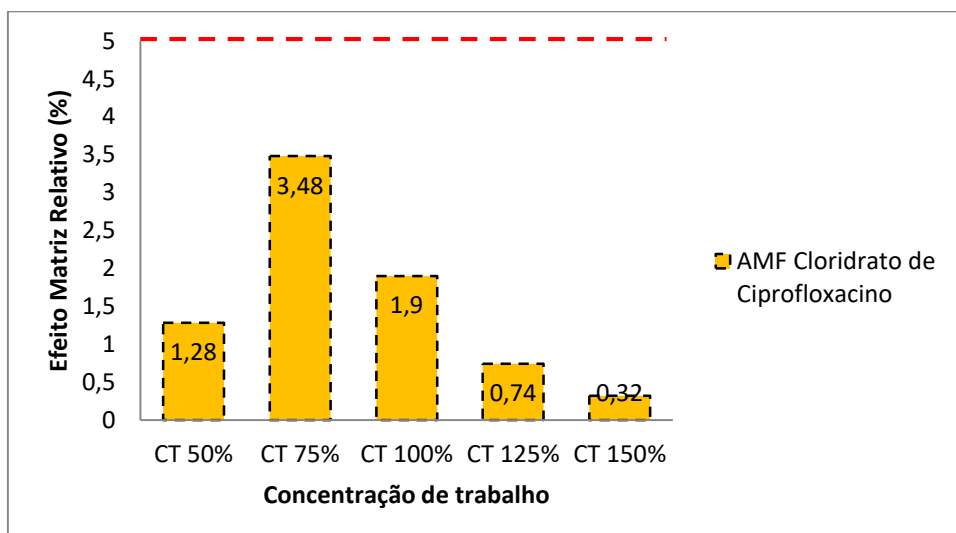
A partir dos resultados da Tabela 6, verifica-se que há Repetibilidade do método farmacopeico para a matriz investigada, haja vista o DPR menor que 5%.

4.2.4 Avaliação do Efeito Matriz

- Efeito Matriz relativo

Os resultados da avaliação do efeito matriz relativo para a amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino na Figura 27.

Figura 27 - Efeito matriz relativo da amostra fortificada Ciprofloxacino.HCl em cinco níveis de avaliação



Fonte: Autora, 2020.

Tomando-se a avaliação pelo efeito matriz relativo, observa-se que para os cinco níveis avaliados, esse produto não apresentou efeito matriz relativo - valores < 5% - ao ser avaliado pelo método compendial verificado.

- *Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística*

A seguir, a Tabela 7, apresenta os resultados de avaliação comparativa das curvas da amostra fortificada e SQR para a matriz de Cloridrato de Ciprofloxacino em estudo.

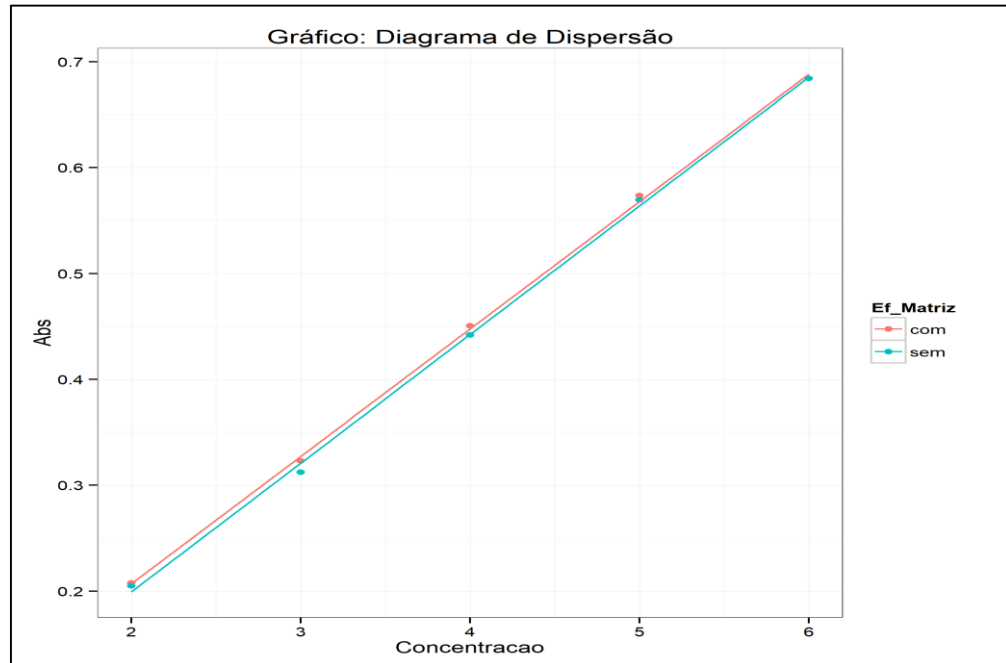
Tabela 7 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino fortificada vs SQR

| Parâmetro | p-valor |
|------------------|----------------|
| Intercepto | 0,076446172 |
| Paralelismo | 0,358411967 |
| Coincidência | 0,019261769 |

Fonte: Autora, 2020.

A comparação entre as curvas pelo software *ActionStat®*, demonstrou que no parâmetro de coincidência o p-valor foi menor que 0,05, mas ao se avaliar as curvas (Figura 28), pode-se inferir que, não há efeito matriz para a quantificação do Ciprofloxacino na matriz do produto analisado a partir do método proposto pela farmacopeia nacional. Além disso, ao se comparar o DPR entre os coeficientes angulares das curvas de calibração da amostra e SQR, obtém-se o valor de 0,99% e, assim, é verificado a ausência de efeito matriz – DPR<15% (MATUSZEWSKI, 2006).

Figura 28 - Avaliação visual gerada pelo software ActionStat® na comparação entre as curvas de calibração amostra de Cloridrato de Ciprofloxacino fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)

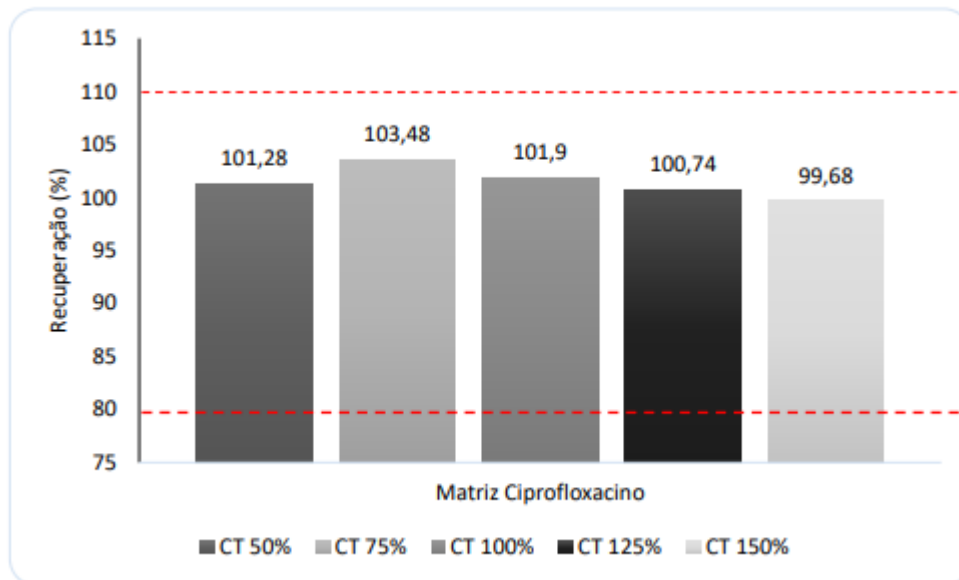


Fonte: Autora, 2020.

4.2.5 Exatidão

A exatidão tem seus resultados de recuperação expostos na Figura 29.

Figura 29 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Cloridrato de Ciprofloxacino nas cinco concentrações de trabalho



Fonte: Autora, 2020.

O método farmacopeico orienta que para a análise de teor do Ciprofloxacino, a concentração de trabalho seja 0,0004% (v/v). Assim, a faixa de recuperação média na avaliação da Exatidão é 80% a 110%, conforme especificado no Quadro 2. Todos os resultados estiveram dentro da faixa de recuperação recomendada, demonstrando a exatidão do método sob a matriz verificada.

4.3 Diazepam

A Farmacopeia Brasileira orienta dois métodos para a análise de teor do Diazepam, uma por técnica espectrofotométrica e outra por CLAE. O presente trabalho realizou a verificação de métodos para esse ensaio em ambas as técnicas, para uma amostra de genérico 10 mg. Já, para a amostra de 5 mg (genérico), a verificação de métodos ocorreu somente com o ensaio feito por CLAE, devido a demanda de análise para o laboratório.

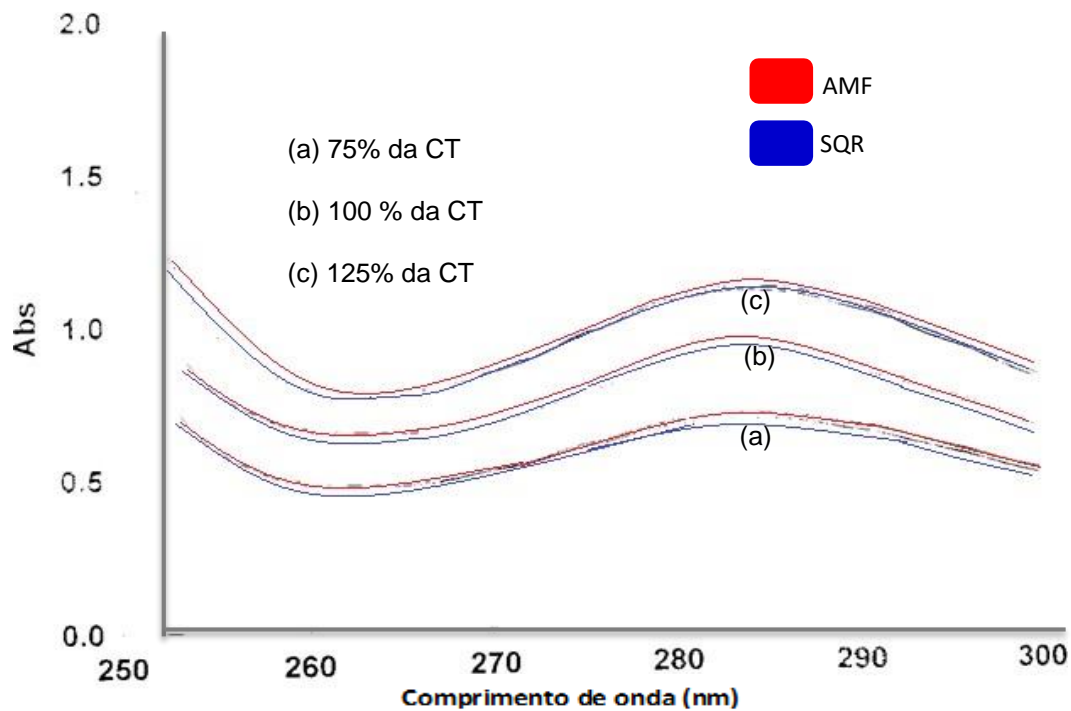
4.3.1 Fabricante I – 10 mg

4.3.1.1 Seletividade

A) Método espectrofotométrico

A Figura 30 apresenta os espectros referentes a avaliação da seletividade do método compendial para o produto avaliado.

Figura 30 - Espectro de avaliação da seletividade do Diazepam 10 mg.



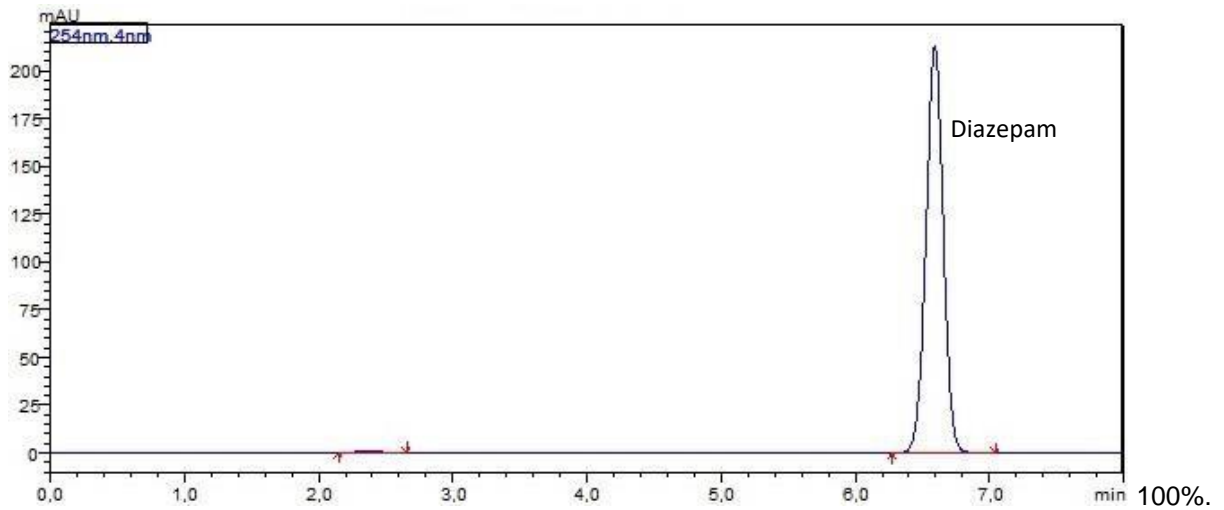
Fonte: Autora, 2020.

Foi observado o mesmo perfil de absorvância espectrofotométrica entre a matriz fortificada e o SQR, nas concentrações de trabalho de 75%, 100% e 125%. Devido ao mesmo perfil de absorvância, observa-se a seletividade do método farmacopeico para a matriz do medicamento analisado.

B) Método cromatográfico

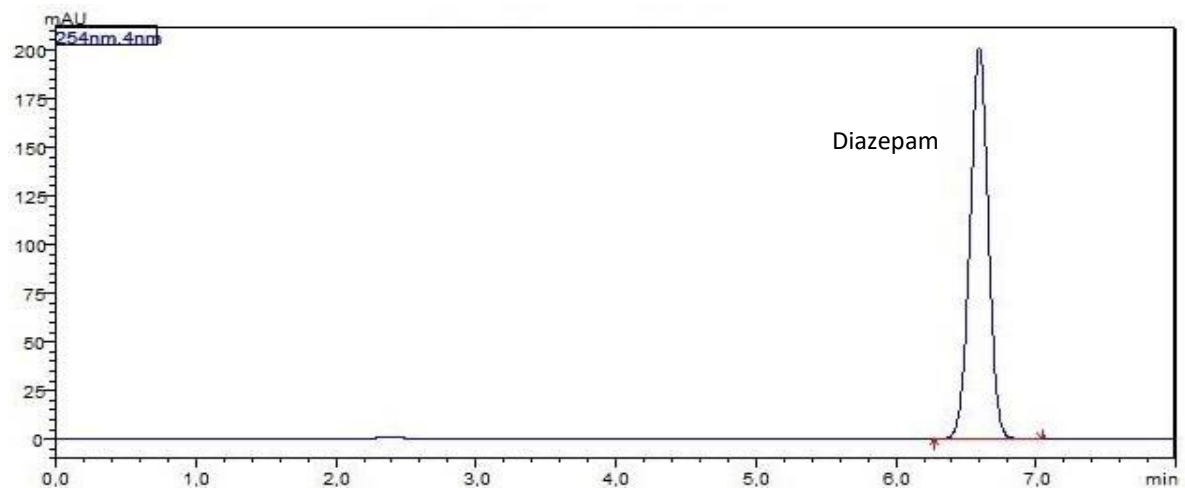
As Figuras 31 e 32 apresentam os cromatogramas referentes a avaliação da seletividade do medicamento Diazepam 10 mg.

Figura 31 - Cromatograma SQR Diazepam CT



Fonte: Autora, 2020.

Figura 32 - Cromatograma Diazepam 10 mg AMF 100%



Fonte: Autora, 2020.

O sinal analítico da amostra fortificada nas concentrações de trabalho 75%, 100% e 125%, em comparação com a solução SQR apresentou os seguintes resultados, demonstrados na Tabela 8, quanto ao parâmetro de pureza de pico.

Tabela 8 - Valores referentes à avaliação da seletividade, Diazepam 10 mg, método cromatográfico

| | SQR 1 | AMF 2 (75%) | AMF 3 (100%) | AMF 4 (125%) |
|--|-------|-------------|--------------|--------------|
| Pureza do Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| Resultado: | 0,063 | 0,044 | -0,044 | 0,00047 |

Fonte: Autora, 2020.

Os resultados de pureza de pico para o analito alvo estiveram abaixo do valor de referência, indicando a falta de seletividade do método para a presente matriz.

Vale ressaltar, no entanto, que a avaliação de pureza de pico deve ser considerada uma técnica instrumental auxiliar (ERMER; MILLER, 2005), tendo em vista a incerteza analítica que existe, também, em sistemas instrumentais, as quais, para esse tipo de consideração, podem estar relacionadas conforme descrito na literatura (DCTECH, 2020), com:

i) Limitação do detector DAD, devido a fatores como resolução espectral, parâmetros de configuração do método de análise espectral e do limite da sensibilidade.

ii) Falta de seletividade do detector de arranjo de diodos DAD, já que apenas moléculas com grupos cromóforos, cuja excitação acontece na região do UV-Visível, são detectadas. Dessa maneira, outros compostos cuja absorção não se dá nessa região, não serão detectados e, isso, pode refletir em problemas de separação e deformação do pico durante uma análise ou pelo aumento da concentração da amostra.

Se uma matriz de amostras sem analito (SQR) ou um conjunto adequado de amostras de referência estiver disponível, poderão ser utilizados procedimentos simples utilizando testes estatísticos. Geralmente, é feita a hipótese de que a matriz não afeta o sinal do analito em vários níveis de concentração relevantes ou em toda a faixa linear. Para realização da avaliação estatística deve ser feita uma preparação de dois conjuntos de amostras, um com a matriz e o outro sem a matriz (SQR), sendo estes nas mesmas concentrações de trabalho. Se o teste não for significativo, a matriz não afeta significativamente a seletividade do método nas concentrações de trabalho avaliadas (Bruce et al, 1998).

De acordo com Gonzalez e Herrador (2007), uma das formas de avaliar a seletividade é utilização da ferramenta estatística da Análise de Variância (Anova).

A Anova foi calculada utilizando o programa Microsoft Excel®, onde o método será considerado seletivo para a presente matriz se $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, ($\alpha=5\%$), evidenciando que não há diferenças significativas entre o SQR e a matriz (LAPPONI, 2000). Caso seja detectada uma diferença significativa, a matriz avaliada não responde da mesma forma devido a constituintes diferenciados entre as mesmas ou esses interferentes alteram a resposta instrumental em relação à solução padrão.

A Tabela 9 apresenta os resultados da seletividade do Diazepam no método cromatográfico. O método demonstrou seletividade, pois o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o $F_{\text{crítico}}$, e o valor de p maior do que 0,05.

Tabela 9 - Análise de Variância - ANOVA do SQR e Matriz do Diazepam 10 mg por CLAE

| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
|--------------------------|-------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------------|
| Entre grupos | 1,1016E+11 | 1 | 1,1E+11 | 0,214258 | 0,647028 | 4,195972 |
| Dentro dos grupos | 1,43962E+13 | 28 | 5,14E+11 | | | |
| Total | 1,45063E+13 | 29 | | | | |

Fonte: Autora, 2020.

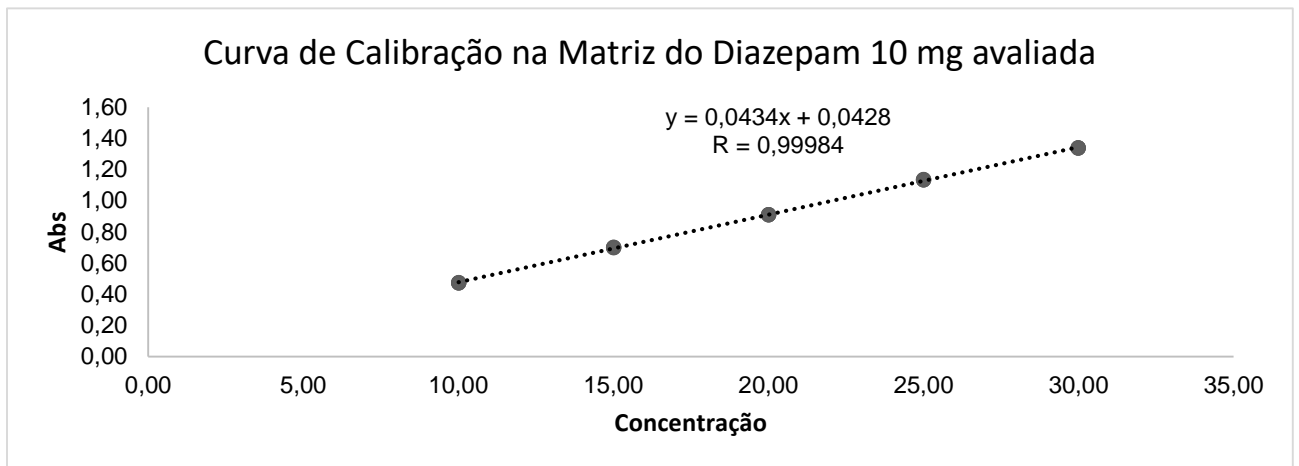
Além disso, técnicas mais precisas, como a espectrometria de massas, podem ser adotadas, pois a mesma apresenta uma alta sensibilidade e seletividade em matrizes complexas (SKOOG et al, 2009) .

4.3.1.2 Linearidade

A) Método Espectrofotométrico

A Figura 33 apresenta a curva de linearidade obtida para a matriz avaliada com o coeficiente angular (a), o coeficiente linear (b) e o coeficiente de correlação (R).

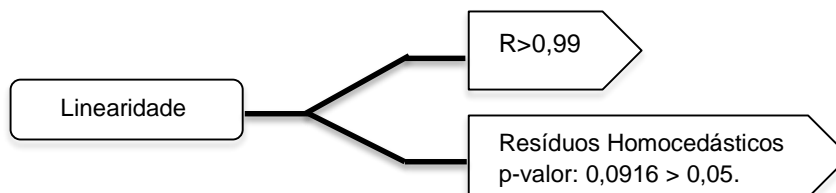
Figura 33 - Curva de calibração no produto Diazepam 10 mg obtida pela técnica Espectrofotométrica



Fonte: Autora, 2020.

A Figura 34 demonstra o Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método, com os respectivos valores de coeficiente de correlação (R) da curva de calibração e da avaliação dos resíduos.

Figura 34: Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, pela técnica espectrofotométrica



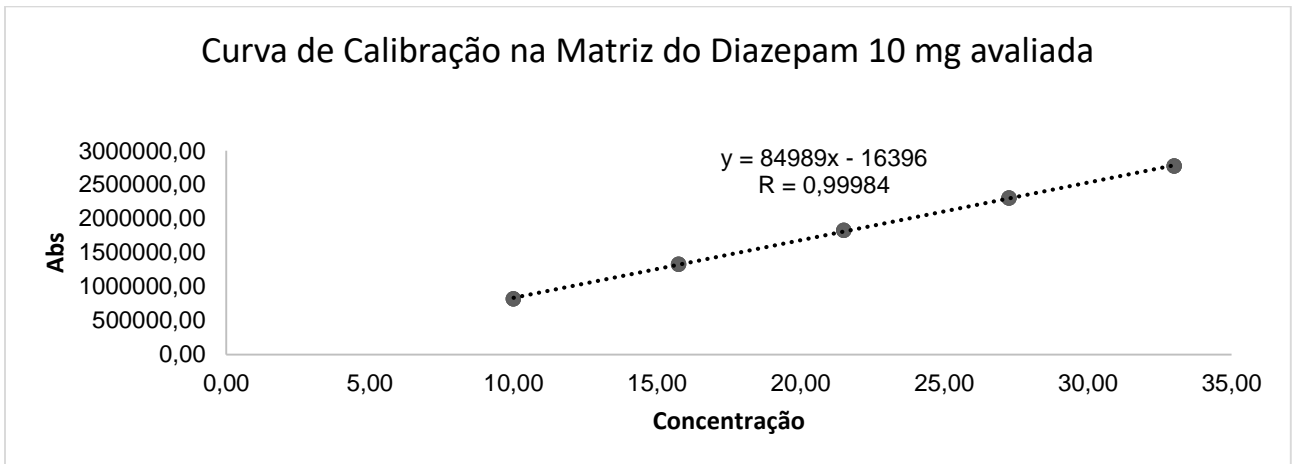
Fonte: Autora, 2020.

Partindo-se desses resultados, o método demonstra linearidade – $R > 0,99$, distribuição Homocedástica dos resíduos e coeficiente angular diferente de 0.

B) Método Cromatográfico

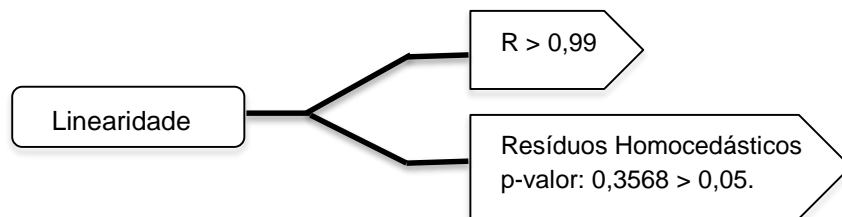
As Figuras 35 e 36 demonstram, os resultados da avaliação da linearidade do método cromatográfico investigado na matriz de Diazepam 10 mg.

Figura 35 - Curva de calibração no produto Diazepam 10 mg obtida pela técnica de Cromatografia Líquida



Fonte: Autora, 2020.

Figura 36 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, por CLAE



Fonte: Autora, 2020.

Para a presente matriz, observa-se a linearidade do método também na realização do ensaio pela técnica de cromatografia líquida, já que o coeficiente de correlação foi $> 0,99$, a distribuição dos resíduos deu-se de maneira Homocedástica e o coeficiente angular foi maior que 0.

4.3.1.3 Repetibilidade

A Tabela 10 apresentam os resultados obtidos na avaliação da Repetibilidade do método Farmacopeico.

Tabela 10 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade da matriz de Diazepam 10 mg

| | Método Espectrofotométrico | Método Cromatográfico | Resultado |
|----------------|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| DPR (%) | 0,3% | 0,2% | < 5% APROVADOS |

Fonte: Autora, 2020.

O método farmacopeico para a presente matriz se mostrou repetitivo para os dois métodos de análise de potência do ativo, segundo a monografia oficial.

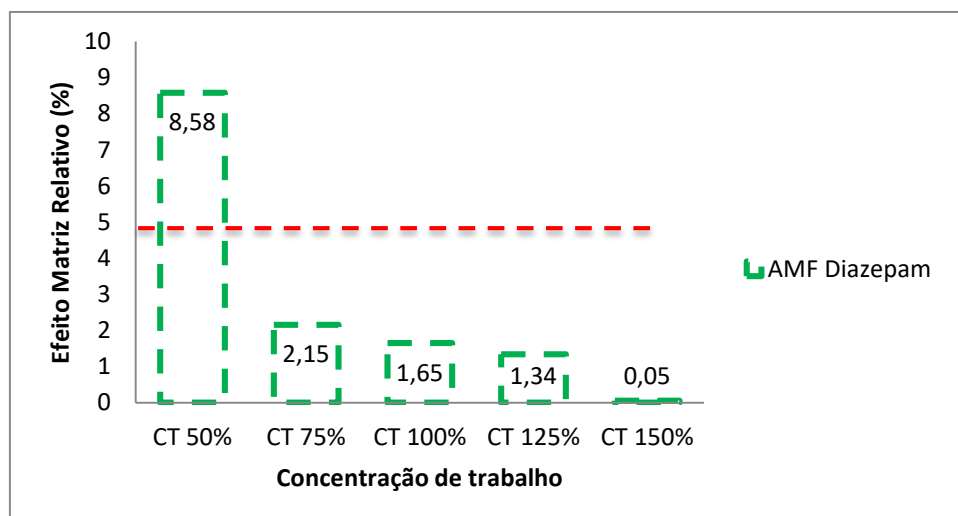
4.3.1.4 Avaliação Do Efeito Matriz

- Efeito Matriz relativo

A) Método Espectrofotométrico.

A Figura 37 apresentada em seguida, demonstra os dados de avaliação do efeito matriz relativo para o método espectrofotométrico.

Figura 37 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 10 mg



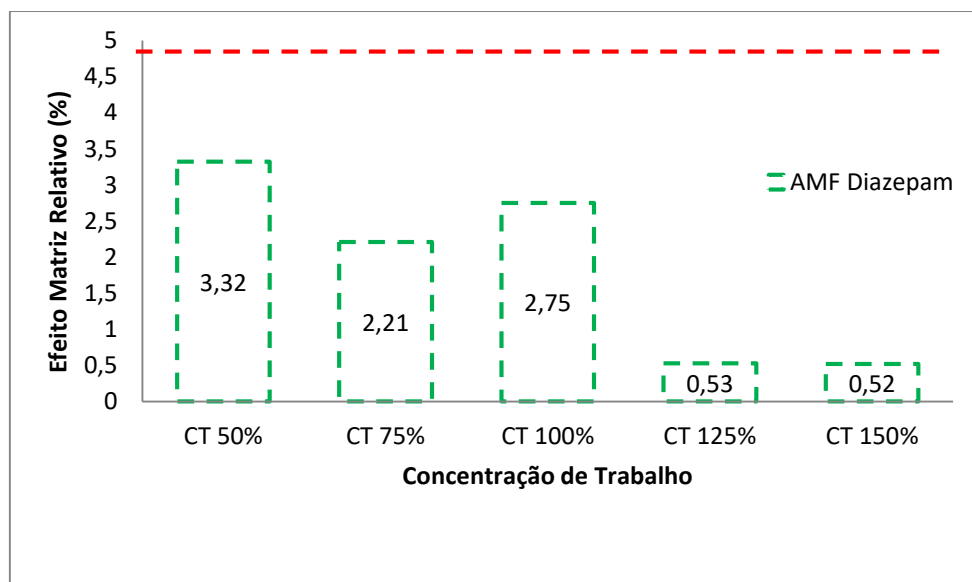
Fonte: Autora, 2020.

O método, para o presente produto, apresentou efeito de matriz (resultados >5%) no nível mais baixo, de 50% da concentração de trabalho orientada pelo método.

B) Método Cromatográfico

A Figura 38 a seguir, expõe os resultados referentes à avaliação do efeito matriz relativo.

Figura 38 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 10 mg



Fonte: Autora, 2020.

Não se observou para a realização do ensaio de doseamento com o uso de técnica cromatográfica, efeito de matriz (resultados <5%) do método verificado para o presente produto.

- Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística

A) Método Espectrofotométrico

Os resultados da avaliação estatística entre as curvas encontram-se na Tabela 11 abaixo.

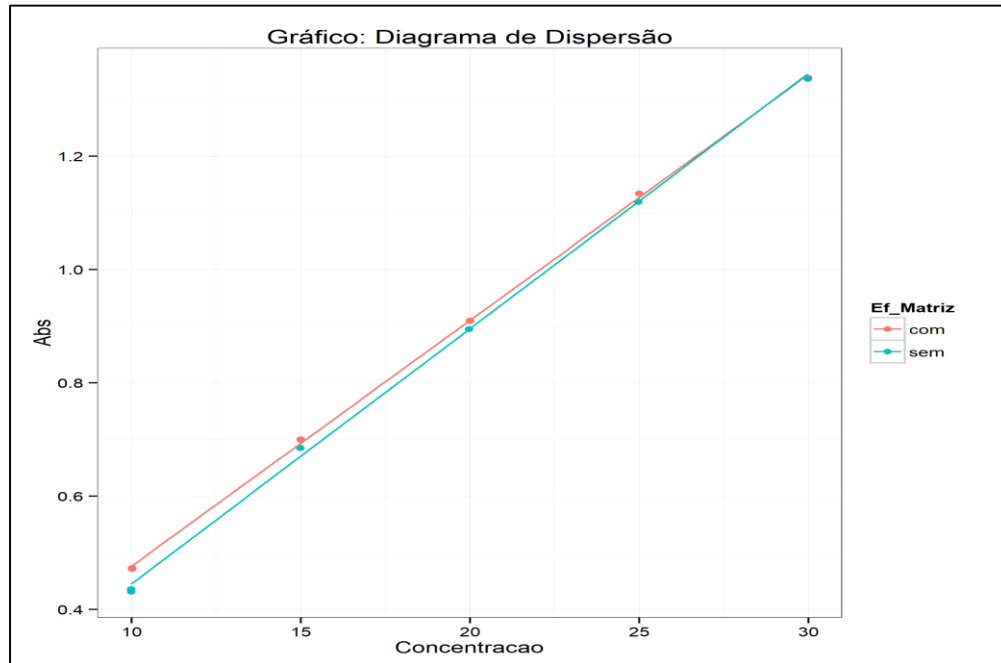
Tabela 11 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam 10 mg fortificada vs SQR no método espectrofotométrico

| Parâmetro de comparação | p-valor |
|--------------------------------|---------------------------|
| Igualdade de intercepto | 2,85241x10 ⁻⁰⁵ |
| Paralelismo | 0,001383247 |
| Coincidência | 6,7685x 10 ⁻⁰⁶ |

Fonte: Autora, 2020.

Pelos valores de comparação entre as curvas, observa-se que o método espectrofotométrico apresentou efeitos referente a matriz do medicamento em análise. Tal característica evidencia que a quantificação do analito sobre essa matriz tende a ser afetada e, assim, um resultado de doseamento dado por esse método pode não representar a real quantidade de Diazepam que está nesse produto, o que afeta a confiabilidade analítica na geração de resultados com qualidade. Além disso, observa-se que na concentração de trabalho de 50% o efeito matriz relativo apresenta valor superior ao limite de 5% e ao comparar as curvas analíticas entre amostra fortificada *versus* o SQR, se evidencia o efeito matriz tendo em vista a não sobreposição entre as curvas principalmente nos pontos de concentração mais baixa, conforme observado na Figura 39.

Figura 39 - Sobreposição gerada pelo software ActionStat® na comparação entre as curvas de calibração amostra de Diazepam 10 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)



Fonte: Autora, 2020.

Convém frisar que esse efeito matriz pode ter ocorrido devido à baixa seletividade inerente a técnica espectrofotométrica, tendo em vista que esta não apresenta um sistema de separação acoplado ao sistema de detecção, como ocorre com a CLAE. Dessa forma, pode-se inferir que a técnica espectrofotométrica pode sofrer maior vulnerabilidade devido a presença de interferentes na matriz.

B) Método cromatográfico

Os resultados da avaliação estatística entre as curvas encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam 10 mg fortificada vs SQR para o método cromatográfico

| Parâmetro de comparação | <i>p</i>-valor |
|--------------------------------|-----------------------|
| Igualdade de intercepto | 0,485268018 |
| Paralelismo | 0,701816133 |
| Coincidência | 0,569765374 |

Fonte: Autora, 2020.

A partir dos resultados expostos, verifica-se que o método Farmacopeico por CLAE não sofre com os efeitos da matriz sobre a quantificação do analito de interesse ($p > 0,05$ – Tabela 12). Dessa forma, esse método apresenta-se como mais confiável, se comparado ao método espectrofotométrico, na obtenção de resultado sobre a potência do ativo na presente matriz.

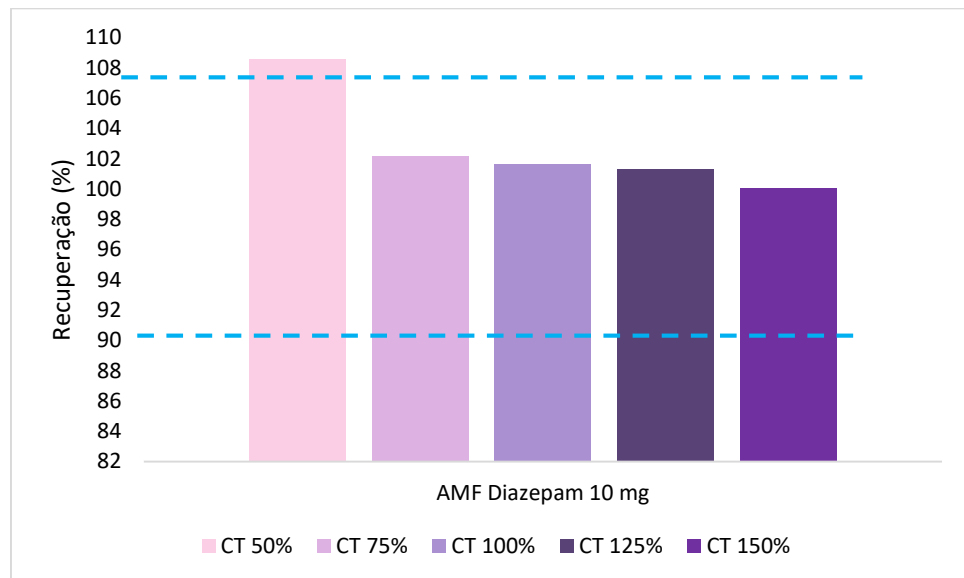
4.3.1.5 Exatidão

Segundo o método compendial, a concentração de trabalho para a quantificação do Diazepam é de 0,002%. Dessa maneira, a faixa de recuperação média na avaliação da Exatidão é de 90% – 107%, conforme preconizado no Quadro 2.

A) Método espectrofotométrico

A Figura 40 apresenta os resultados de recuperação do medicamento Diazepam 10 mg nas concentrações de trabalho estudadas.

Figura 40 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Diazepam 10 mg nas cinco concentrações de trabalho sob análise da técnica espectrofotométrica



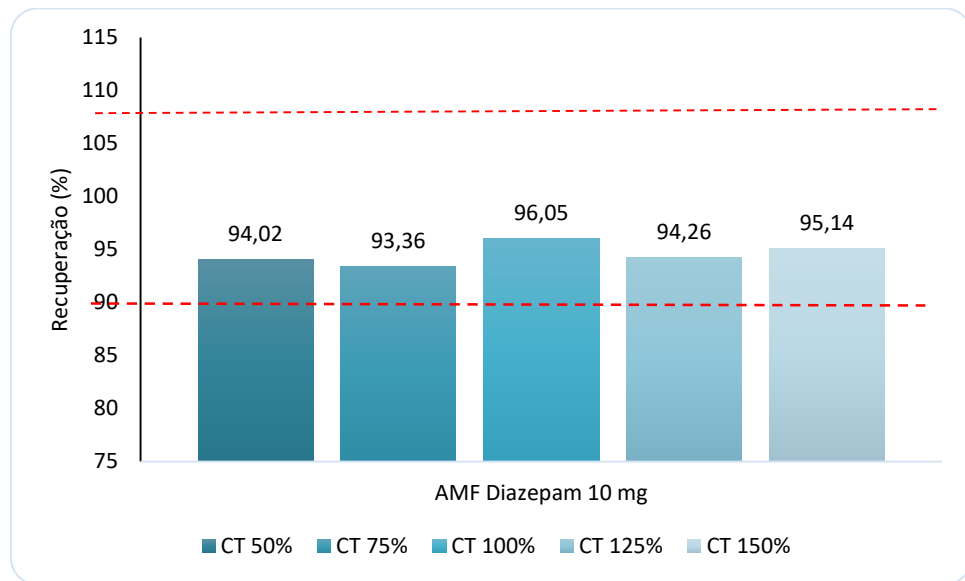
Fonte: Autora,2020.

Observa-se que, no nível de 50%, a recuperação de 108,68%, foi um pouco maior do que o limite máximo da faixa estabelecida. Esse resultado pode ser justificado pela presença de efeito matriz relativo na amostra nesse mesmo ponto, visto que é a menor concentração analisada sendo mais susceptível a interferência da matriz e conseqüentemente impactando na recuperação do analito.

B) Método Cromatográfico

A Figura 41 apresenta os resultados referentes à recuperação da matriz em estudo sob cinco concentrações de trabalho, de 50 a 150%.

Figura 41 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Diazepam 10 mg nas cinco concentrações de trabalho sob análise da técnica de Cromatografia Líquida



Fonte: Autora, 2020.

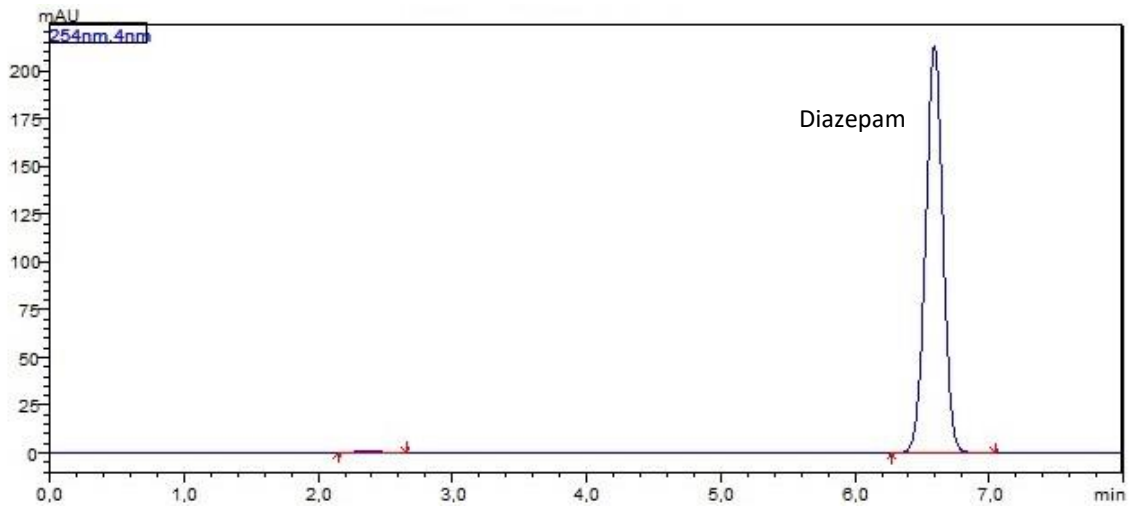
Todos os resultados de recuperação estiveram entre 90% e 107% para a presente matriz, mostrando que pelo método cromatográfico o método é exato nas CT analisadas.

4.3.2 Fabricante II – 5 mg

4.3.2.1 Seletividade

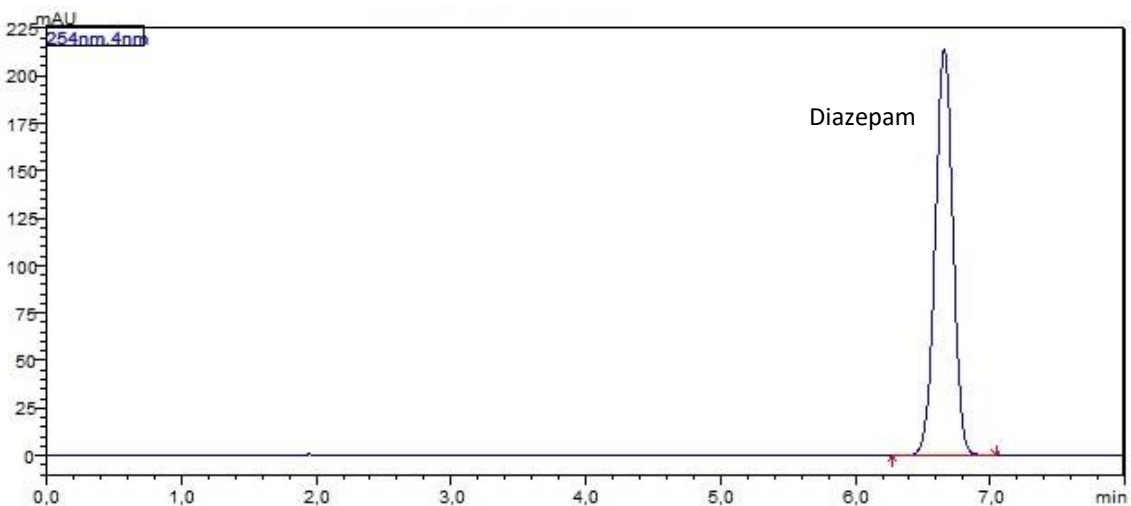
As Figuras 42 e 43 apresentam os cromatogramas referentes ao estudo da seletividade do medicamento Diazepam 5 mg.

Figura 42 - Cromatograma SQR Diazepam CT 100%



Fonte: Autora, 2020.

Figura 43 - Cromatograma Diazepam 5 mg AMF 100%



Fonte: Autora, 2020.

O sinal analítico da amostra fortificada nas concentrações de trabalho 75%, 100% e 125%, respectivamente AF2, AF3 e AF4, em comparação com a solução SQR são demonstrados na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores referentes à avaliação da seletividade, Diazepam 5 mg

| Parâmetro | SQR 1 | AMF 2 (75%) | AMF 3 (100%) | AMF 4 (125%) |
|-----------------------------------|-------|-------------|--------------|--------------|
| Pureza do Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| Resultado | 0,153 | 0,092 | 0,21 5 | 0,009 5 |

Fonte: Autora, 2020.

Os resultados de pureza de pico para o analito alvo estiveram abaixo do valor de referência, demonstrando não haver seletividade da presente matriz no método compendial indicado. Entretanto, como discutido acima (seção 4.3.1 – página 68 e 69) é recomendável partir para mais uma avaliação. Diante disso, a análise estatística Anova foi calculada utilizando o programa Microsoft Excel®, onde o método será considerado seletivo para a presente matriz se $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, ($\alpha=5\%$), evidenciando que não há diferenças significativas entre o SQR e a matriz. (LAPPONI, 2000).

Os resultados da avaliação de seletividade por análise estatística da presente matriz apresentam-se na Tabela 14.

Tabela 14 - Análise de Variância - ANOVA do SQR e Matriz do Diazepam 5 mg por CLAE

| <i>Fonte da variação</i> | <i>SQ</i> | <i>gl</i> | <i>MQ</i> | <i>F</i> | <i>valor-P</i> | <i>F crítico</i> |
|--------------------------|-------------|-----------|-----------|----------|----------------|------------------|
| Entre grupos | 945150618,1 | 1 | 9,45E+08 | 0,00183 | 0,966178 | 4,195972 |
| Dentro dos grupos | 1,44583E+13 | 28 | 5,16E+11 | | | |
| Total | 1,44592E+13 | 29 | | | | |

Fonte: Autora, 2020.

O método demonstrou seletividade, porque o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o $F_{\text{crítico}}$, e o valor de p maior do que 0,05.

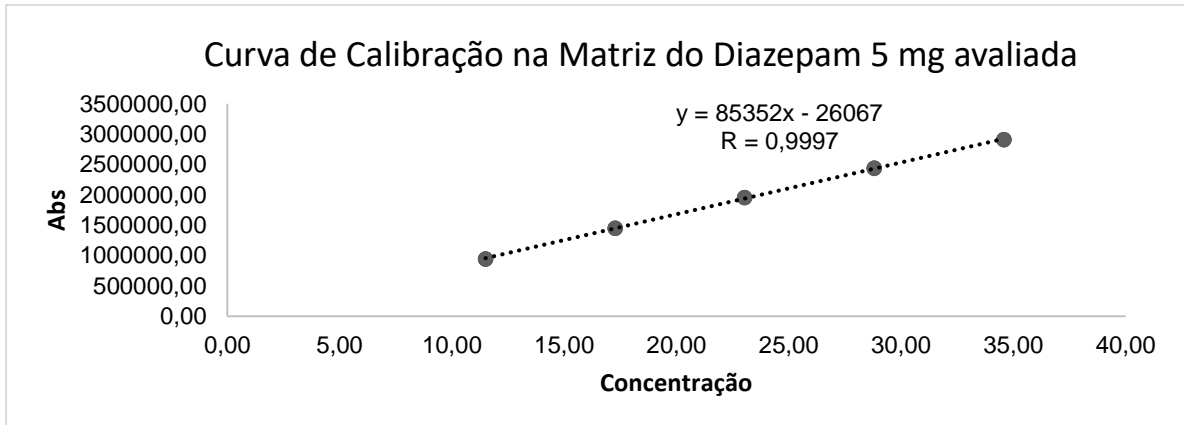
Ao passo que foi demonstrada a aplicabilidade do método cromatográfico nas duas matrizes de Diazepam analisadas, torna-se evidente a reflexão quanto à orientação dada pela RDC 166/2017 para a avaliação da seletividade. No Art. 19, parágrafo único, a seletividade é instruída a ser comprovada pela pureza cromatográfica do sinal do analito, porém, o trabalho mostrou que utilizar essa fonte de avaliação como única pode não ser confiável, sendo necessária que outras ferramentas de avaliação auxiliem a investigação inequívoca da seletividade.

4.3.2.2 *Linearidade*

As formas de avaliação da linearidade se encontram tanto na Figura 44 referente a curva de linearidade obtida para a matriz avaliada com coeficiente angular

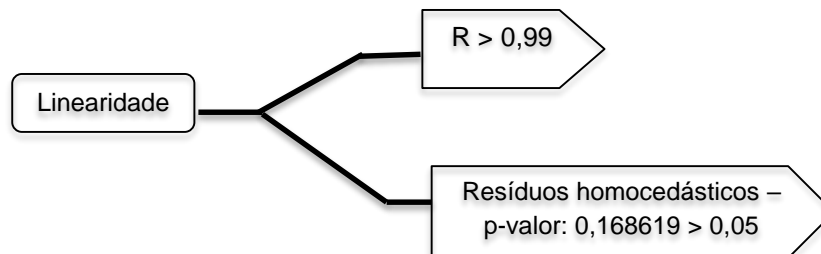
(a), o coeficiente linear (b) e o coeficiente de correlação (R) – quanto na Figura 45, a qual demonstra os resultados dos parâmetros de avaliação de resíduo e coeficiente de correlação (R).

Figura 44 - Curva de calibração no produto Diazepam 5 mg



Fonte: Autora, 2020.

Figura 45 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para a amostra de Diazepam 10 mg, pela técnica espectrofotométrica



Fonte: Autora, 2020.

Para essa matriz de Diazepam, observou-se a linearidade – $R > 0,99$, distribuição homocedástica dos resíduos e coeficiente angular diferente de zero.

4.3.2.3 Repetibilidade

A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos na avaliação da Repetibilidade do método Farmacopeico.

Tabela 15 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade da matriz de Diazepam 5 mg

| | |
|------------------|----------------------|
| Produto | Diazepam 5 mg |
| DPR (%) | 0,7 |
| Resultado | Aprovado |

Fonte: Autora, 2020.

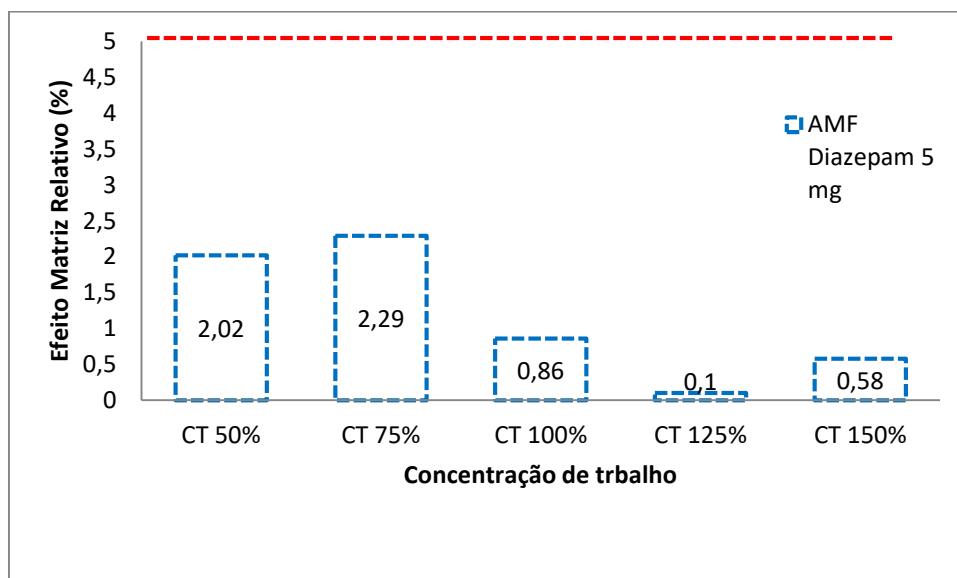
A partir dos resultados da Tabela 15, o método é repetitivo na presente matriz (DPR < 5%).

4.3.2.4 Avaliação do Efeito Matriz

- Efeito Matriz relativo

Os dados que dizem respeito ao estudo do efeito matriz relativo, encontram-se na Figura 46.

Figura 46 - Resultados do efeito matriz relativo em cinco níveis de concentração da matriz Diazepam 5 mg



Fonte: Autora, 2020.

Para o presente produto, observa-se a ausência de efeito matriz relativo (< 5%).

- Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística

A Tabela 16 contém os resultados dos parâmetros de comparação estatística entre as curvas da amostra fortificada e o padrão. Não há efeito matriz ($p\text{-valor} > 0,05$).

Tabela 16 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Diazepam 5 mg fortificada vs SQR

| Parâmetro de comparação | <i>p</i>-valor |
|--------------------------------|-----------------------|
| Igualdade de intercepto | 0,136379549 |
| Paralelismo | 0,293356875 |
| Coincidência | 0,18242202 |

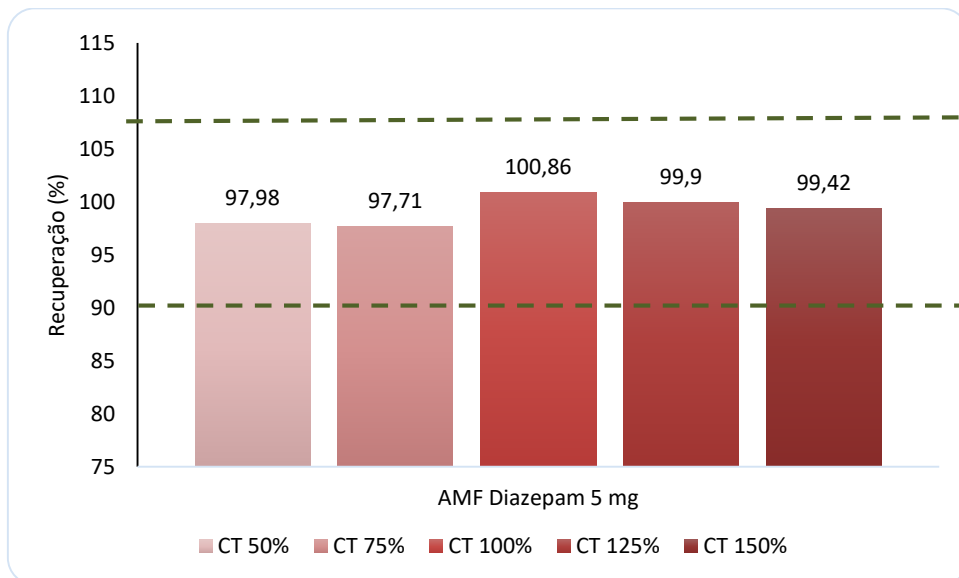
Fonte: Autora, 2020.

Em harmonia ao resultado de ausência de efeito matriz relativo, a avaliação desse parâmetro por comparação entre curvas de calibração da amostra fortificada *versus* SQR, também demonstrou não haver efeito matriz - igualdade de intercepto, paralelismo e coincidência avaliados estatisticamente, obtiveram $p\text{-valor} > 0,05$.

4.3.2.5 Exatidão

A Figura 47 expõe os valores de recuperação do produto avaliado sob cinco concentrações de trabalho, de 50 a 150%. A concentração de trabalho do método farmacopeico para a quantificação do Diazepam é de 0,002%. Dessa maneira, a faixa de recuperação média na avaliação da Exatidão é de 90% – 107%, de acordo com a orientação da AOAC (2016), presente no Quadro 2.

Figura 47 - Avaliação da Exatidão - Resultados de recuperação do analito Diazepam 5 mg sob investigação nas cinco concentrações de trabalho



Fonte: Autora, 2020.

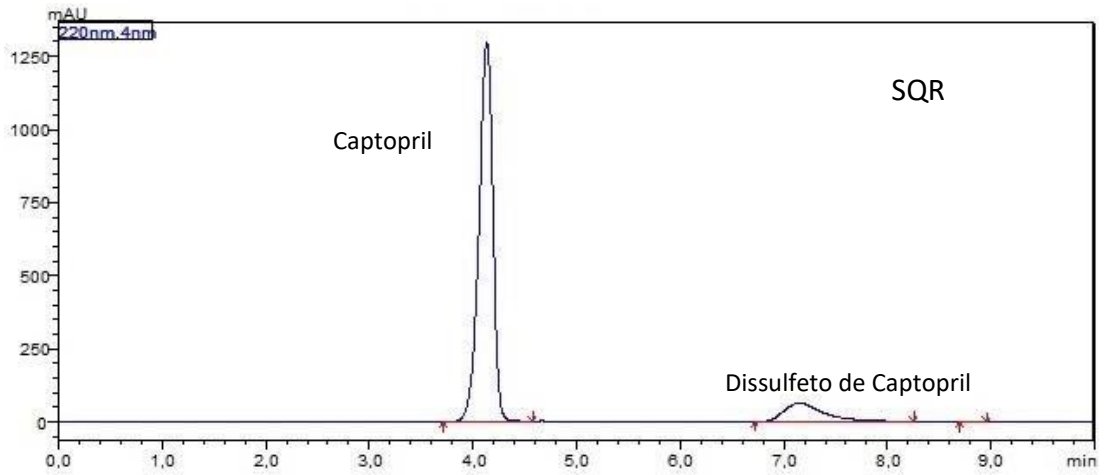
Observa-se que todos os valores de recuperação nas concentrações de trabalho estudadas, estiveram dentro da faixa de recuperação recomendada, o que caracteriza a Exatidão do método nesse produto.

4.4 Captopril

4.4.1 Seletividade

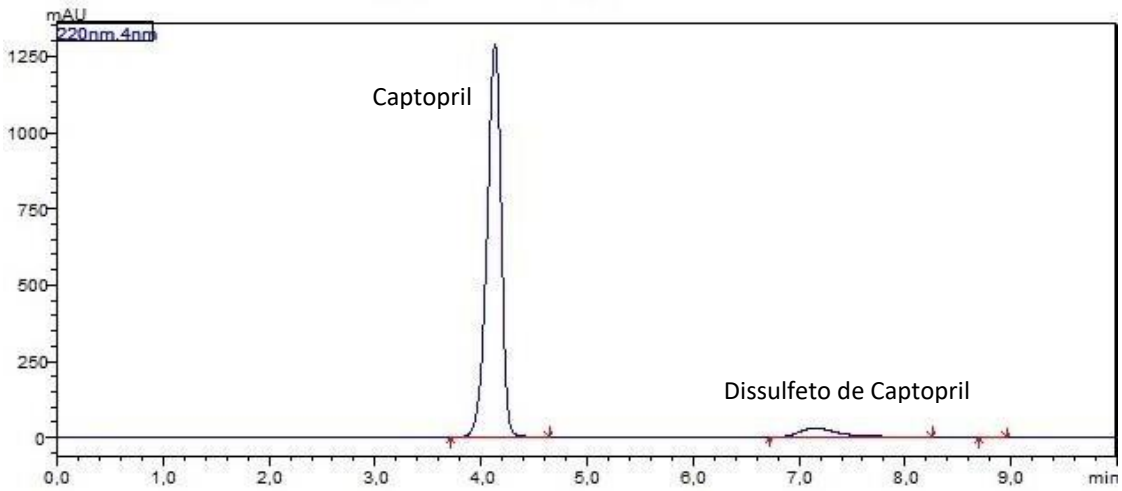
As Figuras 48 a 52 apresentam os cromatogramas referentes à avaliação da seletividade das quatro matrizes de medicamentos Captopril investigadas comparadas ao cromatograma do SQR Captopril.

Figura 48 - Cromatograma SQR Captopril CT 100%



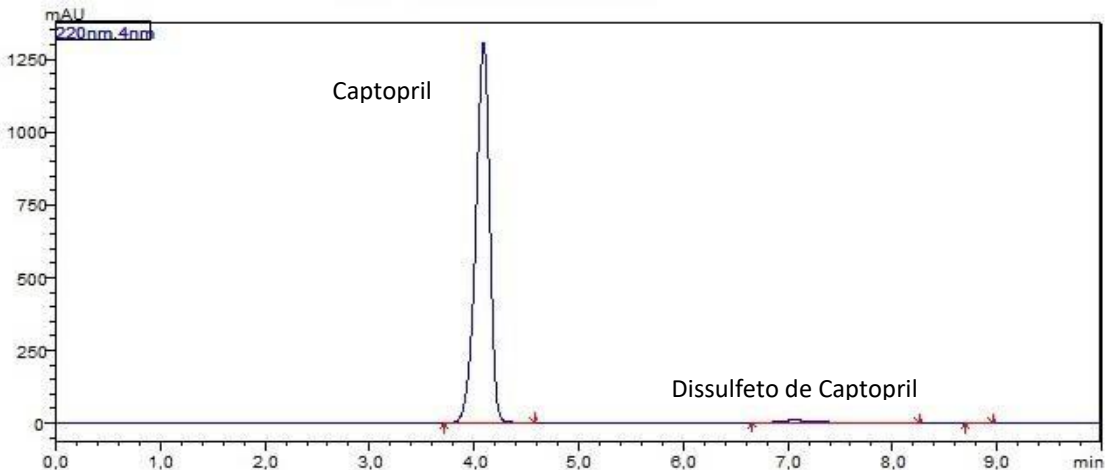
Fonte: Autora, 2020.

Figura 49 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg, fabricante 1 (Similar)



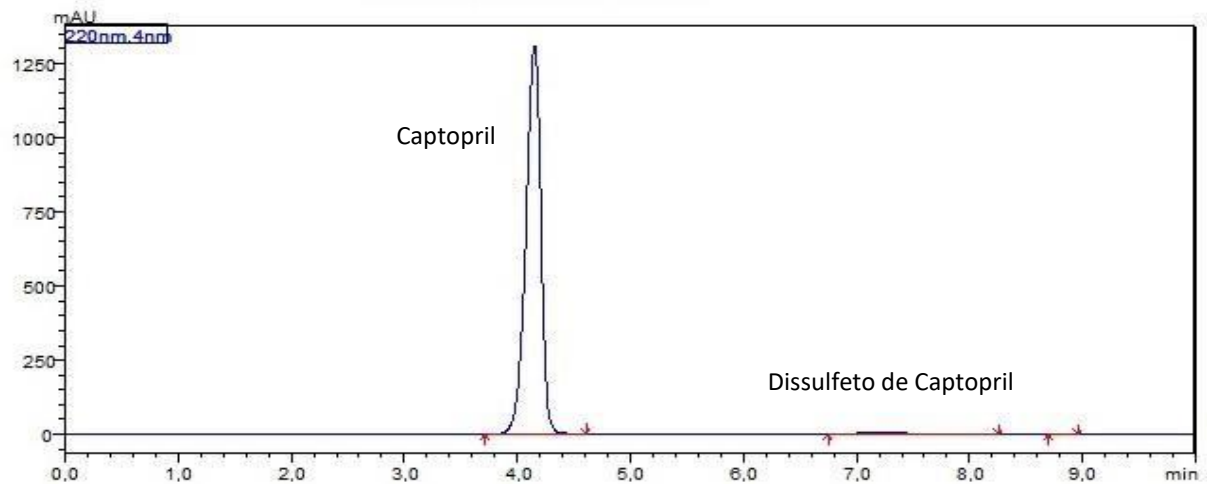
Fonte: Autora, 2020.

Figura 50 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg, fabricante 2 (Genérico)



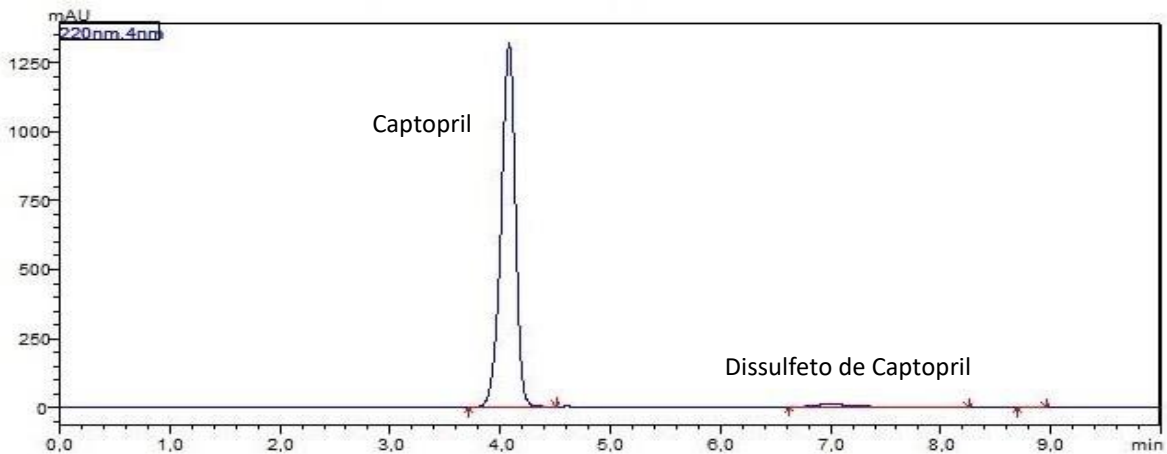
Fonte: Autora, 2020.

Figura 51 - Cromatograma Matriz de Captopril 25 mg, fabricante 3 (Genérico)



Fonte: Autora, 2020.

Figura 52 - Cromatograma Matriz de Captopril 50 mg, fabricante 4 (Genérico)



Fonte: Autora, 2020.

Na Tabela 17, os resultados expressam os valores de pureza de pico e resolução entre as respectivas amostras em estudo e o SQR.

Tabela 17 - Dados dos valores referentes a avaliação da seletividade para as amostras de Captopril em estudos

| | Parâmetros | SQR Captopril | AMF 2 (CT 75%) | AMF 3 (CT 100%) | AMF 4 (CT 125%) |
|---------------------|--------------------------------------|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| Fabricante 1 | Resolução Mínima | 2 | | | |
| | Resultado | 6,72 | 7,03 | 6,77 | 6,71 |
| | Pureza de Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| | Resultado | 0,99 | 1 | 0,99 | 0,99 |
| Fabricante 2 | Resolução Mínima | 2 | | | |
| | Resultado | 6,67 | 6,82 | 6,60 | 6,64 |
| | Pureza de Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| | Resultado | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| Fabricante 3 | Resolução Mínima | 2 | | | |
| | Resultado | 6,67 | 7,03 | 6,77 | 6,71 |
| | Pureza de Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| | Resultado | 0,99 | 1 | 0,99 | 1 |
| Fabricante 4 | Resolução Mínima | 2 | | | |
| | Resultado | 6,72 | 6,82 | 6,57 | 6,64 |
| | Pureza de Pico – Valor Referência | 0,98 | | | |
| | Resultado | 0,99 | 1 | 0,99 | 0,99 |

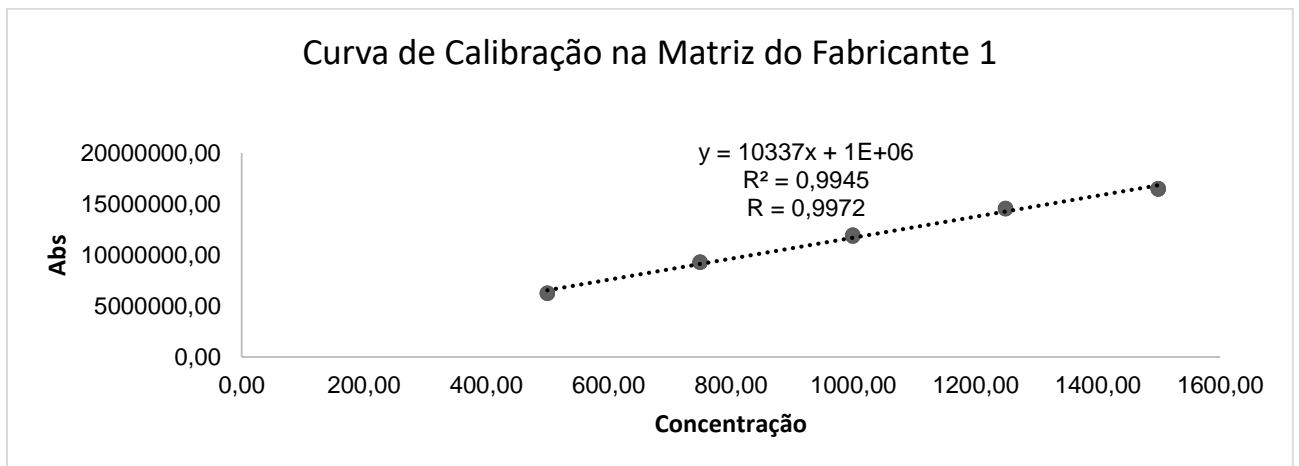
Fonte: Autora,2020.

Avaliando-se os cromatogramas obtidos de todas as amostras em relação aos cromatogramas do respectivo padrão bem como os valores de pureza de pico e resolução cromatográfica — (presentes na Tabela 17) os resultados indicam a presença de Captopril, sem interferência, nos produtos verificados do método Farmacopeico (pureza de pico > 0,98). Assim, a seletividade da detecção foi comprovada nas matrizes para o método compendial em estudo.

4.4.2 Linearidade

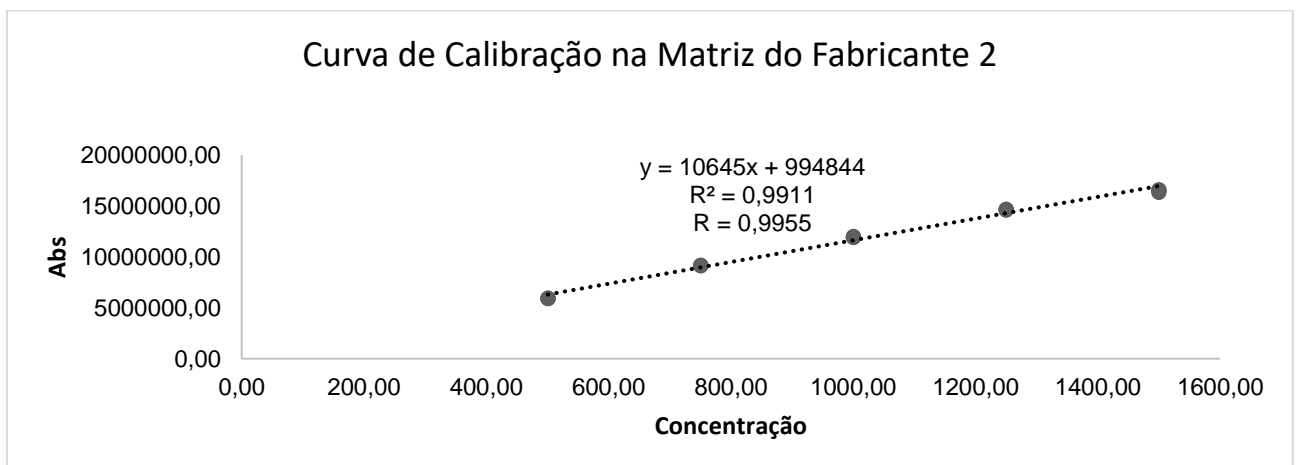
As Figuras 53 a 56 demonstram as curvas de linearidade obtidas para cada fabricante com os respectivos coeficientes angulares (a), os coeficientes lineares (b) e os coeficientes de determinação (R^2). Já, no esquema presente na Figura 57, há os resultados que se referem ao coeficiente de correlação (R) das curvas analíticas para todas as matrizes e avaliação dos resíduos.

Figura 53 - Curva de calibração do Captopril amostra fortificada do Fabricante 1 (Similar, 25 mg)



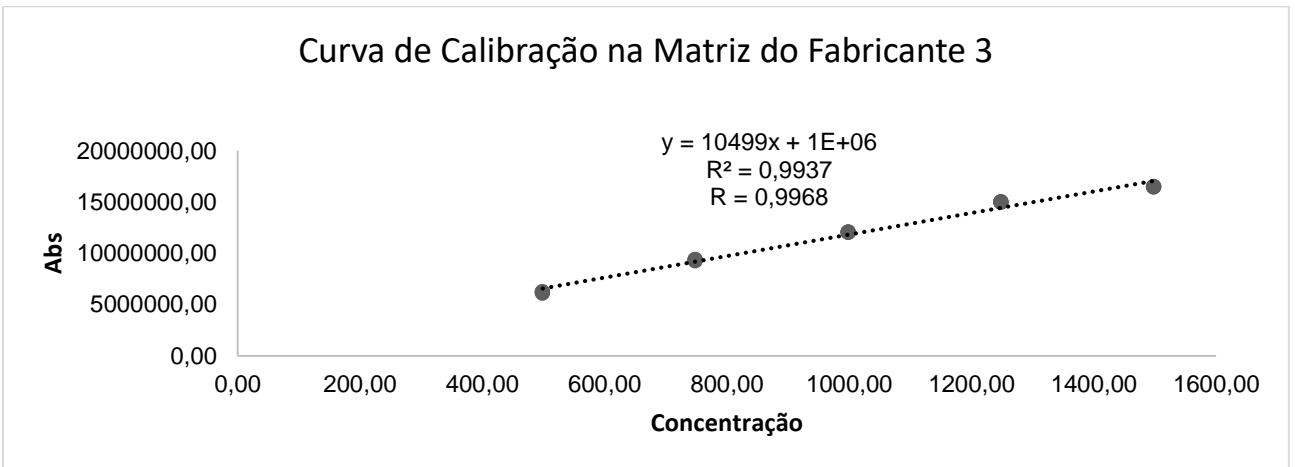
Fonte: Autora, 2020.

Figura 54 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 2 (Genérico, 25 mg)



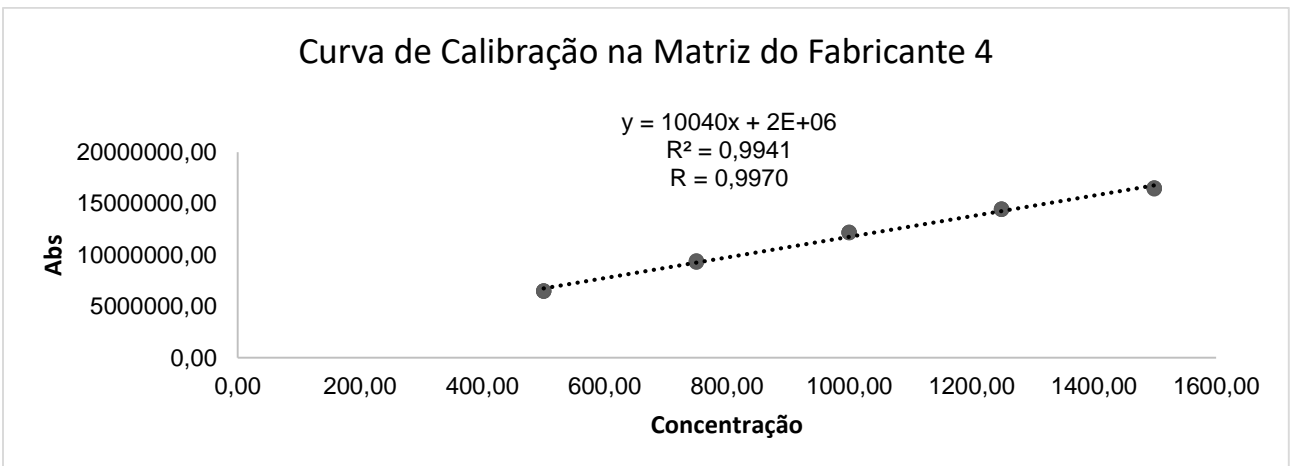
Fonte: Autora, 2020.

Figura 55 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 3 (Genérico, 25 mg)



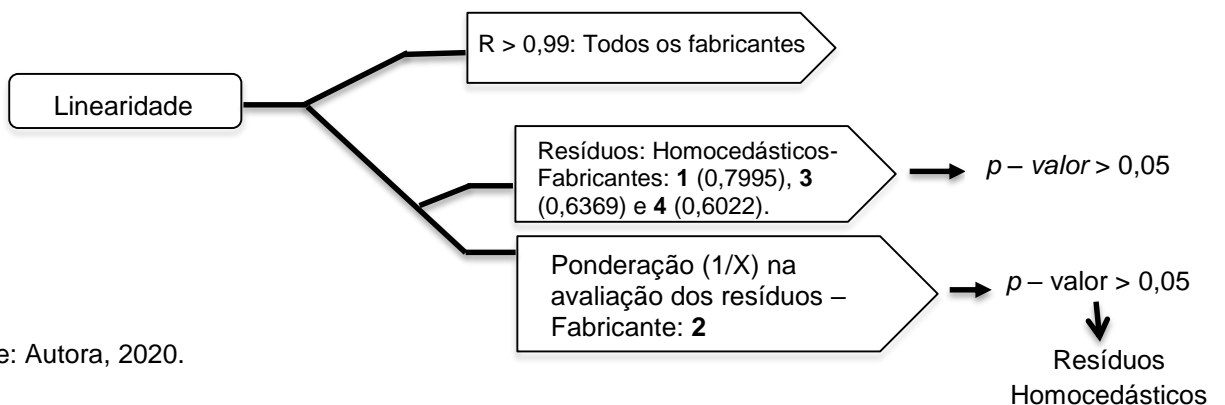
Fonte: Autora, 2020.

Figura 56 - Curva de calibração Captopril amostra fortificada do Fabricante 4 (Similar, 25 mg)



Fonte: Autora, 2020.

Figura 57 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as quatro matrizes avaliadas



Fonte: Autora, 2020.

Percebe-se que o método Farmacopeico apresenta linearidade nas matrizes avaliadas ($R > 0,99$, resíduos com distribuição homocedástica e o coeficiente angular diferente de zero).

4.4.3 Repetibilidade

A Tabela 18 contém os resultados gerados para a avaliação da Repetibilidade do método Farmacopeico nas diferentes matrizes.

Tabela 18 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade nas quatro matrizes de Captopril estudadas

| Fabricante | 1 | 2 | 3 | 4 | Resultados |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|--------------------------|
| DPR (%) | 0,6% | 0,5% | 0,5% | 0,6% | < 5% APROVADOS |

Fonte: Autora, 2020.

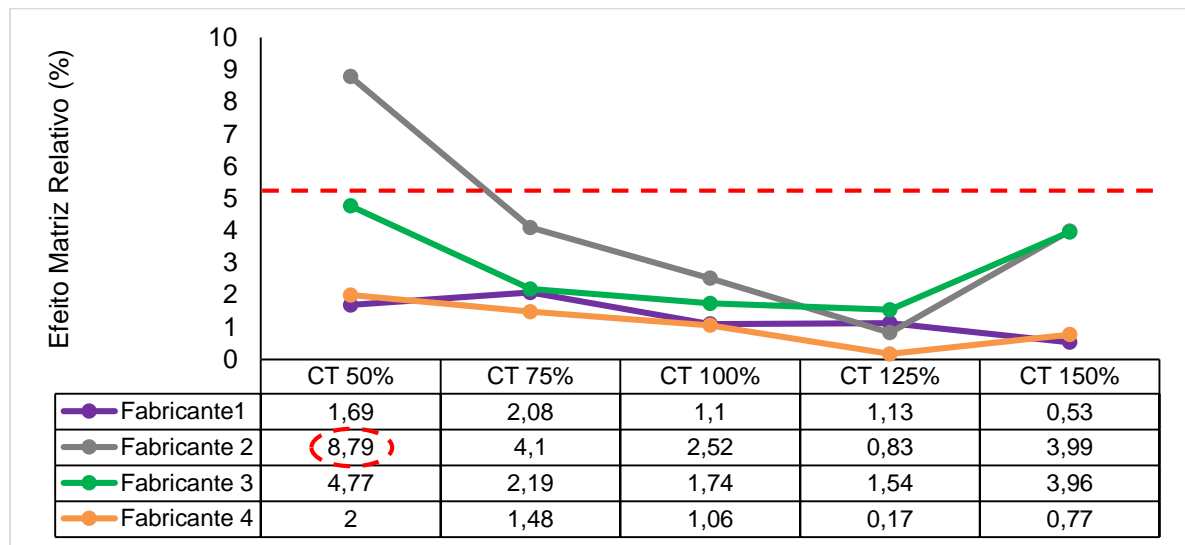
O método apresentou-se repetitivo para os quatro fabricantes (DPR < 5%).

4.4.4 Avaliação do Efeito Matriz

- *Efeito Matriz Relativo*

A Figura 58 contém os resultados gerados na avaliação do efeito matriz relativo.

Figura 58 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Captopril em estudo



Fonte: Autora, 2020.

A maioria dos resultados demonstrou ausência de efeito matriz relativo (resultado < 5%), exceto para o fabricante 2 na concentração de trabalho de 50%. No entanto, tal resultado não se confirma ao analisar os resultados de avaliação estatística de comparação entre as curvas, conforme discutido adiante (Tabela 19). Um dos fatores que podem justificar esse valor, diz respeito a um possível erro analítico ou flutuação na medição do equipamento, já que o valor obtido foi próximo do valor tomado como referência nessa avaliação.

- Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística

Os resultados da avaliação estatística entre as curvas encontram-se na Tabela 19.

Tabela 19 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Captopril fortificada vs SQR

| Testes de Comparação - <i>p</i> -valor. | | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Fabricante / Parâmetro | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Intercepto | 0,698180938 | 0,437762871 | 0,120591116 | 0,480923853 |
| Paralelismo | 0,816007545 | 0,294198543 | 0,088607336 | 0,482526373 |
| Coincidência | 0,854263663 | 0,49847895 | 0,224588001 | 0,771321269 |

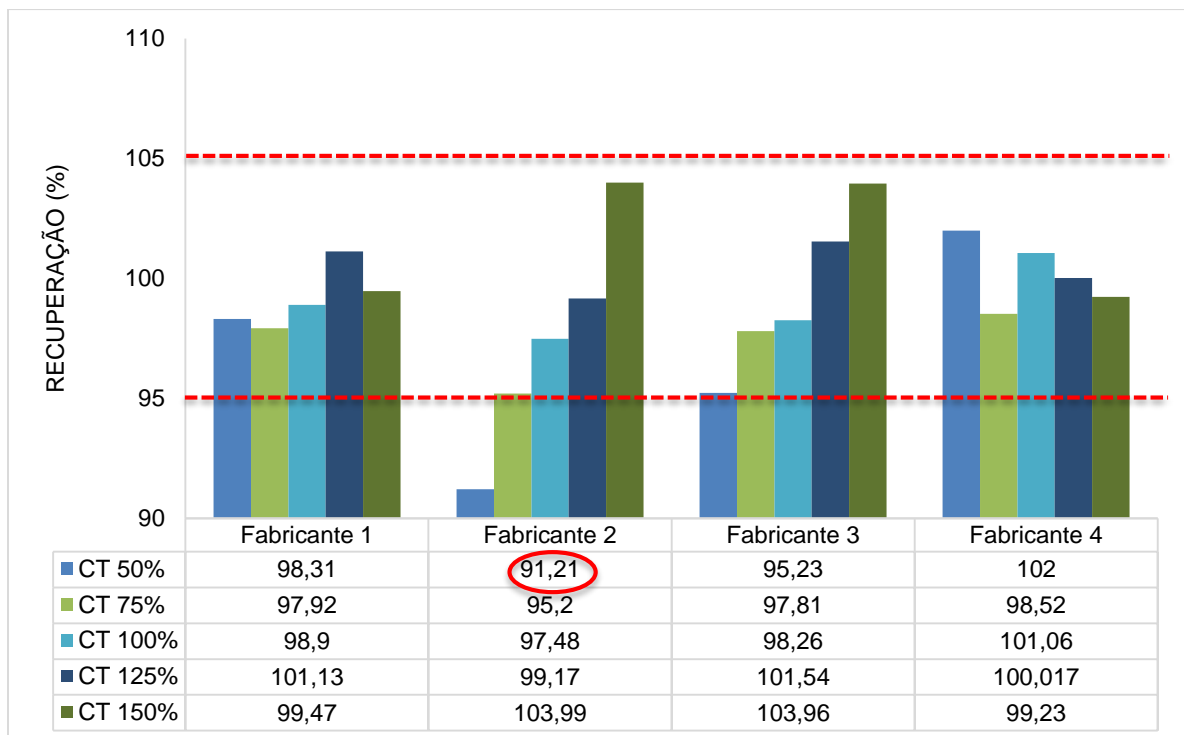
Fonte: Autora, 2020.

A avaliação do efeito matriz demonstrou, para todos os fabricantes a ausência de efeito matriz, tanto na avaliação relativa (valores < 5% - exceto um ponto para a matriz do fabricante 2) quanto na estatística – comparação dos três parâmetros das curvas em SQR e AMF – cujo *p-valor* > 0,05.

4.4.5 Exatidão

A Figura 59 apresenta os valores de recuperação para avaliação da exatidão nas quatro matrizes avaliadas. A concentração de trabalho na monografia do Captopril é 1mg/mL (0,1%), assim, a faixa de recuperação média na avaliação da Exatidão é de 95% – 105%, como demonstrada no Quadro 2.

Figura 59 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Captopril nas quatro matrizes em estudo



Fonte: Autora, 2020.

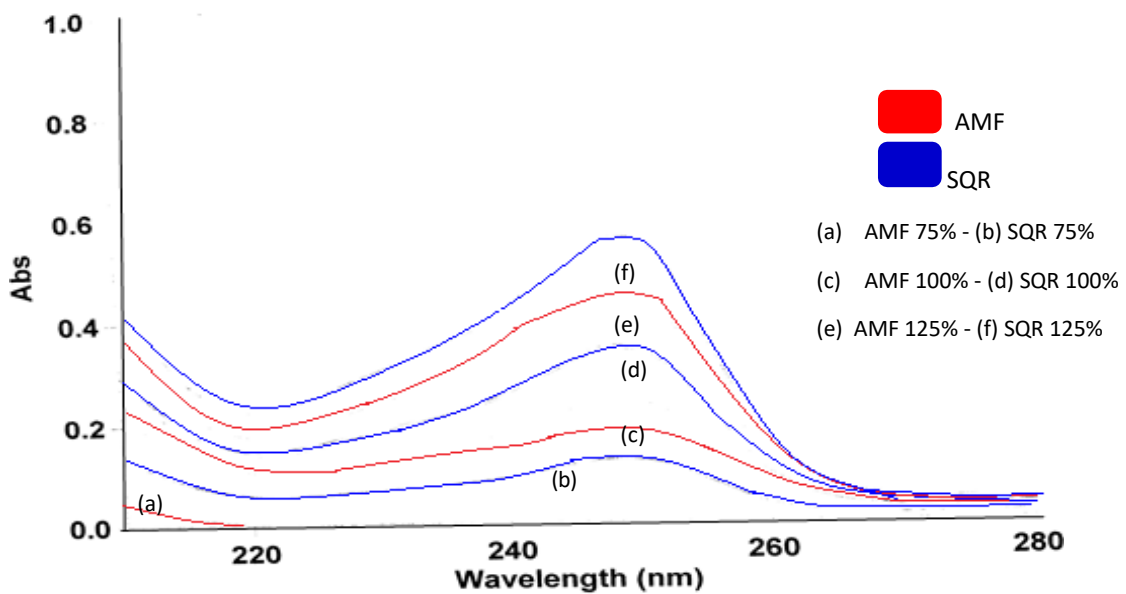
Para o fabricante 2, na concentração de trabalho de 50% o resultado esteve fora da faixa de recuperação recomendada. Esse resultado pode ser justificado por um erro de operação analítica ou erro sistemático no equipamento de análise, tendo em vista que neste mesmo ponto para o efeito matriz relativo, também teve um resultado fora do valor de especificação.

4.5 Cloridrato De Prometazina

4.5.1 Seletividade

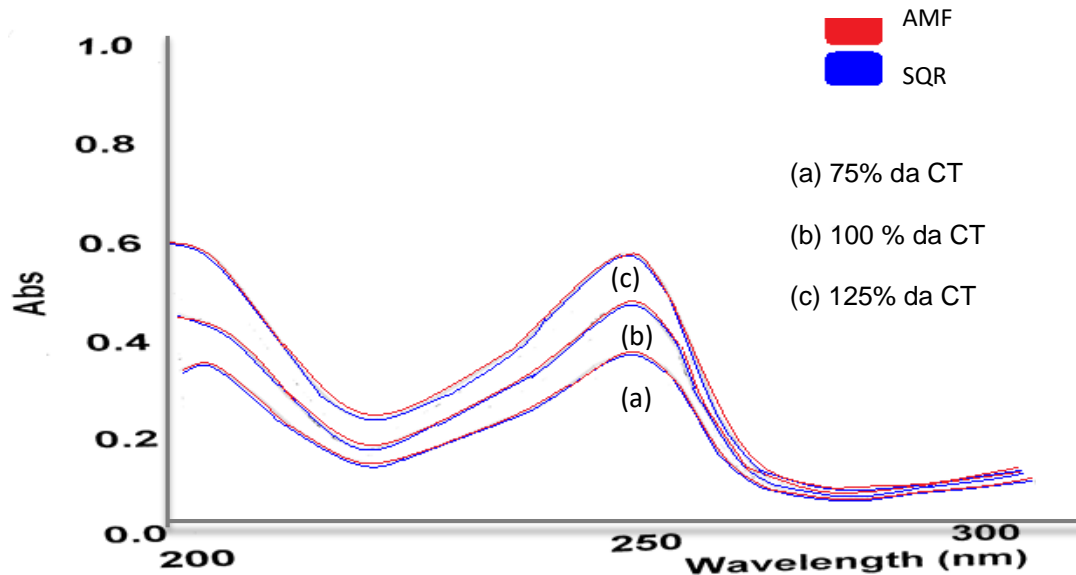
As Figuras 60 a 61 demonstram os dados da seletividade dos medicamentos Cloridrato de Prometazina.

Figura 60 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Prometazina fabricante I vs SQR



Fonte: Autora, 2020.

Figura 61 - Espectro de avaliação da seletividade do Cloridrato de Prometazina fabricante 2 vs SQR



Fonte: Autora, 2020.

A técnica espectrofotométrica orientada para a análise do teor do Cloridrato de Prometazina demonstra, para o fabricante I, que não há seletividade do método para o presente medicamento. Sob esse contexto, observa-se a importância da realização do processo de verificação, haja vista que o método farmacopeico orientado para a determinação da potência do presente ativo, no geral, foi validado sobre uma matriz de um medicamento referência; porém, novos medicamentos com formulações diferentes são constantemente registrados no país, tanto na forma de similar quanto na de genérico, os quais estão à disposição da população e, diante do cenário de vigilância pós-comercialização, precisam ter sua qualidade monitorada. Dessa forma, um método que não possui seletividade na determinação quantitativa do ativo está comprometido para sua finalidade.

Vale ressaltar, ainda, que a realização dessa verificação de métodos ocorreu em Maio de 2019 sob orientação da Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), até então vigente e, em Agosto de 2019, foi aprovada a 6ª edição desse compêndio oficial. Contudo, o método de doseamento do medicamento Cloridrato de Prometazina permaneceu inalterado se comparado ao método presente na edição de 2010. Tal realidade leva a refletir o quanto as ações de vigilância sanitária ainda não acompanham as atualizações de produtos do mercado. Em consequência disso,

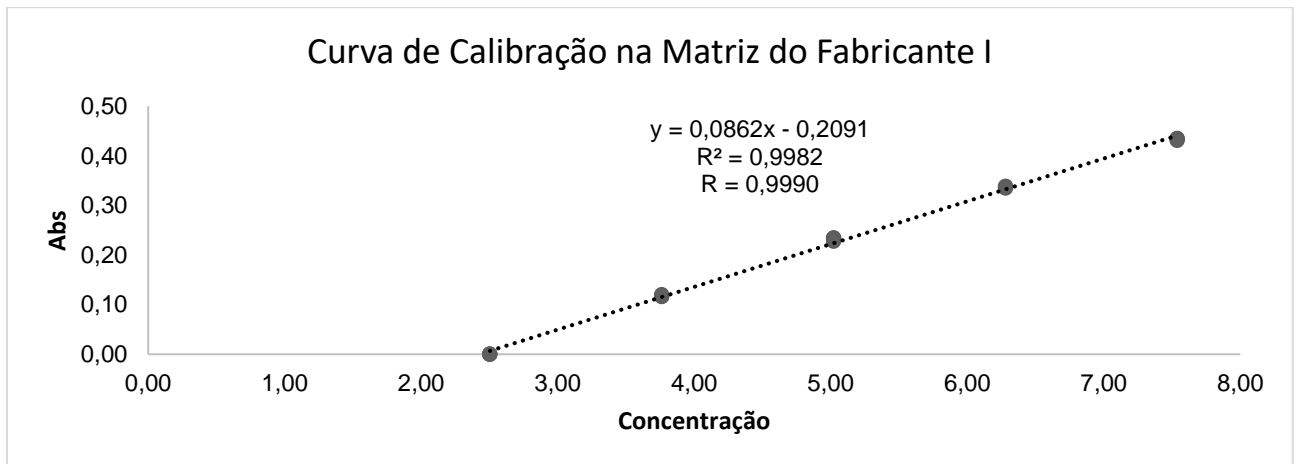
pode-se gerar resultados sem confiabilidade analítica nos ensaios de qualidade orientados para produtos críticos, como medicamentos. Isso pode ter impacto nas ações de promoção e recuperação da saúde da sociedade brasileira.

No estudo de seletividade para o fabricante II, observa-se a sobreposição entre os espectros da amostra fortificada e o SQR, o que demonstra a seletividade do método para essa matriz.

4.5.2 Linearidade

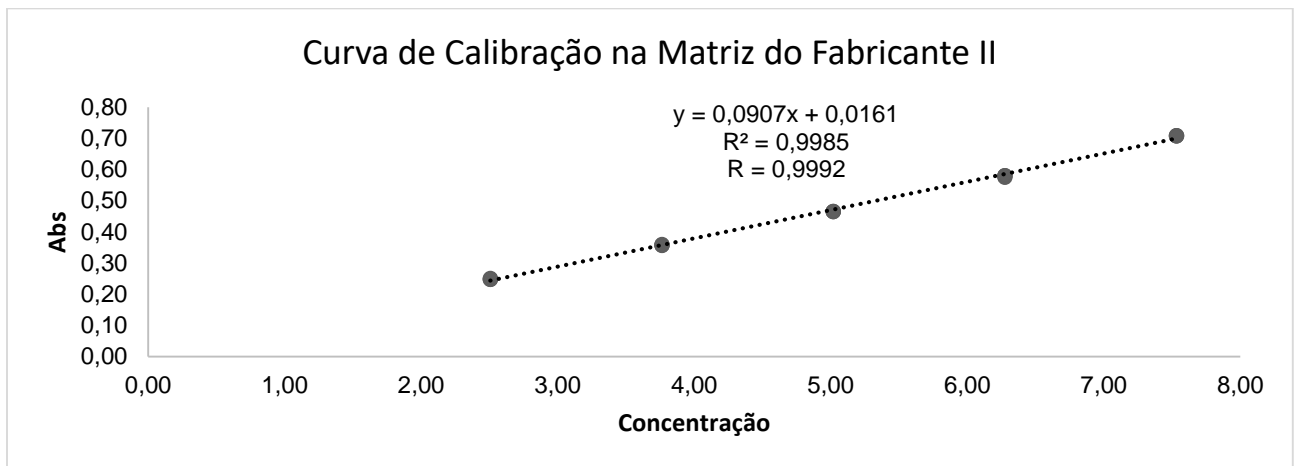
As Figuras 62 a 63 trazem as curvas de linearidade obtidas para cada matriz com os respectivos coeficientes angulares (a), coeficientes lineares (b) e os coeficientes de correlação (R) e determinação (R^2).

Figura 62 - Curva de calibração amostra fortificada do Fabricante I de Cloridrato de Prometazina



Fonte: Autora, 2020.

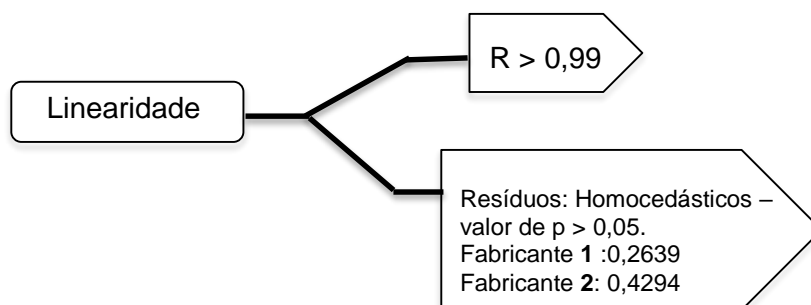
Figura 63 - Curva de calibração amostra fortificada do Fabricante II de Cloridrato de Prometazina



Fonte: Autora, 2020.

A Figura 64 apresenta o Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método.

Figura 64 - Esquema dos resultados de avaliação da linearidade do método para as matrizes de Cloridrato de Prometazina avaliadas



Fonte: Autora, 2020.

A partir dos resultados, demonstra-se para as duas matrizes que o método é linear ($R > 0,99$, Coeficiente angular diferente de 0 e Homocedasticidade – conforme demonstrado no esquema, Figura 64, e nas Figuras 62 e 63).

4.5.3 Repetibilidade

A Tabela 20 traz os resultados obtidos na avaliação da Repetibilidade do método Farmacopeico para as matrizes de Cloridrato de Prometazina avaliadas.

Tabela 20 - Resultado de DPR% referente à avaliação da Repetibilidade nas matrizes dos fabricantes 1 e 2, respectivamente, de Cloridrato de Prometazina 25 mg

| Fabricante | 1 | 2 | Resultados |
|------------|-----|-----|--------------------------|
| DPR (%) | 0,4 | 0,3 | < 5% APROVADOS |

Fonte: Autora, 2020.

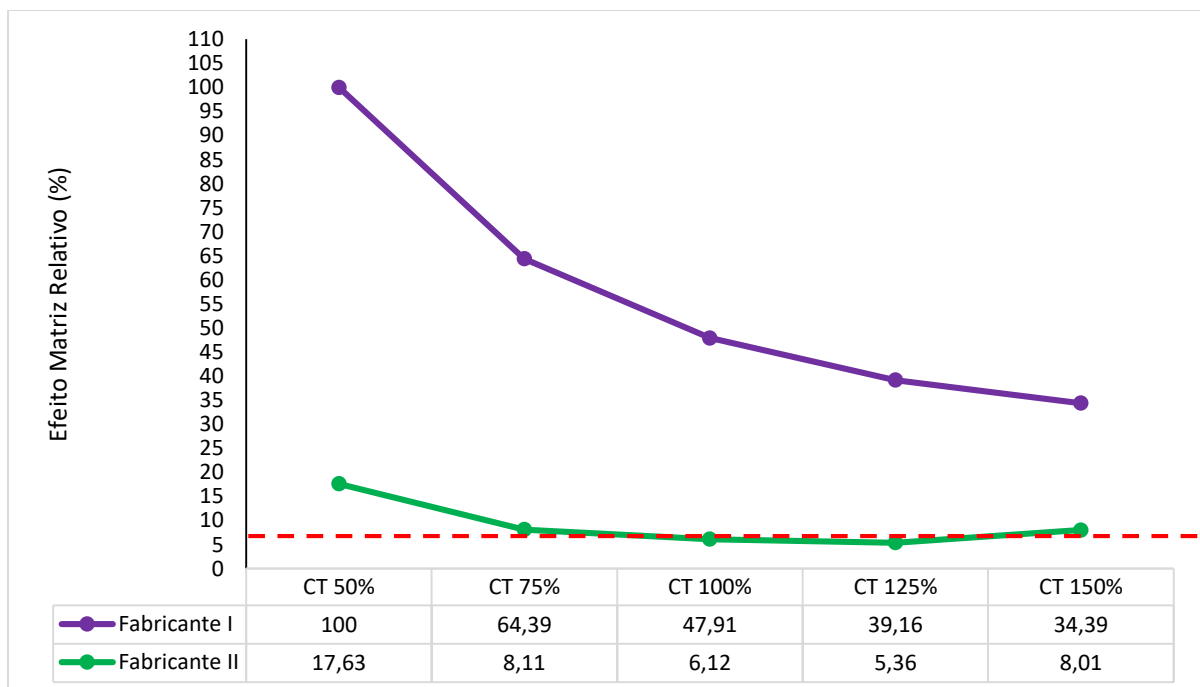
O método mostrou-se repetitivo para as duas matrizes (DPR < 5%).

4.5.4 Avaliação do Efeito Matriz

– Efeito Matriz Relativo

A Figura 65 apresenta os resultados de efeito matriz relativo do método farmacopeico referentes às matrizes avaliadas.

Figura 65 - Gráfico dos valores de efeito matriz relativo nas matrizes de Cloridrato de Prometazina em estudo



Fonte: Autora, 2020.

O método Farmacopeico demonstrou, para as matrizes avaliadas, a interferência da matriz, com efeito matriz relativo em todos os pontos, nos dois

produtos, acima do valor tomado como referência na avaliação do efeito de matriz relativo (5%). Cabe frisar que o método já não demonstrou possuir seletividade para o Fabricante I e, para o Fabricante II, apesar de ter se mostrado seletivo, houve presença de efeito matriz ao se comparar as curvas de calibração (discussão adiante sobre a Tabela 21) e, isso, pode ser uma razão para observar os resultados de efeito matriz pela comparação relativa.

– *Comparação entre curvas: amostra fortificada vs SQR – Avaliação estatística*

Os resultados da avaliação estatística entre as curvas encontram-se na Tabela 21.

Tabela 21 - Resultados da avaliação estatística de parâmetros para a comparação entre a amostra de Cloridrato de Prometazina fortificada vs SQR.

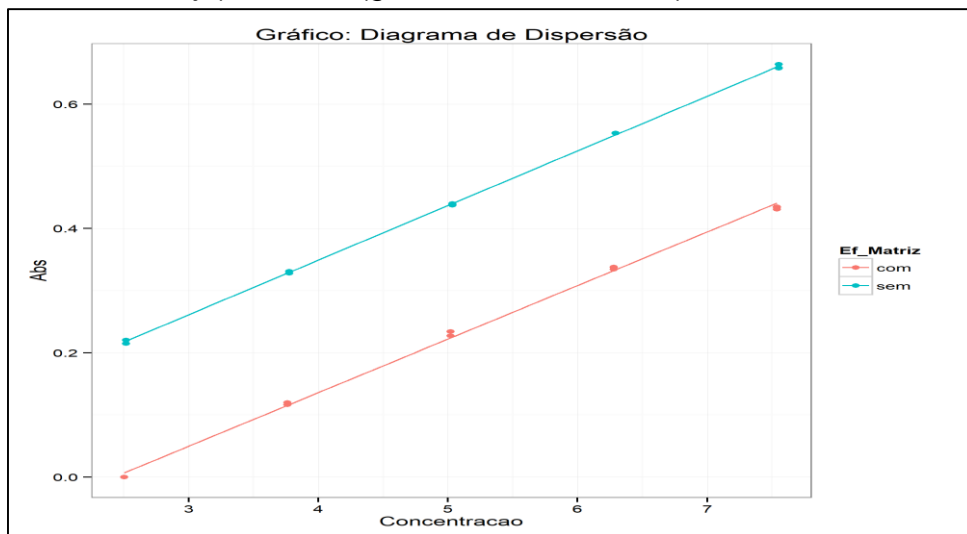
| Testes de Comparação - p-valor. | | |
|--|----------------------------|-----------------------------|
| Fabricante Parâmetro | 1 | 2 |
| Intercepto | 1,37991x 10 ⁻²³ | 0,001044801 |
| Paralelismo | 0,136253569 | 0,02537778 |
| Coincidência | 1,60701x 10 ⁻³⁵ | 2,31775 x 10 ⁻¹⁵ |

Fonte: Autora, 2020.

A avaliação estatística também demonstrou a presença de efeito matriz para os dois produtos avaliados. Além disso, ao realizar uma avaliação visual entre as curvas das duas amostras (Figuras 66 e 67) de Cloridrato de Prometazina, verifica-se que a curva da amostra apresenta resposta menor que a do SQR, isto é, a matriz suprimiu o sinal do analito para a amostra do fabricante 1, reduzindo a capacidade de resposta na técnica analítica utilizada. Enquanto no fabricante 2 a resposta da amostra é maior que o SQR, demonstrando que o efeito dessa matriz aumenta o sinal do analito analisado. Com a presença do efeito matriz, não há confiabilidade analítica na aplicação desse método, e os resultados gerados tendem a não representar a real quantificação do analito de interesse.

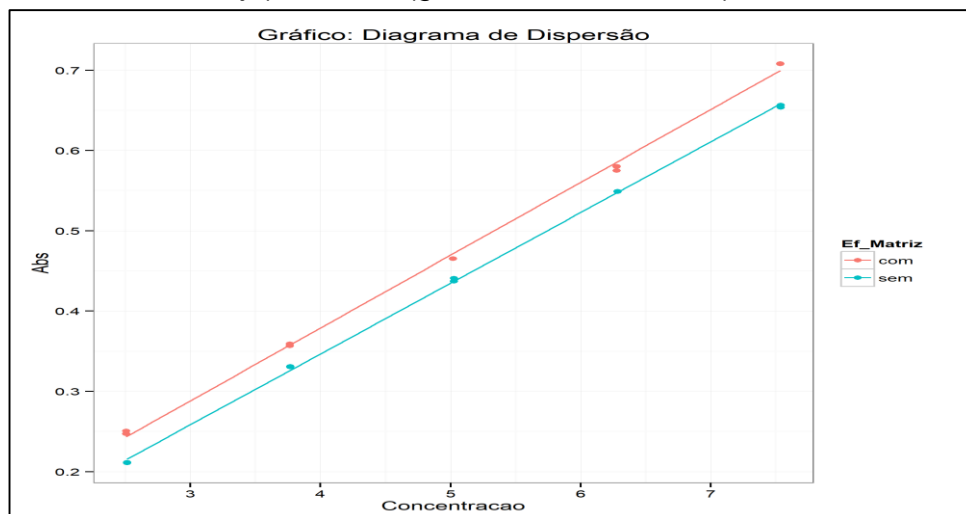
Compreende-se, portanto, que o método sugerido para a determinação do Teor de Cloridrato de Prometazina nos medicamentos analisados, não é aplicável, tendo em vista que a matriz interfere de maneira a alterar a resposta instrumental do analito - a qual está diretamente ligada à sua quantificação o que é um risco associado a um produto de interesse sanitário, podendo gerar um dano na saúde da população.

Figura 66 - Comparação gerada pelo software ActionStat® entre as curvas de calibração da matriz do Fabricante I de Cloridrato de Prometazina 25 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)



Fonte: Autora, 2020.

Figura 67 - Comparação gerada pelo software ActionStat® entre as curvas de calibração da matriz do Fabricante II de Cloridrato de Prometazina 25 mg fortificada (gráfico de linha laranja) vs SQR (gráfico de linha verde)

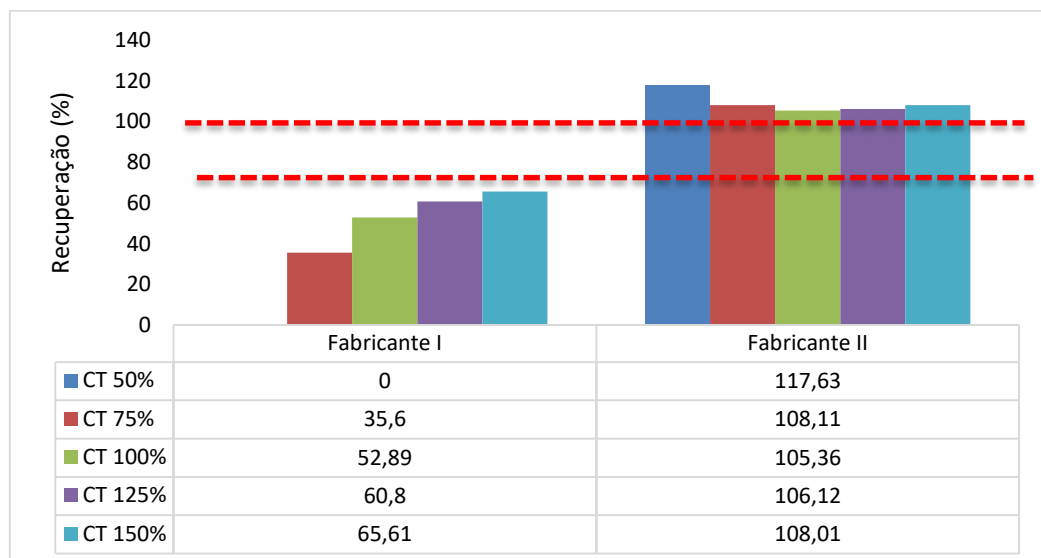


Fonte: Autora, 2020.

4.5.5 Exatidão

A Figura 68 apresenta os resultados gerados na avaliação do efeito matriz relativo para os dois fabricantes de Cloridrato de Prometazina em estudo. A concentração de trabalho do método compendial é de 5ppm e, conforme demonstrado no Quadro 2, a faixa de recuperação para avaliar a exatidão é de 80% -110%.

Figura 68 - Resultados da recuperação da amostra fortificada de Cloridrato de Prometazina nas duas matrizes em estudo



Fonte: Autora, 2020.

Observa-se que o método para o fabricante I não é exato; já, para o fabricante II, exceto o menor nível de concentração, verifica-se a exatidão para a presente matriz (valores dentro da faixa de 80% a 110%). O resultado referente ao fabricante I pode ser explicado devido à falta de seletividade, já observada inicialmente na verificação do método para essa matriz. A falta de seletividade já demonstra a não aplicabilidade do referido método compendial na análise desse produto.

Em relação ao fabricante II, uma recuperação superior a 110% foi verificada no nível de trabalho mais baixo (50%), mas isso pode ter ocorrido devido a menor concentração analisada estar mais susceptível a interferência da matriz e, conseqüentemente, impactando na recuperação do analito.

5 CONCLUSÃO

Nesse estudo de verificação compendial foi possível admitir a aplicabilidade dos métodos farmacopeicos com técnica espectrofotométrica para dois princípios ativos (Aciclovir e cloridrato de Ciprofloxacino) e a não utilidade dessa técnica para o doseamento de uma matriz de Diazepam avaliada – devido a presença de efeito matriz - e de dois fabricantes de Cloridrato de Prometazina — ausência de seletividade (para o produto do Fabricante I), presença de efeito matriz, além de, para um fabricante desse princípio ativo, resultados de exatidão fora da faixa de recuperação recomendada pela AOAC na faixa de trabalho indicada pelo método. Sob essas realidades, admiti-se a utilização do método de registro do fabricante após a realização do processo de transferência de métodos, como descrito no POP 65.3110.079 do Setor De Medicamentos - INCQS. Ademais, cabe salientar, em relação ao método de doseamento referente ao Cloridrato de Prometazina, a permanência do mesmo sem alterações em relação a atualização da farmacopeia; isso, como demonstrado no presente trabalho, pode configurar a realização de uma análise sem a qualidade analítica necessária na determinação quantitativa desse princípio ativo em diferentes matrizes.

Os métodos farmacopeicos com uso de técnica cromatográfica, verificados em dois princípios ativos, Captopril e Diazepam, demonstraram a adequação para determinação da potência nas seis matrizes estudadas (duas do Diazepam e quatro do Captopril), com resultados satisfatórios em todos os parâmetros avaliados. A partir da validação parcial de métodos farmacopeicos foi possível realizar uma avaliação satisfatória acerca da utilização dos métodos de doseamento nas matrizes estudadas e, isso, corrobora para a confiabilidade analítica dos medicamentos analisados. Assim, pode-se contribuir na proteção e promoção da saúde da população e no fortalecimento das ações de vigilância sanitária no que se refere ao desenvolvimento técnico-científicos nos laboratórios Oficiais.

REFERÊNCIAS

ADAMS, J. **Risco**. São Paulo: Editora SENAC São Paulo, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019. v. 1.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Anuário Estatístico Do Mercado Farmacêutico 2017**. Brasília: ANVISA, 2018. 28 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/3413536/Anu%C3%A1rio+Estat%C3%ADstico+do+Mercado+de+Medicamentos+2017/9f8fb420-e4b7-4a2e-8d76-6edf4b6cb856>. Acesso em: 25 jan. 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Cartilha de vigilância sanitária**. Brasília: ANVISA, 2002. 58 p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 37, de 6 de Julho de 2009**. Brasília: ANVISA, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA. **Semana Mundial da Alergia**. São Paulo: ASBAI, 2013. Disponível em: <http://asbai.org.br/semana-mundial-da-alergia-08-a-14-04-2013/>. Acesso em: 02 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários**. Brasília: Mapa, 2011. 72 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada no 37, de 6 de julho de 2009. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0037_06_07_2009.html. Acesso em: 19 ago. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada no 166, de 25 de julho de 2017. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401. Acesso em: 15 ago. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Âmbito da Saúde Única 2018-2020**. Brasília: MS, 2018.

BRUCE, P.; MINKKINEN, P.; RIEKKOLA, M. L. Practical Method Validation: Validation Sufficient for an Analysis Method. **Mikrochim. Acta**, v. 128, p. 93-106, 1998.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAM; R.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre, RS: AMGH, 2012. 2079 p.

CALCATERRA, N. E.; BARROW, J. C. Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). **ACS Chemical Neuroscience**, Washington, v. 5, n. 4, p 253-260.

CANIATO, A. M. P; NASCIMENTO M. L. V. A vigilância na contemporaneidade: seus significados e implicações na subjetividade. **Psicologia em revista**, Belo Horizonte, v. 13, n. 1, p. 41-68, 2007. Disponível em: http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-11682007000100004. Acesso em: 19 ago. 2019.

CEDAFAR - CENTRO DE ESTUDOS E DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO FARMACÊUTICO. Faculdade de Farmácia UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2020.

CRIADO, P.R., CRIADO, R.F.J, MARUTA, C.W., FILHO, C.D'A.M. Histamina, receptores de histamina e anti-histamínicos: novos conceitos. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 85, n.2, p 195-210, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962010000200010. Acesso em: 25 jan. 2020.

DAVIS, R. MARKHAM, A.; BALFOUR, J.A. Ciprofloxacina: An updated review of its pharmacology, therapeutic efficacy and tolerability. **Drugs**, Estado Unidos, v. 51, n.6, p 1019-1074, 1996.

DCTECH LABORATORY TECHNOLOGIES. **Parâmetros de validação analítica pureza de pico (co-eluição)**. Itupeva, São Paulo: DCtech Laboratory Technologies, 2020.

EDUARDO, M. B. P. Vigilância Sanitária. *In*: SAÚDE e cidadania. São Paulo: Editora Fundação Petrópolis, 1998.

ERMER J; MILLER J. H. **Method validation in pharmaceutical analysis**: a guide to best practice. Weinheim, Alemanha: Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2005. 411 p.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. 1 v.

FARMACOPEIA Brasileira. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019. 1 v.

FERNANDES, S.S.C. *et al*. Tendência epidemiológica das prevalências de doenças alérgicas em adolescentes. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v. 43, n. 5, p 368-372, Outubro de 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132017000500368&lng=en&tlng=en. Acesso em: 02 jan. 2019.

GALO, A.L.; COLOMBO, M.F. Espectrofotometria de longo caminho óptico em espectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para

investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, 2009.

GELLER, M. *et al.* Herpes Simples: Atualização Clínica, Epidemiológica e Terapêutica. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissível**, Niterói, v. 24, n. 4, p. 260-266, 2012. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista24-4-2012/8-Herpes%20Simples%20Atualizacao%20Clinica.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2020.

GIL, E.S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A. "A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles." **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 227-238, 2007.

GOVERNO DO PARANÁ. Secretaria de Estado de Saúde. Vigilância Sanitária: Legislação e atributos. Disponível em http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:mORGL5dObqYJ:www.escoladesaude.pr.gov.br/arquivos/File/PGVS_Vigilancia_Sanitaria_aula_30AGOSTO.ppt+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 19 ago. 2019.

HAGE, D. S; CARR, J. D. **Química analítica e análise quantitativa**. São Paulo: Ed. Pearson Education, 2011. 847 p.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. Rio de Janeiro: Ed. LTC, 2008. 870 p.

HUBER, L. **Validation of analytical methods**. Alemanha: Agilent Technologies, 2010. Número de Publicação 5990-5140EN.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA. **DOQ-CGCRE-008**: orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo. Rio de Janeiro: INMETRO, 2018.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**. Suíça: ICH, 2005. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf. Acesso em: 25 jan. 2020.

LAPPONI, J. C. **Estatística usando Excel**. São Paulo: Laponi Treinamento e Editora, 2000.

LOMBARDO, M.; ESERIAN, J. K. A análise da qualidade de medicamentos e o papel do laboratório oficial no contexto da saúde pública. **Revista de Administração em Saúde**, São Paulo, v. 17, n. 67, 2017.

MALUF, D. F. *et al.* Determinação simultânea de paracetamol e cafeína por espectrometria UV-Vis associada a ferramentas matemáticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 89, n.1, p. 39-43, 2008.

MARTELLI, A.; LONGO, M.A.T.; SERIANI, C. Aspectos Clínicos e Mecanismos de Ação das Principais Classes Farmacológicas Usadas no Tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica. **Estudos de Biologia**, Paraná, v. 30, n.71, p 149-156, 2008.

MATUSZEWSKI, B. K. Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC-MS bioanalysis. **J. Chromatogr.B**, v. 830, p. 293-300, 2006.

MENDES, D.P. *et al.* Avaliação de Competências Desenvolvidas na Disciplina de Química Medicinal da Pós-Graduação Strictu Sensu: uma experiência de sala de aula. **Química Nova**, São Paulo, v. 40, n. 10, 2017.

OLIVEIRA, V. C. B & CAMPOS, R. Estudos de equivalência farmacêutica de comprimidos de ibuprofeno. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v. 11, p.56-64, 2014.

PASTORINO, A.C. Revisão sobre a eficácia e segurança dos anti-histamínicos de primeira e segunda geração. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 33, n. 3, p 88-92, Agosto de 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Qualidade de Biocombustíveis. Circular Técnica. n.3, p.4, 2010.

SETA, M. H. DE; OLIVEIRA, C. V. S.; PEPE, V. L. E. Proteção à saúde no Brasil: o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 10, p. 3225-3234, 2017. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-81232017021003225&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 19 ago. 2019.

SILVA, A. S. **Perfil epidemiológico do Herpes simplex no grupo de homens que fazem sexo com homens e avaliação do RNA de interferência como agente antiviral na encefalite herpética em camundongos BALB/c**. 2015. 169 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Pós-Graduação em Medicina Tropical, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Ed. CENGAGE LEARNING, 2009. 1088 p.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. **Fundamentos de química analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

STULZER, H.K.; TAGLIARI, M.P.; SILVA, M.A.S. Desenvolvimento e validação de um método analítico para quantificação por espectroscopia UV de captopril em comprimidos de liberação prolongada. **Revista Colombiana de Ciências Química Farmacêutica**, Bogotá, v. 35, n.2, p. 212-223, 2006.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Validation of compendial procedures.** 40 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2017. Cap. 1225.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Verification of compendial procedures.** 40 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2017. Cap. 1226.

VAZ JUNIOR, S. **Análise química instrumental e sua aplicação em controle de qualidade de biocombustíveis.** Brasília: Embrapa, 2010.

VOCABULÁRIO Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais de termos associados (VIM 2012). 1. ed. luso-brasileira. Duque de Caxias, RJ: INMETRO, 2012. 94 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The Burden of Mental Disorders in the Region of the Americas, 2018.** Washington, DC., 2018. 48 p. Disponível em: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/49578/9789275120286_eng.pdf?sequence=10&isAllowed=y. Acesso em: 25 jan. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Action Plan on Antimicrobial Resistance.** Geneva Suíça, 2015. 28 p. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 25 jan. 2020.