UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Desenvolvimento e caracterização de minicomprimidos
contendo besilato de anlodipino

Leandro Giorgetti

São Paulo
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Desenvolvimento e caracterização de minicomprimidos
contendo besilato de anlodipino

Leandro Giorgetti

Dissertação para obtenção do grau
de MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz

São Paulo
2012

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Giorgetti, Leandro

G498d Desenvolvimento e caracterização de minicomprimidos contendo
besilato de anlodipino / Leandro Giorgetti. -- São Paulo, 2012.
97p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Ferraz, Humberto Gomes

1. Farmacotécnica 2. Formulações farmacêuticas 3. Tecnologia
farmacêutica I. T. II. Ferraz, Humberto Gomes, orientador.

615.4 CDD

Leandro Giorgetti

Desenvolvimento e caracterização de minicomprimidos contendo
besilato de anlodipino

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

Aos meus pais Pedro e Evanilde

Em um mundo dominado pelo relativismo, vocês demonstram que é possível ter e viver uma família.
A minha será como a de vocês.

À minha irmã Camila

Pela fonte de inspiração e por ser a prova viva de que
"Se você quer ser bem sucedido, precisa ter dedicação total, buscar seu último limite e dar o melhor de si mesmo." (A. Senna)

À minha noiva Tatiana

Cujo sorriso me conduz ao objetivo maior da minha vida, que é fazer você feliz.
Te amo. Para sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao professor doutor Humberto Gomes Ferraz, não somente pela orientação do trabalho e pela oportunidade a mim concedida, mas pela inspiração, boas conversas e, sobretudo, pela amizade.

Aos professores: Nádia Araci Bou Chacra, Miriam Krasilchik, Jivaldo do Rosário Matos e Letícia Norma Carpentieri pelas dicas e ensinamentos, sejam em conversas particulares ou nas disciplinas da pós-graduação.

Aos meus queridos amigos do DEINFAR: Eremita Santos, Marcelo Dutra Duque, Missael Ferreira da Silva, Karina Gueogjian, Kátia Nami Ito, Felipe Fernandes, Amanda Campos e Flávia Pires, que sempre apoiaram minha caminhada partilhando conhecimento e palavras amigas. Um obrigado especial a Fagner Magalhães, que me ajudou na produção das formulações e cuja amizade ultrapassou as barreiras do laboratório; a Michele Georges Issa, por sua determinação em ajudar os outros (e pelo auxílio indispensável em estatística!), e a Patrícia Elizabeth Rivas-Granizo, *por la amistad, confianza, almuerzos e todos los ensinamientos. Muchas gracias!*

Aos estagiários de ontem e hoje. Aos farmacêuticos de amanhã: Bruno Camardella, Cintia Azevedo Alves, Aline Rotildes, Natália Vieira, Nathallia Vilela, Priscila Marcelino, Beatriz Kakuda, Patricia Ribeiro Bosomba, pela dedicação e empenho.

A todos os mestres que passaram pelo laboratório: Andrea Ikeda Takahashi, Arthur Lopes Jr, Ana Paula Zerbini, Ana Lúcia Nobusa, Roxana Lili Roque Flores. Sou grato pela inspiração e por ter feito parte, de alguma forma, do trabalho de vocês.

A todos os colegas, técnicos e demais colaboradores do Departamento de Farmácia. São tantos, que ajudaram em tantos detalhes... Impossível listar todos aqui. Só posso dizer muito obrigado!

Aos funcionários David, Elizabeth, Jorge e Elaine pelos esclarecimentos e dedicação. Às funcionárias Marina e Maria Luiza, da Biblioteca do Conjunto das Químicas, pela rápida e eficiente elaboração da ficha catalográfica.

Aos meus grandes amigos da FCF / USP: Gerson Alberto Soares, Mauro André Zanichelli e Larissa Maria Tamanaha. Estar ao lado de vocês é garantia de felicidade

sincera e verdadeira. Amo de coração! A todos os colegas com quem tive a oportunidade de conviver durante seis anos de graduação, meus agradecimentos.

Aos meus amigos não farmacêuticos: Bruna Carlucci Petronilho, Douglas Vieira da Silva, Felipe Aliste, Ilton Silva, Marcelo Tiago de Sousa, Lucineide Gomes, Rodrigo Lupp Mota, Rodrigo Caetano Brandani, Cauê, professor Rogério Antônio e tantos outros... A eles, digo: "Um amigo fiel é uma poderosa proteção: quem o achou descobriu um tesouro" (Eclesiástico 6,14).

A todos os meus familiares: tios (em especial Tia Néia, pela constante preocupação e dedicação), primos, sobrinhos, cunhados. À minha sogra, D. Maria, pelos sorrisos e gestos de apoio. Aos meus avós Maria Antônia Salvador Versolato e Alcides Versolato (*in memoriam*) pelas mais felizes lembranças de minha infância e juventude.

Agradeço a todos que já passaram na minha vida e contribuíram para a minha formação. Que seja dado o cêntuplo de tudo o que vocês fizeram por mim.

E por fim, e não menos importante, minha suprema gratidão a DEUS, autor e princípio de tudo, e a Maria Santíssima, nossa intercessora junto a seu Filho, para que o dom da VIDA fosse permitido a mim e aos que eu amo. *Totus tuus ego sum!*

*Feliz o homem que é constante na sabedoria, e que discorre com a sua inteligência;
Que repassa no seu coração os caminhos da sabedoria, e que penetra no conhecimento dos
seus segredos;
Vai atrás dela como quem lhe segue o rastro, e permanece nos seus caminhos;
Olha pelas suas janelas, e escuta às suas portas;
Repousa junto da sua morada, e fixa um pilar nas suas paredes;
Levanta a sua tenda junto dela, e estabelece ali agradável morada;
Coloca os seus filhos debaixo da sua proteção, e ele mesmo morará debaixo dos seus ramos;
À sua sombra estará defendido do calor, e repousará na sua glória.*

Eclesiástico, 14. 22-27.

RESUMO

GIORGETTI, L. **Desenvolvimento e caracterização de minicomprimidos contendo besilato de anlodipino**. 2012. 103 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

Este trabalho tem por objetivo desenvolver e caracterizar minicomprimidos de besilato de anlodipino para liberação imediata. Para tanto, foi realizado um estudo de pré-formulação de amostras do fármaco provenientes de diferentes fornecedores. Os resultados indicaram que o ativo é de alta solubilidade, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Além disso, não foram encontradas diferenças nas estruturas cristalinas das matérias-primas estudadas. Em seguida, foi feito um estudo de velocidade de dissolução intrínseca (VDI) do besilato de anlodipino, utilizando planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) cujas variáveis foram o meio de dissolução, velocidade de rotação e pressão de compactação. Verificou-se, que a VDI do besilato de anlodipino é afetada principalmente pelo meio de dissolução. Por fim, nove lotes de minicomprimidos (F1 a F9), contendo o fármaco para liberação imediata, foram produzidos de acordo com um planejamento fatorial completo 3^2 , no qual foi avaliado o impacto do diluente e do desintegrante nas características físicas da formulação e na dissolução do ativo. Os resultados indicam que o diluente influencia no peso médio e relação diâmetro / espessura das formulações, o que é evidenciado pelas diferentes propriedades plásticas da celulose microcristalina e do fosfato de cálcio diidratado. Por outro lado, a eficiência de dissolução é uma resposta influenciada pelo uso do desintegrante. Considerando as recomendações da OMS para dissolução de medicamentos contendo fármacos de classe I ou III do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, tal resultado indica que, somente com o uso de crospovidona ou croscarmellose, é possível alcançar uma liberação de 85% da dose em não mais do que 15 minutos, mesmo se tratando de um fármaco de alta solubilidade.

Palavras-chave: Minicomprimidos, pré-formulação, dissolução intrínseca, anlodipino.

ABSTRACT

GIORGETTI, L. **Development and characterization of mini-tablets containing amlodipine besylate.** 2012. 97p. Dissertation (Master's) - Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo. 2012.

The purpose of this study was to develop and characterize immediate release mini-tablets containing amlodipine besylate. Accordingly, a pre-formulation study of samples of the drug from different suppliers was carried out. The results indicate that the active ingredient is highly-soluble, as defined by the Biopharmaceutics Classification System. Furthermore, no differences in the crystalline structures of the raw material in question were encountered. Subsequently, a study of the intrinsic dissolution rate (IDR) of amlodipine besylate was carried out using a fractional factorial design (3^{3-1}), whose variables were the dissolution medium, rotation speed and compaction pressure. We ascertained that the IDR of amlodipine besylate is mainly affected by the dissolution medium. Finally, nine batches of mini-tablets (F1 to F9) containing the drug for immediate release were produced in accordance with a complete factorial design (3^2), in which the impact of the diluent and the excipient on the physical characteristics of the formulation and on the dissolution of the active ingredient was assessed. The results indicate that the diluent influences the average weight and the diameter / thickness ratio of the formulations, which is evidenced by the different plastic properties of microcrystalline cellulose and calcium phosphate dihydrate. On the other hand, dissolution efficiency is influenced by the use of the disintegrant. Considering WHO recommendations for the dissolution of medications containing class I or III drugs of the Biopharmaceutics Classification System, this result indicates that it is possible to attain 85% of the dosage dissolved in less than 15 minutes only with the use of crospovidone or croscarmellose, even for a highly-soluble drug.

Keywords: Mini-tablets, pre-formulation, intrinsic dissolution, amlodipine.

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I – ANLODIPINO: PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS E FARMACOCINÉTICAS, USO EM TERAPIA COMBINADA E METODOLOGIAS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO</i>	12
RESUMO	13
1. INTRODUÇÃO	14
1.1. BLOQUEADORES DE CANAIS DE CÁLCIO: DIIDROPIRIDINAS	15
2. ANLODIPINO	18
2.1. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS ..	18
2.2. FARMACOLOGIA	20
2.3. FARMACOCINÉTICA	20
2.3.1. Absorção	21
2.3.2. Distribuição	21
2.3.3. Metabolismo e eliminação	22
2.4. SEGURANÇA E EFICÁCIA	22
2.5. ASSOCIAÇÕES DE ANLODIPINO COM OUTROS FÁRMACOS	23
2.6. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	30
3. CONCLUSÃO	35
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
 <i>CAPÍTULO II –</i>	
<i>CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE BESILATO DE ANLODIPINO</i>	46
RESUMO	47
1. INTRODUÇÃO	48
2. MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.1. AMOSTRAS DE FÁRMACO	49
2.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	50
2.2.1. Solubilidade	50
2.2.2. Análise Térmica	50
2.2.3. Análise de tamanho de partícula	50
2.2.4. Difração de raios-X no estado sólido	51
2.2.5. Análise de área superficial	51
2.2.6. Densidade verdadeira	52
2.2.7. Densidade aparente e compactada	52
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52

4. CONCLUSÃO	58
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

CAPÍTULO III – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PARÂMETROS NA VELOCIDADE DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DO BESILATO DE ANLODIPINO

RESUMO	62
1. INTRODUÇÃO	63
2. MATERIAIS E MÉTODOS	65
2.1. Fármaco	65
2.2. Planejamento experimental	65
2.3. Dissolução intrínseca	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
4. CONCLUSÃO	76
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

CAPÍTULO IV – DESENVOLVIMENTO DE MINICOMPRESSOS CONTENDO BESILATO DE ANLODIPINO E AVALIAÇÃO DOS FATORES QUE AFETAM SUAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E DISSOLUÇÃO.....

RESUMO	80
1. INTRODUÇÃO	81
2. MATERIAIS E MÉTODOS	82
2.1. MATERIAIS	82
2.2. MÉTODOS	82
2.2.1. Preparo das formulações	82
2.2.2. Testes físicos	84
2.2.3. Teor de anlodipino	85
2.2.4. Perfil de dissolução	85
2.2.5. Cálculos Estatísticos	85
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	86
3.1. TESTES FÍSICOS.....	86
3.2. DISSOLUÇÃO	90
4. CONCLUSÃO.....	94
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

ANEXOS (Informações para os membros de banca julgadora de mestrado / doutorado, Currículo Lattes, Ficha de Aluno atualizada)

CAPÍTULO I

Anlodipino: propriedades farmacológicas e farmacocinéticas, uso em terapia combinada e metodologias de identificação e quantificação

ANLODIPINO: PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS E FARMACOCINÉTICAS, USO EM TERAPIA COMBINADA E METODOLOGIAS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

RESUMO

A hipertensão é uma doença que se caracteriza pela variação da pressão arterial sistólica e diastólica no interior dos vasos sanguíneos. Quando não controlada, pode desencadear o aparecimento de outras doenças, podendo levar o paciente à morte. Nesse sentido, fármacos cardiovasculares, como o anlodipino, são empregados para prevenção e tratamento dessa cardiopatia. O anlodipino (pertencente à terceira geração da classe das diidropiridinas) é um bloqueador de canais de cálcio, razoavelmente solúvel em água e sensível à luz. Seu efeito vasodilatador prolongado é explicado pela ligação iônica do grupo amino protonizado com o oxigênio aniônico presente na membrana fosfolipídica dos receptores L. Possui biodisponibilidade média de 65%, o que indica a ocorrência significativa de um metabolismo de primeira passagem. A administração do fármaco não resulta em eventos adversos graves, e sua eficácia é comprovada por uma real diminuição da pressão arterial. Atualmente, o anlodipino vem sendo empregado em associações com outros fármacos anti-hipertensivos, resultando em efeitos farmacológicos potencializados. A terapia combinada, em todos os casos revisados, se mostrou mais vantajosa em relação à monoterapia, o que indica uma tendência de escolha para o tratamento de doenças cardiovasculares. Por fim, a revisão das metodologias para análise de anlodipino indica que a determinação do fármaco é simples, o que possibilita um amplo estudo de sua estabilidade, dissolução e farmacocinética.

1. INTRODUÇÃO

Doenças cardiovasculares são distúrbios que afetam o bom funcionamento do coração e vasos sanguíneos, comprometendo, assim, a circulação de sangue e a oxigenação dos tecidos. Atualmente, constituem a principal causa de morte em escala global, representando 29% (17,1 milhões) de todos os óbitos. No Brasil, as doenças cardiovasculares também são as principais causas de falecimento (149/100 mil habitantes), apesar da pequena queda da mortalidade registrada entre 1990 e 2006. As maiores incidências se localizam nas regiões Sul e Sudeste, chegando, inclusive, a ultrapassar a média nacional (BRASIL, 2009).

As principais causas relacionadas ao surgimento de doenças cardiovasculares estão ligadas aos hábitos da população. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o sedentarismo, o tabagismo e o estresse cotidiano contribuem fortemente para o aparecimento de hipertensão, diabetes e obesidade (OKSANEN et al., 2012; YARLIOGLUES et al., 2010).

A hipertensão é uma doença que se caracteriza pela variação da pressão arterial sistólica e diastólica no interior dos vasos sanguíneos. Tal enfermidade geralmente é precedida por um estágio anterior denominado pré-hipertensão, caracterizada quando a pressão arterial sistólica varia de 120 mmHg a 139 mmHg e a diastólica, de 80 a 89 mmHg. Nos últimos anos, tem-se dado uma atenção cada vez maior a essa etapa, pois ela aparece de forma precoce na vida humana, principalmente em adolescentes sedentários. Logo, quando não tratada corretamente (através de atividades físicas e mudanças de hábitos alimentares), pode avançar para um quadro de hipertensão propriamente dita, que já requer a utilização de fármacos para ser combatida (ACOSTA et al., 2012; FALKNER et al., 2008; MCNIECE et al., 2007).

Quando a pressão arterial sistólica e diastólica atingem níveis superiores a 140 mmHg e 90 mmHg, respectivamente, fica caracterizada uma situação de risco cardiovascular, pois a força excessiva de bombeamento enfraquece o músculo cardíaco (CARRETERO & OPARIL, 2000). Apesar de não haver manifestação de sintomas no estágio inicial da doença, o indivíduo tem grandes chances de ter sua saúde seriamente comprometida a médio e longo prazo. A hipertensão, quando não

controlada, pode desencadear o aparecimento de outras doenças, como diabetes e insuficiência renal aguda, podendo levar o indivíduo à morte (MESSERLI et al., 2007; NOSADINI & TONOLO, 2002).

Nesse sentido, fármacos cardiovasculares são empregados para prevenção e tratamento de doenças de coração, vasos sanguíneos e linfáticos. Compreendem um vasto número de ativos, organizados nas seguintes classes principais: antiarrítmicos, dilatadores de vasos coronarianos, anti-hipertensivos, fármacos contra a aterosclerose e contra insuficiência cardíaca congestiva (KOROLKOVAS, 2009). São quase sempre utilizados em terapia combinada, ou seja, empregando-se dois ou mais fármacos para a condução adequada do tratamento (GRADMAN et al., 2010).

1.1. BLOQUEADORES DE CANAIS DE CÁLCIO: DIIDROPIRIDINAS

Canais de cálcio são proteínas transmembranosas que, mediante despolarização, permitem a passagem de íons Ca^{2+} para o meio interno de células excitáveis da musculatura lisa cardíaca, que desempenham um papel importante na atividade de contração dos vasos sanguíneos (BERRIDGE et al., 2000).

Dentre os diversos grupos de fármacos que são utilizados para combater as causas e efeitos da contração excessiva dos vasos, (o que gera hipertensão), os bloqueadores de canais de cálcio (BCC) representam uma importante alternativa farmacológica no tratamento desses distúrbios, atuando, principalmente, como vasodilatadores. Seu mecanismo de ação, de uma forma geral, consiste na interrupção do fluxo de cálcio extracelular para o interior da célula, através da inibição do canal L dependente de voltagem, presente em praticamente todas as células da musculatura lisa arterial do miocárdio (ELLIOT & RAM, 2011). O bloqueio desse canal resulta na diminuição da concentração do cálcio intracelular, resultando na dilatação das artérias, arteríolas periféricas e dos vasos cerebrais (Figura 1).

Figura 1 – Mecanismo de ação dos bloqueadores de canal de cálcio

Os BCC têm como protótipos o diltiazem (da família das benzotiazepinonas), o verapamil (do grupo das fenilalquilaminas) e o nifedipino (pertencente à classe das diidropiridinas). Seus efeitos farmacológicos, além do conhecido relaxamento dos vasos sanguíneos, estão relacionados, em alguns casos, com a atividade antiarrítmica e fortalecimento do endotélio coronariano (LUSCHER *et al.*, 2009). Estudos recentes indicam outras aplicações para os BCC, tais como tratamento de glaucoma, hipertensão pulmonar, doença de Parkinson, mal de Alzheimer, entre outros (PASTERNAK *et al.*, 2012; ANEKONDA & QUINN, 2011; ARAIE & MAYAMA, 2011; TONELLI *et al.*, 2010; ISKEDJIAN *et al.*, 2009).

As diidropiridinas são assim chamadas por apresentarem um anel diidropiridínico ligado a um anel fenila contendo substituintes. A Figura 2 mostra a estrutura básica desse grupo, com os respectivos substituintes que caracterizam os fármacos da classe. Embora os ativos sejam quimicamente semelhantes entre si, eles diferem em propriedades farmacológicas e farmacocinéticas que podem ser significantes, do ponto de vista terapêutico (TRIGGLE, 2007).

Figura 2 – Estrutura das diidropiridinas e substituintes encontrados nos diferentes fármacos dessa classe. Me = grupo metila; Et = grupo etila; But = grupo butila; Ph = grupo fenila (adaptado de TRIGGLE, 2007).

Os fármacos diidropiridínicos são seletivos para a musculatura lisa vascular, ligando-se especificamente à subunidade α_1 do canal L, que nada mais é do que um sensor que promove a mudança de conformação do canal de cálcio, abrindo e fechando o poro por onde passam os íons Ca^{2+} . Com os canais fechados, o influxo de íons fica menor, gerando, assim, um efeito vasodilatador que reduz a pressão sistêmica e aumenta a oferta de sangue rico em oxigênio para as células dos tecidos miocárdicos (EDRAKI et al., 2009; KOROLKOVAS, 2009).

São conhecidas, atualmente, três gerações de fármacos diidropiridínicos (Figura 3). A primeira geração é representada pelo nifedipino, inserido na terapia contra a hipertensão na década de 1970. Já a segunda conta com vários ativos derivados, como o nisoldipino, nicardipino, nomodipino, felodipino e nitrendipino. Por fim, a terceira e atual geração de diidropiridinas tem o anlodipino como principal exemplo (EPSTEIN, 1999; FREEDMAN & WATERS, 1987).

Figura 3 – Distribuição dos fármacos na família dos bloqueadores de canais de cálcio (BCC)

Assim, o objetivo deste trabalho é atualizar, com base na revisão da literatura, as informações acerca das propriedades farmacológicas e farmacocinéticas do fármaco anlodipino, bem como identificar as associações que utilizam esse ativo no tratamento da hipertensão e os mais recentes e relevantes métodos analíticos para sua determinação e quantificação.

2. ANLODIPINO

2.1. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Anlodipino (Metil etil 2-(2-aminoetoximetil)-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-diidropiridina-3,5-dicarboxilato), de fórmula empírica $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ e peso molecular $408,9 \text{ g.mol}^{-1}$, é um fármaco de terceira geração da classe das diidropiridinas, introduzido na terapêutica em meados da década de 1980 pela Pfizer Inc., sob o nome Norvasc® (EPSTEIN, 1999). Sua estrutura contém a cadeia longa denominada 2-aminoetoximetila, que protege o anel diidropiridínico da oxidação promovida pela enzima citocromo P_{450} (KATOH et al., 2000). Possui, ainda, um carbono assimétrico, o que lhe confere a existência dos isômeros S (-) e R (+), que possuem propriedades farmacológicas distintas (KIM et al., 2009).

O fármaco, disponível majoritariamente na forma do sal besilato (Figura 4), se caracteriza por ser um pó branco, com ponto de fusão de 195°C a 204°C, estável em condições normais de temperatura e umidade. É razoavelmente solúvel em água e solúvel em etanol. Seu coeficiente de partição (log P) é de 1,9, o que sugere que a molécula é hidrofílica em valores fisiológicos de pH. Possui quatro formas distintas: anidra, monohidratada, dihidratada e amorfa (KORADIA et al., 2010).

Figura 4 – Estrutura química do besilato de anlodipino

Além do mais, o anlodipino possui notável sensibilidade frente à luz. Estudos de fotoestabilidade demonstram que o anel diidropiridínico sofre oxidação quando irradiado com luz ultravioleta, o que leva o fármaco a uma rápida degradação. Nesse sentido, a complexação com β -ciclodextrinas promove uma significativa melhora na fotoestabilidade do ativo, reduzindo sua quantidade degradada a 3% após 9 horas de ensaio (FASANI et al., 2008; RAGNO et al., 2003).

O fármaco possui um valor de pKa igual a 8,7, o que significa que, após a dissociação do sal, ele se encontra dissolvido e na forma ionizada nos fluidos do trato gastrointestinal (VAN ZWIETEN, 1994). Pelo fato de possuir alta solubilidade em todas as faixas de pH, a literatura mostra que os ensaios de dissolução *in vitro* são conduzidos tanto em meio ácido (HCl 0,1M e HCl 0,01M), quanto em tampões praticamente neutros (tampão fosfato pH 6,8; 7,2 e 7,4). No caso de comprimidos de liberação imediata, usa-se o aparato 2 (pá) a 50 ou 75 rpm, em 500 mL de meio a 37°C. O tempo de ensaio é de 60 minutos (ÇELEBIERI et al., 2010; MALESUIK et al., 2006).

No que se diz respeito ao Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), não há um consenso com relação a qual classe o anlodipino pertence. Apesar de ser um fármaco de alta solubilidade, seu valor intermediário de biodisponibilidade (65%) levanta dúvidas quanto à permeabilidade do ativo, o que leva alguns autores a identificá-lo como fármaco de classe 1, e outros como fármaco de classe 3 (LINDENBERG et al., 2004). Por outro lado, KANDELWAL e colaboradores (2007) classificam o anlodipino de acordo com outro sistema, que considera a taxa de metabolismo como critério de permeabilidade. De acordo com essa classificação, o anlodipino é inserido na classe 3, por ser de alta solubilidade e baixo metabolismo.

2.2. FARMACOLOGIA

Em comparação com as duas gerações anteriores de bloqueadores de canais de cálcio, o anlodipino possui uma diferença fundamental, pois se converte à forma ionizada em pH fisiológico. Assim, o mecanismo de ação do fármaco é explicado pela ligação iônica do grupo amino protonizado com o oxigênio aniônico presente na membrana fosfolipídica, o que explica o início de ação lento e efeito prolongado de vasodilatação (AUSTIN et al., 2005; MASON et al., 1989).

Adicionalmente, o anlodipino possui uma conhecida atividade antioxidante. Estudos com células endoteliais apontam que o fármaco reduz significativamente a liberação do ânion superóxido, responsável pelo stress oxidativo dos tecidos (detectado com grande frequência em pacientes diabéticos). Adicionalmente, o isômero R (+) é apontado como o promotor da liberação do óxido nítrico (NO), que exerce função protetora sobre as células mencionadas, evitando assim o surgimento de doenças como aterosclerose (ROSENKRANZ et al., 2006).

2.3. FARMACOCINÉTICA

Devido ao fato de o anlodipino ser um fármaco diidropiridínico com características farmacodinâmicas diferentes dos seus antecessores, sua farmacocinética tem sido estudada com certa frequência ao longo dos últimos anos. Um dos primeiros trabalhos sobre o tema avaliou a biodisponibilidade do ativo, comparando os perfis apresentados por pacientes saudáveis tratados com doses orais e intravenosas do fármaco (FAULKNER et al., 1986). Conforme apresentado

na Tabela 1, a biodisponibilidade do anlodipino, quando administrado por via oral, é de aproximadamente 65%, em média. Da mesma forma, a administração contínua da forma sólida revelou que o equilíbrio estável (*steady-state*) é atingido após sete dias.

Tabela 1 – Parâmetros farmacocinéticos de doses intravenosas e orais de anlodipino em homens saudáveis. Resultados expressos em valores médios $\pm$ desvio padrão (FAULKNER et al., 1986).

	intravenosa	oral
$C_{\max}$ (ng.mL ⁻¹)	****	5,9 $\pm$ 1,2
$T_{\max}$ (h)	****	7,6 $\pm$ 1,8
Área sob a curva (ng.h.mL ⁻¹)	371 $\pm$ 69	238 $\pm$ 54
Biodisponibilidade média (%)	****	64 (faixa: 52-88)
Clearance (mL.min ⁻¹ .kg ⁻¹)	7,0 $\pm$ 1,3	****
Volume de distribuição (L.kg ⁻¹)	21,4 $\pm$ 4,4	****
Meia vida (h)	33,8 $\pm$ 5,3	35,7 $\pm$ 6,1
Constante de Eliminação (K_{el} , h ⁻¹)	0,021 $\pm$ 0,0032	0,020 $\pm$ 0,0036

2.3.1. Absorção

O anlodipino, quando administrado na forma de comprimidos ou cápsulas, é absorvido de forma lenta, atingindo o máximo de concentração em aproximadamente 8 horas, tanto em adultos quanto em crianças. Aparentemente, não há alteração da absorção em função do estado alimentar do indivíduo, o que indica que a dose pode ser tomada antes ou depois das refeições. A concentração plasmática máxima, $C_{\max}$, obtida dos estudos de biodisponibilidade, varia de 238 a 311 ng.h.mL⁻¹ (LIU et al., 2009; PICO et al., 2008; FLYNN et al., 2006; VINCENT et al., 2000; FAULKNER et al., 1986).

2.3.2. Distribuição

Ao chegar à circulação sanguínea, o anlodipino possui forte interação com as proteínas plasmáticas do sangue, ligando-se a elas, de forma estereoseletiva, a uma razão de aproximadamente 95%. Devido ao pKa elevado, o fármaco encontra-se

ionizado e completamente dissolvido nos meios fisiológicos, sendo prontamente distribuído para todos os tecidos do organismo (MADDI et al., 2010).

2.3.3. Metabolismo e eliminação

O anlodipino, ao ser absorvido e transportado para o fígado, sofre intensa metabolização de primeira passagem graças à ação das enzimas citocromo P450 CYP3A4 e CYP3A5. O tempo de meia-vida do fármaco é de 35 a 50 horas e sua eliminação é feita majoritariamente através das vias renais (KIM et al., 2009). Atualmente, são conhecidos 32 metabólitos diferentes, quantificados em experimentos com hepatócitos de ratos através cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa. Nenhum dos referidos metabólitos possui toxicidade (SUCHANOVA et al., 2008).

2.4. SEGURANÇA E EFICÁCIA

Anti-hipertensivos são geralmente prescritos pela classe médica para uso contínuo, isto é, o paciente deve se dedicar ao tratamento por um longo período de tempo a fim de que os sintomas adversos provenientes do aumento da pressão arterial não voltem a prejudicar sua saúde. Assim, é necessário o estudo da segurança e eficácia desses medicamentos, uma vez que sua administração cotidiana pode causar, a médio e longo prazo, efeitos prejudiciais ao organismo.

No caso do anlodipino, alguns trabalhos foram conduzidos para avaliar a segurança do fármaco, quando usado em monoterapia contra hipertensão nos estágios médio e grave da doença. Não foi detectado risco letal associado ao uso prolongado do ativo. No entanto efeitos adversos moderados, representados por edema periférico, nasofaringite e dor de cabeça, são observados em uma faixa de 37 a 45% das populações estudadas. Os mesmos estudos também demonstram, de uma forma geral, que a incidência de problemas gerados pelo tratamento é diferente entre pacientes idosos (maiores de 65 anos) e os mais jovens, o que sugere que os grupos mais velhos possuem maior resistência a efeitos adversos (FLACK et al., 2009; DESTRO et al., 2008; SMITH et al., 2007).

O fármaco é comumente utilizado como anti-anginoso e anti-hipertensivo, em doses únicas que variam de 5 a 10 mg por dia para adultos e 2,5 a 5 mg para crianças menores de seis anos. No entanto, há relatos de superdosagem (muitas vezes originada por auto-medicação indevida), que resultaram em casos de hipotensão grave, bradicardia, disritmia, náuseas, edema pulmonar e insuficiência renal aguda. O tratamento emergencial para a overdose de anlodipino compreende lavagem intestinal e administração intravenosa de dopamina, epinefrina e cálcio (KUTE et al., 2011; BENSON et al., 2010; EZIDIEGWU et al., 2008).

A eficácia do anlodipino, assim como de todos os anti-hipertensivos, é dada pela diminuição da pressão arterial, tomada do paciente quando ele está sentado e em pé. Ensaios clínicos randomizados promovidos por FLACK e colaboradores (2009) mostram que o uso do fármaco acarretou em uma diminuição da pressão sistólica equivalente a 22,6 mmHg para pacientes com valores entre 160 e 200 mmHg. Da mesma forma, o anlodipino mostrou ser útil para o tratamento de pacientes pré-hipertensos, reduzindo a pressão sistólica de 129 mmHg para 124 mmHg, em média (NISSEN et al., 2004).

Não há contraindicações relevantes para o uso do anlodipino no tratamento da hipertensão, a não ser em casos de hipersensibilidade e gravidez. Da mesma forma que os demais bloqueadores de canais de cálcio, deve-se evitar a administração do fármaco quando o paciente apresenta risco de infarto iminente, ocasionado pelo enfraquecimento da musculatura do ventrículo esquerdo do coração (ELLIOTT & RAM, 2011).

2.5. ASSOCIAÇÕES DE ANLODIPINO COM OUTROS FÁRMACOS

Embora seja possível identificar uma causa específica para a hipertensão em alguns pacientes, a elevação da pressão arterial é causada, geralmente, por aspectos multifatoriais e concomitantes, como perda de vasotonicidade, performance cardíaca, hipercolesterolemia, entre outros. Sendo assim, o emprego de apenas um medicamento para combate à hipertensão limita a possibilidade de sucesso da terapêutica. (GRADMAN et al., 2010).

Dessa forma, a terapia combinada (Figura 5) é uma estratégia que consiste na coadministração de dois ou mais fármacos, escolhidos com o devido critério, visando um poder terapêutico maior do que aquele encontrado quando se usa apenas um ativo para o tratamento (monoterapia). A base para o sucesso de uma terapia combinada se resume na sua eficácia, na tolerabilidade entre os fármacos (ausência de incompatibilidade química) e na aderência do paciente ao tratamento (GRADMAN et al., 2010).

Figura 5 – Requisitos para o sucesso de uma terapia combinada

Fármacos anti-hipertensivos usados em terapia combinada geralmente são de classes complementares, ou seja, atuam contra diferentes causas de hipertensão. Uma meta-análise feita por WALD e colaboradores (2009), a partir de 42 trabalhos publicados na literatura, demonstrou que a terapia combinada (envolvendo, por exemplo, associações de bloqueador de canal de cálcio administrado com inibidor da enzima conversora de angiotensina) possui eficácia cinco vezes maior do que a alcançada dobrando-se a dose de um dos componentes na monoterapia.

Atualmente os fármacos usados em terapia combinada são formulados em SPCs (*single-pill combinations*), que nada mais são do que formas farmacêuticas

que contém todos os princípios ativos necessários para o tratamento. Além de aumentar a segurança e eficácia, o uso dessas formulações (comprimidos ou cápsulas) representa uma queda no custo financeiro para o paciente, aumentando, assim, sua adesão ao tratamento (HUSSEIN et al., 2010; BURNIER et al., 2009).

Apesar de o anlodipino ter uma importante função no controle da pressão arterial, ele raramente é administrado de forma isolada em um tratamento contra hipertensão. Dessa forma, o BCC quase sempre é recomendado em concomitância com anti-hipertensivos de outra classe, como, por exemplo, beta-bloqueadores, diuréticos, hipocolesterolêmicos, e fármacos que atuam no sistema renina-angiotensina-aldosterona, na forma de comprimidos separados ou SPCs.

A Tabela 2 apresenta algumas dos principais estudos clínicos encontrados na literatura, envolvendo associações medicamentosas contendo anlodipino.

Tabela 2 - Fármaco usados juntamente com anlodipino em terapias combinadas para o tratamento da hipertensão

	Fármaco	Forma administrada	Tipo de estudo	Principais efeitos da associação	Referência
1	Olmesartana	SPC	Comparação terapia combinada / placebo	66,7% dos pacientes tiveram significativa redução na pressão arterial	(CHRY SANT et al., 2009)
	Telmisartana	Comprimidos separados	Comparação de terapias combinadas	Diminuição média da pressão sistólica em 4,8 mmHg, o que não foi alcançado nos outros tratamentos	(BEKKI et al., 2010)
	Valsartana	Comprimidos separados	Comparação terapia combinada / monoterapia	Diminuição do risco de hipertensão em jovens e idosos	(ALLEMANN et al., 2008; SMITH et al., 2007)
2	Alisquireno	N.E. (Não especificado)	Comparação terapia combinada / monoterapia	Diminuição média de 34,1 mmHg na pressão sistólica em 57% dos pacientes (contra 28,9 mmHg em 48% dos submetidos à monoterapia)	(BLACK et al., 2011)
3	Benazepril	SPC	Comparação de terapias combinadas	Diminuição do o risco de infarto em 20% comparado com benazepril/hidroclorotiazida	(JAMERSON et al., 2008)
		SPC	Comparação terapia combinada / monoterapia	Maior eficiência na redução da pressão arterial em relação à monoterapia com anlodipino	(IZZO et al., 2010)
	Enalapril	Comprimidos separados	Comparação terapia combinada / monoterapia	Pressão sistólica arterial adequada em 65,8% dos pacesintes (7% a mais do que a porcentagem dos submetidos à monoterapia); redução de albuminúria	(HALIMI et al., 2007)

Tabela 2 - Fármacos usados em associação com anlodipino em terapias combinadas para o tratamento da hipertensão - continuação

	Fármaco	Forma administrada	Tipo de estudo	Principais efeitos da associação	Referência
3	Perindopril	N.E.	Comparação de terapias combinadas	Diminuição da pressão arterial e não ocorrência de eventos adversos, quando comparados com associação atenolol / tiazidas	(POULTER, 2011)
	Ramipril	N.E.	Comparação terapia combinada / monoterapia	Associação foi a melhor alternativa de tratamento da hipertensão em 7 dos 8 centros clínicos estudados	(MIRANDA et al., 2008)
4	Atenolol	Comprimidos separados	Comparação terapia combinada / monoterapia	Isquemia miocárdica reduziu em 72% dos pacientes (contra 57% dos submetidos à monoterapia com atenolol)	(DAVIES et al., 1995)
	Metoprolol	SPC	Comparação de terapias combinadas	Associação apresentou as mesmas vantagens do uso de inibidor do receptor de angiotensina II com BCC	(PAREEK et al., 2010)
5	Hidrocloro-tiazida	SPC	Comparação de terapias combinadas	Em conjunto com inibidor de receptor de angiotensina, a associação reduz significativamente os níveis de pressão arterial nos pacientes	(CHRY SANT et al., 2012; DEEKS, 2011; CALHOUN et al., 2009)
6	Atorvastatina	SPC (Caduet®); comprimidos separados	Comparação terapia combinada / monoterapia	Considerável redução na pressão arterial e nos níveis de colesterol e LDL**	(OLIVER et al., 2011; CURRAN, 2010; HUSSEIN et al., 2010)

Classes dos fármacos associados com anlodipino: 1 – Antagonistas de receptores de angiotensina II; 2 – Inibidor de renina; 3 – Inibidores da enzima conversora de angiotensina; 4 – β -bloqueadores; 5 – Diurético; 6 – Hipocolesterolêmico.

*SPC $\rightarrow$ single-pill combination; **LDL $\rightarrow$ low-density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade).

A revisão das terapias combinadas envolvendo anlodipino permite inferir que o fármaco é comumente associado com antagonistas do receptor de angiotensina II, inibidores de renina e da enzima conversora de angiotensina, agindo de forma destacada no sistema renina-angiotensina-aldosterona. Com efeito, esse sistema desempenha um papel fundamental no equilíbrio cardiovascular, e uma eventual hiperatividade pode levar o indivíduo ao estado hipertenso (WEIR & DZAU, 1999).

Inibidores de renina (IR), representado especialmente pelo fármaco alisquireno, desativam a enzima responsável pela conversão de angiotensinogênio a angiotensina I, quebrando, assim, a cascata de formação do agente vasoconstritor angiotensina II. Por outro lado, inibidores da enzima conversora de angiotensina, (iECA) como benazepril e enalapril, impedem o funcionamento da proteína que transforma a angiotensina I em angiotensina II, o que evita a formação do substrato para os receptores AT₁ dos vasos sanguíneos. Já os antagonistas do receptor de angiotensina II (ARA), tais quais valsartana e olmesartana, são fármacos que competem com o substrato pelo referido sítio receptor no endotélio vascular (JACKSON & GARRISON, 2011).

Embora esses fármacos possuam reconhecida atividade contra os mecanismos da hipertensão, a associação com anlodipino se apresenta como uma interessante vantagem do ponto de vista farmacológico, uma vez que a eficácia na redução da pressão arterial é potencializada pela sinergia entre a regulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e o bloqueio dos canais de cálcio nas células endoteliais vasculares. Algumas associações, além de mostrarem boa tolerabilidade, se destacaram pela diminuição dos eventos adversos, com ênfase para a redução do quadro de edema periférico causado pela administração isolada do anlodipino (BLACK et al., 2011; ALLEMANN et al., 2008; JAMERSON et al., 2008; SMITH et al., 2007).

Adicionalmente, o anlodipino também pode ser empregado em terapia combinada com β -bloqueadores, que são fármacos capazes de exercer efeito antagonista sobre os receptores β de noradrenalina presentes no tecido miocárdico. Além da ação sinérgica que resulta em sucesso maior no tratamento, a associação apresenta uma grande vantagem em relação aos BCC não diidropiridínicos (como

diltiazem e verapamil), que, quando administrado com fármacos como enalapril, resultam em efeitos adversos bem acentuados, como intensa bradicardia e aumento do risco de parada cardíaca (GRADMAN et al., 2010).

O emprego de associações envolvendo apenas anlodipino e diuréticos, como a hidroclorotiazida, não traz nenhuma ganho em comparação com a monoterapia envolvendo algum dos dois fármacos. No entanto, a combinação tripla anlodipino / ARA / hidroclorotiazida (Exforge – HCT) se constitui como uma excelente alternativa, o que é evidenciado por trabalhos recentes que mostram um efeito hipotensivo mais satisfatório do que o apresentado pela combinação anlodipino / ARA (CHRY SANT et al., 2012; DEEKS, 2011; CALHOUN et al., 2009).

Dentre os hipocolesterolêmicos, a atorvastatina é, de longe, a principal molécula associada ao anlodipino para o tratamento de hipertensão vinculada ao aumento de colesterol e da lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein - LDL*). No mercado farmacêutico americano, a associação é regulamentada pela agência de saúde local (FDA) e vendida na forma de SPC, sob o nome Caduet® (Pfizer, Inc.). Com efeito, diversos estudos clínicos têm sido publicados no sentido de ressaltar a vantagem dessa terapia combinada com relação à eficácia, tolerabilidade e adesão do paciente, em comparação ao emprego dos dois fármacos isoladamente. De forma semelhante ao que foi visto na combinação anlodipino / ARA, o uso de atorvastatina junto com o bloqueador de canal de cálcio mostra boa tolerabilidade e diminuição da ocorrência de efeitos adversos (OLIVER et al., 2011; CURRAN, 2010; HUSSEIN et al., 2010).

Alguns trabalhos mais recentes, desenvolvidos em escala laboratorial, demonstram uma promissora eficácia da associação anlodipino / atorvastatina na prevenção da isquemia cerebral (doença caracterizada pela redução do fluxo sanguíneo no cérebro). Em comparação com a monoterapia, a combinação resultou em menor volume de infarto e redução do stress oxidativo no tecido nervoso de ratos tipo Zucker (KAWAI et al., 2011). No entanto, nenhum estudo clínico em humanos foi apresentado para fundamentar essa propriedade neuroprotetora da associação.

2.6. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

A literatura apresenta vários registros acerca da determinação e quantificação do anlodipino isolado ou em associação com outros fármacos, utilizando diversas técnicas, sendo as mais comuns a espectrofotometria no ultravioleta (UV), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e eletroforese capilar (EC). A primeira técnica se caracteriza por ser mais simples, devido à rapidez e ao baixo custo de análise, enquanto as outras três são mais demoradas e exigem maior volume de tempo e dinheiro, de acordo com o método a ser trabalhado. Por outro lado, CLAE, CCDAE e EC permitem uma determinação e quantificação mais precisa e exata, e são, na maioria das vezes, capazes de identificar o composto de interesse em meios mais complexos, como, por exemplo, fluidos biológicos.

Atualmente, técnicas modernas, como cromatografia líquida ultra-eficiente (CLUE) e CLAE acoplado a espectrômetro de massa (CLAE -EM) tem sido utilizadas. A Tabela 3 mostra alguns dos mais recentes métodos empregados para análise de anlodipino.

Tabela 3 – Métodos de determinação e quantificação envolvendo anlodipino

Amostra	Método	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
	eletroforese capilar	Capilar de sílica 57 cm x 5µm	Tampão citrato: metanol (80:20 v/v), pH 7,0	(JANKOVICS et al., 2008)
Anlodipino em comprimidos	Fluorescência	***	***	(ABDEL-WADOOD et al., 2008)
	UV	***	***	(RAHMAN & HODA, 2003)
	UV - Visível	***	***	(LAKSHMI ASWINI et al., 2012)

Tabela 3 – Métodos de determinação e quantificação envolvendo anlodipino (continuação)

Amostra	Método	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
Anlodipino (enantiômeros)	eletroforese capilar	Capilar de sílica (Ohiolumex) 57 cm x 5µm	Tampão fosfato 100 mM: solução de HP-α- CD (*) 5mM	(NOJAVAN & FAKHARI, 2010)
Anlodipino em soro ou plasma humano	CLAE - fluorescência	Shimpack C18, 5µm	Tampão fosfato: trietilamina: metanol (pH 2,5) - gradiente	(BAHRAMI & MIRZAEI, 2004)
	CLAE - EM	Zorbax 300 SB C18, 5µm	Água: acetonitrila (gradiente)	(MIROSHNICHENKO et al., 2008)
	CLAE - UV	Nucleosil C8, 4µm	Tampão fosfato: acetonitrila (63:37 v/v)	(ZARGHI et al., 2005)
Anlodipino e atenolol (associação em comprimido)	CCDAE	Sílica gel 60 F 254	Cloreto de Metileno: metanol: solução de amônia (8,8:1,3:0,1 v/v)	(ARGEKAR & POWAR, 2000)
Anlodipino e atorvastatina (associação em comprimido)	CLAE - UV	RP-C18, 5µm	Metanol: tampão fosfato: acetonitrila (60:30:10 v/v)	(SHAH et al., 2008)
	UV	***	***	(DARWISH et al., 2011)
	CLAE - EM/EM	Eclipse XDB C18, 3,5 µm	ácido fórmico 0,1%: Acetonitrila (gradiente)	(YU et al., 2011)
	eletroforese capilar	Sílica capilar fundida (50cm x 75µm)	Tampão fosfato: metanol (80:20 v/v), pH 6,5	(HEFNAWY et al., 2009)

Tabela 3 – Métodos de determinação e quantificação envolvendo anlodipino (continuação)

Amostra	Método	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
Anlodipino, atorvastatina, benazepril e ramipril	CLAE - EM/EM	Zorbax SB C18, 5µm	Ácido fórmico 0,1% : Acetonitrila (15:85 v/v)	(PILLI et al., 2011)
Anlodipino e benazepril (associação em comprimido)	CLAE - UV	Zorbax RP C18, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila (65:35 v/v)	(NAIDU et al., 2005)
	CLUE - UV	Acquity UPLC C8, 1,7 µm	Tampão fosfato: metanol: acetonitrila (45:27,5:27,5 v/v)	(NAIDU et al., 2005)
Anlodipino, Hidroclorotiazida e Losartana	UV-Visível, Método Quimiométrico	***	***	(NAGAVALLI et al., 2010)
	CLAE - UV, Esp. UV	Kromasil C18	Tampão fosfato: acetonitrila (57:43), pH 3,7	(WANKHEDE et al., 2010)
Anlodipino, Hidroclorotiazida e Telmisartana	CLUE - UV	Acquity UPLC RP-18, 1,7 µm	Mistura de Fase móvel A e B (**)	(NALWADE et al., 2011)
Anlodipino, Hidroclorotiazida e Valsartana (associação em comprimidos)	CLAE - UV	Luna C18, 5µm	Metanol: tampão fosfato (68:32 v/v) pH 5,5	(VIGNADUZZO et al., 2011)
	CLAE - UV; CCDAE	Luna C18, 5µm; Silica Gel 60 F254	Tampão acetato: metanol (gradiente); Clorofórmio: ácido acético glacial: acetato de n-butila (8:4:2)	(VARGHESE & RAVI, 2011)
	CLAE - DAD	Zorbax SB C8, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila (gradiente)	(SHAALAN & BELAL, 2012)

Tabela 3 – Métodos de determinação e quantificação envolvendo anlodipino (continuação)

Amostra	Método	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
Anlodipino e Metoprolol	CLAE - EM	Perless C18, 5µm	Metanol: água com 0,5% ácido fórmico (80:20 v/v)	(SARKAR et al., 2008)
	CLAE - UV	Hyperlsil Cyano 5µm	Tampão aquoso: acetonitrila (85:15 v/v)	(DONGRE et al., 2008)
Anlodipino e Nevibolol	CLAE - DAD	Hyperlsil Cyano e Zorbax Cyano, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila: metanol (45:45:10 v/v), pH 6,0	(JOSHI et al., 2009)
Anlodipino e Olmersatana	CLAE - UV CCDAE	ODS 3 C18, 5µm; Silica Gel 60 F 254	Acetonitrila: Tampão acetato (55:45 v/v) pH 3; n-butanol, ácido acético e água (5:1:0,1 v/v)	(KAMBLE et al., 2010)
	CLAE-UV	Teknocroma C18, 5µm	Acetato de amônio: acetonitrila (40:60 v/v)	(QUTAB et al., 2009)
Anlodipino e perindopril (associação em comprimido)	CLAE - UV fase reversa	Eclipse XDB C8, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila (65:35 v/v) pH 2,6	(PRAJAPATI et al., 2011)
Anlodipino e Ramipril	CLAE - UV fase reversa	BDS C18, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila (45:55 v/v) pH 6,5	(ANAND BABU et al., 2011)

Tabela 3 – Métodos de determinação e quantificação envolvendo anlodipino (continuação)

Amostra	Método	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
Anlodipino e Valsartana (associação em comprimidos)	CCDAE	Sílica Gel 60 F 254	Tolueno: metanol: ácido acético (7:3:1 v/v)	(DHANESHWAR et al., 2008)
	CLAE - fluorescência	Phenomenex Hypersil phenyl 120 A, 5µm	Tampão fosfato: acetonitrila: metanol (60:30:10 v/v), pH 4,0	(KHALIL et al., 2011)
	CLAE - UV	ODS C18, 10 µm	Tampão fosfato: acetonitrila: metanol (46:44:10 v/v), pH 3,6	(ÇELEBIERI et al., 2010)
	Fluorescência	***	***	(SHAALAN & BELAL, 2010)

(*) HP- α -CD = hidroxipropil α -ciclodextrina

(**) Fase A = Tampão perclorato de sódio: acetonitrila (90:10 v/v); Fase B = tampão perclorato de sódio: acetonitrila (20:80 v/v)

Assim, nota-se que o anlodipino é facilmente detectado e quantificado tanto em fluidos biológicos (soro e plasma sanguíneos) quanto nas formas farmacêuticas em que ele se apresenta, independentemente se estiver isolado ou em associação com outros ativos. Para tanto, são empregados equipamentos e condições de análise muito conhecidos.

No caso da CLAE, a maioria das metodologias utiliza uma simples coluna C18 com 5µm de tamanho de partícula, e fase móvel composta por um tampão salino (fosfato ou citrato, com pH definido) e solvente orgânico (acetonitrila ou metanol). Por outro lado, na CCDAE, usa-se uma placa de sílica gel 60 F 254 e fase líquida que consiste em uma grande parcela de solvente orgânico misturado com uma pequena quantidade de meio aquoso. Já na EC, o tradicional capilar de sílica é a fase estacionária de escolha, variando-se apenas a composição da fase móvel, que

pode ser predominantemente polar ou apolar, de acordo com o objetivo do método proposto.

Por fim, o uso de espectrofotometria no UV e fluorescência não requerem instrumentação e materiais complexos, o que possibilita a análise rápida e eficiente do fármaco. Os artigos apresentados destacam o fato de o ensaio poder substituir a técnica cromatográfica, sobretudo em casos em que o objeto de análise é somente a forma farmacêutica.

3. CONCLUSÃO

Tendo em vista a crescente necessidade de terapias para o controle de doenças cardiovasculares, o anlodipino demonstra ser um fármaco de escolha para o tratamento da hipertensão. Em comparação com outros bloqueadores de canais de cálcio, possui propriedades farmacológicas e farmacocinéticas melhoradas. Não possui efeitos adversos graves e sua eficácia é comprovada por uma real diminuição da pressão arterial em pacientes cardiopatas.

Quando associado com outros fármacos (como moduladores do sistema renina-angiotensina-aldosterona, diuréticos e hicolesterolêmicos), os efeitos anti-hipertensivos são acentuados. Além disso, verifica-se diminuição dos eventos adversos associados ao medicamento e consequente aumento da adesão do paciente à terapia combinada, sobretudo quando a forma farmacêutica de escolha são as SPCs.

Por fim, os métodos de determinação e quantificação do anlodipino isolado ou na presença de outros ativos são relativamente simples, o que possibilita um amplo estudo da estabilidade, dissolução e farmacocinética do ativo.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-WADOOD, H.M.; MOHAMED, N.A.; MAHMOUD, A.M. Validated spectrofluorometric methods for determination of amlodipine besylate in tablets. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v.70, n.3, p.564-570. 2008.
- ACOSTA, A.A.; SAMUELS, J.A.; PORTMAN, R.J.; REDWINE, K.M. Prevalence of persistent prehypertension in adolescents. **Journal of Pediatrics**. v.160, n.5, p.757-761. 2012
- ALLEMANN, Y.; FRAILE, B.; LAMBERT, M.; BARBIER, M.; FERBER, P.; IZZO, J.L., JR. Efficacy of the combination of amlodipine and valsartan in patients with hypertension uncontrolled with previous monotherapy: the Exforge in Failure after Single Therapy (EX-FAST) study. **Journal of Clinical Hypertension**. v.10, n.3, p.185-194. 2008.
- ANAND BABU, K.; VINOTH KUMAR, G.; SIVASUBRAMANIAN, L. Simultaneous estimation of Ramipril And Amlodipine in pharmaceutical dosage form by RP-HPLC method. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.3, n.4, p.196-198. 2011.
- ANEKONDA, T.S.; QUINN, J.F. Calcium channel blocking as a therapeutic strategy for Alzheimer's disease: The case for isradipine. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**. v.1812, n.12, p.1584-1590. 2011.
- ARAIE, M.; MAYAMA, C. Use of calcium channel blockers for glaucoma. **Progress in Retinal and Eye Research**. v.30, n.1, p.54-71. 2011.
- ARGEKAR, A.P.; POWAR, S.G. Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.21, n.6, p.1137-1142. 2000.
- AUSTIN, R.P.; BARTON, P.; DAVIS, A.M.; FESSEY, R.E.; WENLOCK, M.C. The thermodynamics of the partitioning of ionizing molecules between aqueous buffers and phospholipid membranes. **Pharmaceutical Research**. v.22, n.10, p.1649-57. 2005.
- BAHRAMI, G.; MIRZAEI, S. Simple and rapid HPLC method for determination of amlodipine in human serum with fluorescence detection and its use in pharmacokinetic studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.36, n.1, p.163-168. 2004.
- BEKKI, H.; YAMAMOTO, K.; SONE, M.; HOMMA, T.; NAKATA, M.; NOHARA, M.; FUKAMI, K.; OKUDA, S.; YAMAGISHI, S. Efficacy of combination therapy with telmisartan plus amlodipine in patients with poorly controlled hypertension. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v.3, n.5, p.342-346. 2010.

BENSON, B.E.; SPYKER, D.A.; TROUTMAN, W.G.; WATSON, W.A.; BAKHIREVA, L.N. Amlodipine toxicity in children less than 6 years of age: A dose-response analysis using national poison data system data. **The Journal of Emergency Medicine**. v.39, n.2, p.186-193. 2010.

BERRIDGE, M.J.; LIPP, P.; BOOTMAN, M.D. The versatility and universality of calcium signalling. **Nature Reviews on Molecular Cell Biology**. v.1, n.1, p.11-21. 2000.

BLACK, H.R.; WEINBERGER, M.H.; PURKAYASTHA, D.; LEE, J.; SRIDHARAN, K.; ISRAEL, M.; HILKERT, R.; IZZO, J. Comparative efficacy and safety of combination aliskiren/amlodipine and amlodipine monotherapy in African Americans with stage 2 hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**. v.13, n.8, p.571-581. 2011.

BRASIL. **Saúde Brasil 2008: 20 anos do Sistema Único de Saúde no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde. 2009. 416 p.

BURNIER, M.; BROWN, R.E.; ONG, S.H.; KESKINASLAN, A.; KHAN, Z.M. Issues in blood pressure control and the potential role of single-pill combination therapies. **International Journal of Clinical Practice**. v.63, n.5, p.790-798. 2009.

CALHOUN, D.A.; CRIKELAIR, N.A.; YEN, J.; GLAZER, R.D. Amlodipine/valsartan/hydrochlorothiazide triple combination therapy in moderate/severe hypertension: Secondary analyses evaluating efficacy and safety. **Advances in therapy**. v.26, n.11, p.1012-1023. 2009.

CARRETERO, O.A.; OPARIL, S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. **Circulation**. v.101, n.3, p.329-35. 2000.

ÇELEBIERI, M.; KAYNAK, M.S.; ALTINÖZİ, S.; SAHINII, S. HPLC method development for the simultaneous analysis of amlodipine and valsartan in combined dosage forms and in vitro dissolution studies. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.46, n.4, p.761-768. 2010.

CHRY SANT, S.G.; IZZO, J.L., JR.; KEREIAKES, D.J.; LITTLEJOHN, T., 3RD; OPARIL, S.; MELINO, M.; LEE, J.; FERNANDEZ, V.; HEYRMAN, R. Efficacy and safety of triple-combination therapy with olmesartan, amlodipine, and hydrochlorothiazide in study participants with hypertension and diabetes: a subpopulation analysis of the TRINITY study. **Journal of the American Society of Hypertension**. v.6, n.2, p.132-141. 2012.

CHRY SANT, S.G.; OPARIL, S.; MELINO, M.; KARKI, S.; LEE, J.; HEYRMAN, R. Efficacy and safety of long-term treatment with the combination of amlodipine besylate and olmesartan medoxomil in patients with hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**. v.11, n.9, p.475-482. 2009.

CURRAN, M.P. Amlodipine/Atorvastatin: a review of its use in the treatment of hypertension and dyslipidaemia and the prevention of cardiovascular disease. **Drugs**. v.70, n.2, p.191-213. 2010.

DARWISH, H.W.; HASSAN, S.A.; SALEM, M.Y.; EL-ZEINY, B.A. Three different spectrophotometric methods manipulating ratio spectra for determination of binary mixture of Amlodipine and Atorvastatin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v.83, n.1, p.140-148. 2011.

DAVIES, R.F.; HABIBI, H.; KLINKE, W.P.; DESSAIN, P.; NADEAU, C.; PHANEUF, D.C.; LEPAGE, S.; RAMAN, S.; HERBERT, M.; FORIS, K.; LINDEN, W.; BUTTARS, J.A. Effect of amlodipine, atenolol and their combination on myocardial ischemia during treadmill exercise and ambulatory monitoring. **Journal of the American College of Cardiology**. v.25, n.3, p.619-625. 1995.

DEEKS, E.D. Olmesartan medoxomil / amlodipine / hydrochlorothiazide: fixed-dose combination in hypertension. **Drugs**. v.71, n.2, p.209-220. 2011.

DESTRO, M.; LUCKOW, A.; SAMSON, M.; KANDRA, A.; BRUNEL, P. Efficacy and safety of amlodipine/valsartan compared with amlodipine monotherapy in patients with stage 2 hypertension: a randomized, double-blind, multicenter study: the EX-EFFeCTS Study. **Journal of American Society of Hypertension**. v.2, n.4, p.294-302. 2008.

DHANESHWAR, S.R.; PATRE, N.G.; MAHADIK, M.V. Validated TLC method for simultaneous quantitation of amlodipine besylate and valsartan in bulk drug and formulation. **Chromatographia**. v.69, n.1-2, p.157-161. 2008.

DONGRE, V.G.; SHAHA, S.B.; KARMUSEA, P.P.; PHADKEB, M.; JADHAVB, V.K. Simultaneous determination of metoprolol succinate and amlodipine besylate in pharmaceutical dosage form by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.46, n.3, p.583-586. 2008.

EDRAKI, N.; MEHDIPOUR, A.R.; KHOSHNEVISZADEH, M.; MIRI, R. Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. **Drug Discovery Today**. v.14, n.21-22, p.1058-1066. 2009.

ELLIOTT, W.J.; RAM, C.V.S. Calcium channel blockers **The Journal of Clinical Hypertension**. v.13, n.9, p.687-689. 2011.

EPSTEIN, M. Role of a third generation calcium antagonist in the management of hypertension. **Drugs**. v.57 Suppl 1, p.1-10. 1999.

EZIDIEGWU, C.; SPEKTOR, Z.; NASR, M.R.; KELLY, K.C.; ROSALES, L.G. A case report on the role of plasma exchange in the management of a massive amlodipine besylate intoxication. **Therapeutic Apheresis and Dialysis**. v.12, n.2, p.180-184. 2008.

FALKNER, B.; GIDDING, S.S.; PORTMAN, R.; ROSNER, B. Blood pressure variability and classification of prehypertension and hypertension in adolescence. **Pediatrics**. v.122, n.2, p.238-242. 2008.

FASANI, E.; ALBINI, A.; GEMME, S. Mechanism of the photochemical degradation of amlodipine. **International Journal of Pharmaceutics**. v.352, n.1-2, p.197-201. 2008.

FAULKNER, J.K.; MCGIBNEY, D.; CHASSEAUD, L.F.; PERRY, J.L.; TAYLOR, I.W. The pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers after single intravenous and oral doses and after 14 repeated oral doses given once daily. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v.22, n.1, p.21-25. 1986.

FLACK, J.M.; CALHOUN, D.A.; SATLIN, L.; BARBIER, M.; HILKERT, R.; BRUNEL, P. Efficacy and safety of initial combination therapy with amlodipine/valsartan compared with amlodipine monotherapy in black patients with stage 2 hypertension: the EX-STAND study. **Journal of Human Hypertension**. v.23, n.7, p.479-489. 2009.

FLYNN, J.T.; NAHATA, M.C.; MAHAN, J.D., JR.; PORTMAN, R.J. Population pharmacokinetics of amlodipine in hypertensive children and adolescents. **Journal of Clinical Pharmacology**. v.46, n.8, p.905-916. 2006.

FREEDMAN, D.D.; WATERS, D.D. 'Second generation' dihydropyridine calcium antagonists. Greater vascular selectivity and some unique applications. **Drugs**. v.34, n.5, p.578-598. 1987.

GRADMAN, A.H.; BASILE, J.N.; CARTER, B.L.; BAKRIS, G.L. Combination therapy in hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**. v.4, n.1, p.42-50. 2010.

HALIMI, J.M.; GIRAudeau, B.; BUCHLER, M.; AL-NAJJAR, A.; ETIENNE, I.; LAOUAD, I.; BRUYERE, F.; LEBRANCHU, Y. Enalapril/amlodipine combination in cyclosporine-treated renal transplant recipients: a prospective randomized trial. **Clinical Transplantation**. v.21, n.2, p.277-284. 2007.

HEFNAWY, M.M.; SULTAN, M.; AL-JOHAR, H. Development of capillary electrophoresis technique for simultaneous measurement of amlodipine and atorvastatin from their combination drug formulations. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. v.32, n.20, p.2923-2942. 2009.

HUSSEIN, M.A.; CHAPMAN, R.H.; BENNER, J.S.; TANG, S.S.K.; SOLOMON, H.A.; JOYCE, A.; FOODY, J.M. Does a single-pill antihypertensive / lipid-lowering regimen improve adherence in US managed care enrollees?: A non-randomized, observational, retrospective study. **American Journal of Cardiovascular Drugs**. v.10, n.3, p.193-202. 2010.

ISKEDJIAN, M.; WALKER, J.H.; DESJARDINS, O.; ROBIN, A.L.; COVERT, D.W.; BERGAMINI, M.V.; EINARSON, T.R. Effect of selected antihypertensives, antidiabetics, statins and diuretics on adjunctive medical treatment of glaucoma: a population based study. **Current Medical Research and Opinion**. v.25, n.8, p.1879-1888. 2009.

IZZO, J.L., JR.; PURKAYASTHA, D.; HALL, D.; HILKERT, R.J. Comparative efficacy and safety of amlodipine/benazepril combination therapy and amlodipine monotherapy in severe hypertension. **Journal of Human Hypertension**. v.24, n.6, p.403-409. 2010.

JACKSON, E.K.; GARRISON, J.C. Renin and Angiotensin. In: BRUNTON, L.L., CHABNER, B.A. e KNOLLMANN, B.C. (Ed.). **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York: McGraw-Hill Medical, 2011

JAMERSON, K.; WEBER, M.A.; BAKRIS, G.L.; DAHLOF, B.; PITT, B.; SHI, V.; HESTER, A.; GUPTA, J.; GATLIN, M.; VELAZQUEZ, E.J. Benazepril plus amlodipine or hydrochlorothiazide for hypertension in high-risk patients. **The New England Journal of Medicine**. v.359, n.23, p.2417-2428. 2008.

JANKOVICS, P.; NÉMETH, T.; NÉMETH-PALOTÁS, J.; KŐSZEGI-SZALAI, H. Amlodipine besilate screening in pharmaceutical preparations by CE. **Chromatographia**. v.68, n.Sup.1, p.43-48. 2008.

JOSHI, S.J.; KARBHARI, P.A.; BHOIR, S.I. RP-LC simultaneous determination of nebivolol hydrochloride and amlodipine besilate in bi-layer tablets. **Chromatographia**. v.70, n.3-4, p.557-591. 2009.

KAMBLE, A.Y.; MAHADIK, M.V.; KHATAL, L.D.; DHANESHWAR, S.R. Validated HPLC and HPTLC method for simultaneous quantitation of amlodipine besylate and olmesartan medoxomil in bulk drug and formulation. **Analytical Letters**. v.43, n.2, p.251-258. 2010.

KATOH, M.; NAKAJIMA, M.; SHIMADA, N.; YAMAZAKI, H.; YOKOI, T. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by 1,4-dihydropyridine calcium antagonists: prediction of in vivo drug-drug interactions. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v.55, n.11-12, p.843-852. 2000.

KAWAI, H.; DEGUCHI, S.; DEGUCHI, K.; YAMASHITA, T.; OHTA, Y.; SHANG, J.; TIAN, F.; ZHANG, X.; LIU, N.; LIU, W.; IKEDA, Y.; MATSUURA, T.; ABE, K. Synergistic benefit of combined amlodipine plus atorvastatin on neuronal damage after stroke in Zucker metabolic rat. **Brain Research**. v.1368, p.317-323. 2011.

KHALIL, N.Y.; WANI, T.A.; ABUNASSIF, M.A.; DARWISH, I.A. Sensitive HPLC method with fluorescence detection and on-line wavelength switching for simultaneous determination of valsartan and amlodipine in human plasma. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v.34, n.20, p.2583-2595. 2011.

KHANDELWAL, A.; BAHADDURI, P.M.; CHANG, C.; POLLI, J.E.; SWAAN, P.W.; EKINS, S. Computational models to assign biopharmaceutics drug disposition classification from molecular structure. **Pharmaceutical Research**. v.24, n.12, p.2249-2262. 2007.

KIM, K.A.; PARK, P.W.; PARK, J.Y. Effect of cytochrome P450 3A5*3 genotype on the stereoselective pharmacokinetics of amlodipine in healthy subjects. **Chirality**. v.21, n.5, p.485-491. 2009.

KORADIA, V.; LOPEZ DE DIEGO, H.; RINGKJØBING-ELEMA, M.; MÜLLERTZ, A.; BOND, A.D.; RANTANEN, J. Solid forms of amlodipine besylate: physicochemical, structural, and thermodynamic characterization. **Crystal Growth and Design**. v.10, n.12, p.5279-5290. 2010.

KOROLKOVAS, A. FRANÇA, F.F.A.C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2009

KUTE, V.B.; SHAH, P.R.; GOPLANI, K.R.; GUMBER, M.R.; VANIKAR, A.V.; TRIVEDI, H.L. Successful treatment of refractory hypotension, noncardiogenic pulmonary edema and acute kidney injury after an overdose of amlodipine. **Indian Journal of Critical Care Medicine**. v.15, n.3, p.182-184. 2011.

LAKSHMI ASWINI, G.; DHACHINAMOORTHY, D.; SESHAGIRI RAO, J.V.L.N.; PRASADA RAO, C.H.; SUREKHA, M.L. Visible spectrophotometric determination of amlodipine besylate in bulk drug and tablet dosage form. **Research Journal of Pharmacy and Technology**. v.4, n.9, p.1432-1435. 2012.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.58, n.2, p.265-278. 2004.

LIU, Y.; JIA, J.; LIU, G.; LI, S.; LU, C.; LIU, Y.; YU, C. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of two formulations of 10-mg amlodipine besylate: an open-label, single-dose, randomized, two-way crossover study in healthy Chinese male volunteers. **Clinical Therapeutics**. v.31, n.4, p.777-783. 2009.

LUSCHER, T.F.; PIEPER, M.; TENDERA, M.; VROLIX, M.; RUTSCH, W.; VAN DEN BRANDEN, F.; GIL, R.; BISCHOFF, K.O.; HAUDE, M.; FISCHER, D.; MEINERTZ, T.; MUNZEL, T. A randomized placebo-controlled study on the effect of nifedipine on coronary endothelial function and plaque formation in patients with coronary artery disease: the ENCORE II study. **European Heart Journal**. v.30, n.13, p.1590-1597. 2009.

MADDI, S.; YAMSANI, M.R.; SEELING, A.; SCRIBA, G.K. Stereoselective plasma protein binding of amlodipine. **Chirality**. v.22, n.2, p.262-266. 2010.

MALESUIK, M.D.; CARDOSO, S.G.; LANZANOVA, F.A.; BAJERSKI, L.; DORIGONI, E. Development of dissolution test and comparative study of tablets and compounded capsules containing amlodipine. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.27, n.1, p.37-49. 2006.

MASON, R.P.; CAMPBELL, S.F.; WANG, S.D.; HERBETTE, L.G. Comparison of location and binding for the positively charged 1,4-dihydropyridine calcium channel

antagonist amlodipine with uncharged drugs of this class in cardiac membranes. **Molecular Pharmacology**. v.36, n.4, p.634-640. 1989.

MCNIECE, K.L.; POFFENBARGER, T.S.; TURNER, J.L.; FRANCO, K.D.; SOROF, J.M.; PORTMAN, R.J. Prevalence of hypertension and pre-hypertension among adolescents. **Journal of Pediatrics**. v.150, n.6, p.640-644. 2007.

MESSERLI, F.H.; WILLIAMS, B.; RITZ, E. Essential hypertension. **The Lancet**. v.370, n.9587, p.591-603. 2007.

MIRANDA, R.D.; JR, D.M.; ROCHA, J.C.; JR, O.K.; GOMES, M.A.M.; SARAIVA, J.F.K.; AMODEO, C.; FILHO, B.L. An 18-week, prospective, randomized, double-blind, multicenter study of amlodipine/ramipril combination versus amlodipine monotherapy in the treatment of hypertension: The assessment of combination therapy of amlodipine/ramipril (ATAR) study. **Clinical Therapeutics**. v.30, n.9, p.1618-1628. 2008.

MIROSHNICHENKO, I.I.; LELISHENTSEV, A.A.; KALMYKOV, Y.A.; FEDOTOV, Y.A.; IVASHCHENKO, A.A. Determining amlodipine in blood plasma by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Pharmaceutical Chemistry Journal**. v.42, n.8, p.493-495. 2008.

NAGAVALLI, D.; VAIDHYALINGAM, V.; SANTHA, A.; SANKAR, A.S.; DIVYA, O. Simultaneous spectrophotometric determination of losartan potassium, amlodipine besilate and hydrochlorothiazide in pharmaceuticals by chemometric methods. **Acta Pharmaceutica**. v.60, n.2, p.141-152. 2010.

NAIDU, K.R.; KALE, U.N.; SHINGARE, M.S. Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of amlodipine and benazepril hydrochloride from their combination drug product. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.39, n.1-2, p.147-155. 2005.

NALWADE, S.; RANGA REDDY, V.; DURGA RAO, D.; KOTESWARA RAO, I. Rapid simultaneous determination of telmisartan, amlodipine besylate and hydrochlorothiazide in a combined poly pill dosage form by stability-indicating ultra performance liquid chromatography. **Scientia Pharmaceutica**. v.79, n.1, p.69-84. 2011.

NISSEN, S.E.; TUZCU, E.M.; LIBBY, P.; THOMPSON, P.D.; GHALI, M.; GARZA, D.; BERMAN, L.; SHI, H.; BUEBENDORF, E.; TOPOL, E.J. Effect of antihypertensive agents on cardiovascular events in patients with coronary disease and normal blood pressure. The CAMELOT study: A randomized controlled trial. **The Journal of American Medical Association**. v.292, n.18, p.2217-2225. 2004.

NOJAVAN, S.; FAKHARI, A.R. Electro membrane extraction combined with capillary electrophoresis for the determination of amlodipine enantiomers in biological samples. **Journal of Separation Science**. v.33, n.20, p.3231-3238. 2010.

NOSADINI, R.; TONOLO, G. Cardiovascular and renal protection in type 2 diabetes mellitus: the role of calcium channel blockers. **Journal of American Society of Nephrology**. v.13 Suppl 3, p.S216-223. 2002.

OKSANEN, T.; KAWACHI, I.; JOKELA, M.; KOUVONEN, A.; SUZUKI, E.; TAKAO, S.; VIRTANEN, M.; PENTTI, J.; VAHTERA, J.; KIVIMAKI, M. Workplace social capital and risk of chronic and severe hypertension: a cohort study. **Journal of Hypertension**. v.30, n.6, p.1129-1136. 2012.

OLIVER, S.; JONES, J.; LEONARD, D.; CRABBE, A.; DELKHAH, Y.; NESBITT, S. Improving adherence with amlodipine/atorvastatin therapy: IMPACT study. **Journal of Clinical Hypertension**. v.13, n.8, p.598-604. 2011.

PAREEK, A.; CHANDURKAR, N.B.; SHARMA, R.; TIWARI, D.; GUPTA, B.S. Efficacy and tolerability of a fixed-dose combination of metoprolol extended release / amlodipine in patients with mild-to-moderate hypertension: A randomized, parallel-group, multicentre comparison with losartan plus amlodipine. **Clinical Drug Investigation**. v.30, n.2, p.123-131. 2010.

PASTERNAK, B.; SVANSTRÖM, H.; NIELSEN, N.M.; FUGGER, L.; MELBYE, M.; HVIID, A. Use of calcium channel blockers and parkinson's disease. **American Journal of Epidemiology**. v.175, n.10, p.1-9. 2012.

PICO, J.C.; DOMINGUEZ, G.; NEGRI, A.L.; CAUBET, J.C.; TERRAGNO, N.A. Comparative pharmacokinetics of a single oral dose of two formulations of amlodipine. A randomized, single-blind, two-period, two-sequence, crossover study. **Arzneimittelforschung**. v.58, n.7, p.323-327. 2008.

PILLI, N.R.; INAMADUGU, J.K.; MULLANGI, R.; KARRA, V.K.; VAIDYA, J.R.; RAO, J.V. Simultaneous determination of atorvastatin, amlodipine, ramipril and benazepril in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study. **Biomedical Chromatography**. v.25, n.4, p.439-449. 2011.

POULTER, N.R. A new dimension in hypertension management with the amlodipine/perindopril combination. **Journal of Hypertension**. v.29 n.Suppl 1, p.S15-21. 2011.

PRAJAPATI, J.; PATEL, A.; PATEL, M.B.; PRAJAPATI, N.; PRAJAPATI, R. Analytical method development and validation of Amlodipine besylate and Perindopril erbumine in combine dosage form by RP-HPLC. **International Journal of PharmTech Research**. v.3, n.2, p.801-808. 2011.

QUTAB, S.S.; RAZZAQ, S.N.; ASHFAQ, M.; KHAN, I.U.; MUMTAZ, A.M. Simultaneous quantitation of olmesartan medoxomil and amlodipine besylate in combined tablets using HPLC. **Journal of the Chilean Chemical Society**. v.54, n.3, p.234-237. 2009.

RAGNO, G.; CIONE, E.; GAROFALO, A.; GENCHI, G.; IOELE, G.; RISOLI, A.; SPAGNOLETTA, A. Design and monitoring of photostability systems for amlodipine

dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**. v.265, n.1-2, p.125-132. 2003.

RAHMAN, N.; HODA, N. Validated spectrophotometric methods for the determination of amlodipine besylate in drug formulations using 2,3-dichloro 5,6-dicyano 1,4-benzoquinone and ascorbic acid. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.31, n.2, p.381-392. 2003.

ROSENKRANZ, A.C.; LOB, H.; BREITENBACH, T.; BERKELS, R.; ROESEN, R. Endothelial antioxidant actions of dihydropyridines and angiotensin converting enzyme inhibitors. **European Journal of Pharmacology**. v.529, n.1-3, p.55-62. 2006.

SARKAR, A.K.; GHOSH, D.; DAS, A.; SELVAN, P.S.; GOWDA, K.V.; MANDAL, U.; BOSE, A.; AGARWAL, S.; BHAUMIK, U.; PAL, T.K. Simultaneous determination of metoprolol succinate and amlodipine besylate in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry method and its application in bioequivalence study. **Journal of Chromatography B**. v.873, n.1, p.77-85. 2008.

SHAALAN, R.A.; BELAL, T.S. Simultaneous spectrofluorimetric determination of amlodipine besylate and valsartan in their combined tablets. **Drug Testing and Analysis**. v.2, n.10, p.489-493. 2010.

_____. Gradient hplc-dad determination of the antihypertensive mixture of amlodipine besylate, valsartan, and hydrochlorothiazide in combined pharmaceutical tablets. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. v.35, n.2, p.215-230. 2012.

SHAH, D.A.; BHATT, K.K.; MEHTA, R.S.; BALDANIA, S.L.; GANDHI, T.R. Stability-indicating RP-HPLC estimation of atorvastatin calcium and amlodipine besylate in pharmaceutical formulations. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.70, n.6, p.754-760. 2008.

SMITH, T.R.; PHILIPP, T.; VAISSE, B.; BAKRIS, G.L.; WERNESING, M.; YEN, J.; GLAZER, R. Amlodipine and valsartan combined and as monotherapy in stage 2, elderly, and black hypertensive patients: subgroup analyses of 2 randomized, placebo-controlled studies. **Journal of Clinical Hypertension**. v.9, n.5, p.355-364. 2007.

SUCHANOVA, B.; KOSTIAINEN, R.; KETOLA, R.A. Characterization of the in vitro metabolic profile of amlodipine in rat using liquid chromatography-mass spectrometry. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.33, n.1, p.91-99. 2008.

TONELLI, A.R.; ALNUAIMAT, H.; MUBARAK, K. Pulmonary vasodilator testing and use of calcium channel blockers in pulmonary arterial hypertension. **Respiratory Medicine**. v.104, n.4, p.481-496. 2010.

TRIGGLE, D.J. Calcium channel antagonists: clinical uses--past, present and future. **Biochemical Pharmacology**. v.74, n.1, p.1-9. 2007.

VAN ZWIETEN, P.A. Amlodipine: an overview of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. **Clinical Cardiology**. v.17, n.9 Suppl 3, p.III3-6. 1994.

VARGHESE, S.J.; RAVI, T.K. Quantitative simultaneous determination of amlodipine, valsartan, and hydrochlorothiazide in "Exforge HCT" tablets using high-performance liquid chromatography and high-performance thin-layer chromatography. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. v.34, n.12, p.981-994. 2011.

VIGNADUZZO, S.E.; CASTELLANO, P.M.; KAUFMAN, T.S. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of amlodipine, hydrochlorothiazide, and Valsartan in tablets of their novel triple combination and binary pharmaceutical associations. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**. v.34, n.19, p.2383-2395. 2011.

VINCENT, J.; HARRIS, S.I.; FOULDS, G.; DOGOLO, L.C.; WILLAVIZE, S.; FRIEDMAN, H.L. Lack of effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v.50, n.5, p.455-463. 2000.

WALD, D.S.; LAW, M.; MORRIS, J.K.; BESTWICK, J.P.; WALD, N.J. Combination therapy versus monotherapy in reducing blood pressure: meta-analysis on 11,000 participants from 42 trials. **American Journal of Medicine**. v.122, n.3, p.290-300. 2009.

WANKHEDE, S.B.; RAKA, K.C.; WADKAR, S.B.; CHITLANGE, S.S. Spectrophotometric and HPLC methods for simultaneous estimation of amlodipine besilate, losartan potassium and hydrochlorothiazide in tablets. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.72, n.1, p.136-140. 2010.

WEIR, M.R.; DZAU, V.J. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management. **American Journal of Hypertension**. v.12, p.205-213. 1999.

YARLIOGLUES, M.; KAYA, M.G.; ARDIC, I.; CALAPKORUR, B.; DOGDU, O.; AKPEK, M.; OZDOGRU, M.; KALAY, N.; DOGAN, A.; OZDOGRU, I.; OGUZHAN, A. Acute effects of passive smoking on blood pressure and heart rate in healthy females. **Blood Pressure Monitoring**. v.15, n.5, p.251-256. 2010.

YU, Q.; HU, Z.; ZHU, F.; ZHU, J.; WAN, L.L., Y.; GUO, C. HPLC-MS-MS for the simultaneous determination of atorvastatin and amlodipine in plasma of hypertensive patients. **Chromatographia**. v.73, n.3-4, p.257-262. 2011.

ZARGHI, A.; FOROUTAN, S.M.; SHAFATI, A.; KHODDAM, A. Validated HPLC method for determination of amlodipine in human plasma and its application to pharmacokinetic studies. **Il Farmaco**. v.60, n.9, p.789-792. 2005.

CAPÍTULO II

**Caracterização físico-química de amostras de besilato de
anlodipino**

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS DE BESILATO DE ANLÓDIPINO

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi realizar uma caracterização de amostras de besilato de anlodipino de diferentes fornecedores (A, B e C). Para tanto, foram conduzidos ensaios de solubilidade, análise térmica, difração de raios-X, tamanho de partícula, área superficial e densidade aparente, compactada e verdadeira. Os resultados indicam que as amostras possuem a mesma estrutura cristalina anidra, e que as amostras A e B apresentam menor tamanho de partícula em relação à amostra C. No entanto esta se apresentou mais solúvel na maioria dos meios, inclusive em meio ácido. As análises de densidade e os índices de Carr e Hausner indicaram que a amostra C, em função de possuir o maior tamanho de partícula, possui fluidez e compressibilidade levemente melhor do que as demais, sendo necessário, portanto, o estudo do impacto dessas características no processo de fabricação das formas farmacêuticas sólidas à base de besilato de anlodipino.

1. INTRODUÇÃO

A investigação das propriedades físico-químicas de um fármaco é um ponto indispensável para o desenvolvimento de novas moléculas e sua(s) forma(s) farmacêutica(s). Tal processo, conhecido como pré-formulação, pode “antecipar” os desafios provenientes da combinação do princípio ativo com o sistema que possibilitará sua liberação de forma eficaz e segura ao paciente, garantindo, assim, uma biodisponibilidade adequada (CARSTENSEN, 2001).

A elucidação das características físico-químicas de um fármaco é feita por meio de análises qualitativas e quantitativas da matéria-prima, que fornecem informações relevantes no que se diz respeito à solubilidade, pureza, formas cristalinas, velocidade de dissolução intrínseca e outras características (ALLEN JR., 2008; AULTON, 2005).

A solubilidade de um fármaco está relacionada com sua forma cristalina e tamanho de partícula. A influência dessas propriedades é mais evidente em fármacos que apresentem polimorfismo e baixa solubilidade e, portanto, devem ser detalhadamente estudadas, principalmente quando se têm amostras de diferentes fornecedores, o que é uma situação bastante comum no contexto da indústria farmacêutica (GUPTA, 2005).

Adicionalmente, a análise térmica e a difração de raios X têm se constituído ferramentas fundamentais na diferenciação de formas cristalinas, permitindo escolher aquelas que apresentem melhor alternativa para o desenvolvimento de uma nova formulação (CRAIG, 2007; STELLE & AUSTIN, 2009).

Por outro lado, o besilato de anlodipino (Figura 1) é um fármaco anti-hipertensivo da classe das dihidropiridinas, que, após administração por via oral, é absorvido de forma rápida no trato gastrointestinal. Apresenta um extenso metabolismo hepático, resultando em metabólitos sem atividade significativa. Seu *clearance* é baixo e a meia-vida de eliminação é de aproximadamente 40 horas (ELLIOTT, 2008; KOROKOLVAS, 2010).

FIGURA 1 – Estrutura química do besilato de anlodipino

(Fonte: ROLLINGER & BURGER, 2002)

O besilato de anlodipino se caracteriza por ser um pó branco, geralmente estável em condições normais, razoavelmente solúvel em água e solúvel em etanol e possui quatro formas distintas: anidra, monohidratada, dihidratada e amorfa (ROLLINGER & BURGER, 2002; KORADIA, 2010).

Tal como os outros bloqueadores de canais de cálcio, o anlodipino é recomendado para tratamento de hipertensão e angina de peito causada por isquemia cardíaca. A dose diária é única e varia de 5 a 10 mg, podendo ser associada com outros medicamentos, como inibidores da enzima conversora de angiotensina, diuréticos e estatinas (BHAD *et al.*, 2010; CLUNN *et al.*, 2010).

O objetivo do presente trabalho é realizar uma caracterização físico-química de amostras de besilato de anlodipino de diferentes fornecedores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAS DE FÁRMACO

As amostras de besilato de anlodipino (**A**, **B** e **C**) de grau farmacêutico foram obtidas junto a três indústrias farmacêuticas. Todas estavam dentro do prazo de validade e condicionadas em embalagens protetoras contra luminosidade.

2.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

2.2.1. Solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado empregando-se o método do equilíbrio. Dessa forma, um excesso de fármaco foi acondicionado no interior de frascos plásticos fechados, contendo os seguintes meios, preparados conforme descrição da USP 32: água deionizada, ácido clorídrico (HCl) 0,1 N, suco gástrico pH 1,2, tampão citrato pH 3,0, tampão acetato pH 4,5, tampão fosfato de potássio nos pH 5,8, 6,8 e 7,2. Os frascos foram constantemente agitados durante 72 horas em agitador orbital Tecnal TE-420 (Piracicaba, São Paulo), em temperatura controlada de 37°C e a 150 rpm de velocidade de rotação. A concentração do fármaco foi determinada pela leitura espectrofotométrica de alíquotas previamente filtradas de cada um dos frascos.

2.2.2. Análise térmica

O comportamento térmico das amostras foi determinado por Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (Differential Scanning Calorimetry, DSC). As análises de TG foram realizadas em equipamento TA-2950 (TA Instruments®, New Castle, DE, EUA), sob fluxo de nitrogênio (100 mL min^{-1}) e velocidade de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, em uma faixa de temperatura de 25 a 400°C. Uma massa conhecida da amostra foi adicionada a um cadinho de platina e a perda de peso, registrada em função da temperatura.

As análises de DSC foram feitas em cadinhos de alumínio cuidadosamente pesados com o fármaco em equipamento TA-2920 (TA-Instruments®, New Castle, DE, EUA). Usou-se uma faixa de temperatura de 25 a 400°C, sob velocidade de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ e 50 mL min^{-1} de vazão de nitrogênio.

2.2.3. Análise de tamanho de partícula

Para determinação da granulometria das amostras, foi utilizado equipamento de difração de raios laser Granulometer Cilas 1900 (Cilas, Orleans, França) programado para o método da via úmida.

O procedimento para determinação do tamanho de partícula das amostras consistiu em obter uma solução saturada do fármaco em meio dispersante adequado (1,5 gramas para cada 350 mL de solução aquosa a pH 11). O sistema foi mantido em agitação de 180 rpm por 1 minuto, e a dispersão das partículas foi garantida por meio de ultrassom (35 Hz), durante dois minutos.

2.2.4. Difração de raios-X no estado sólido (DRX)

Os difratogramas de raios-X foram obtidos em difratômetro com anodo rotatório de cobre Rigaku RINT2000 (Rigaku Corporation, Toquio, Japão), a 42kV e 120 mA, com velocidade de varredura de $0,02^\circ \text{ min}^{-1}$ (em 2θ), utilizando-se silício policristalino como padrão. Os pós refinados foram analisados pelo método de Reitveld.

2.2.5. Análise de Área Superficial

Para a determinação de área superficial e porosidade das amostras, foi utilizado um analisador de adsorção gasosa NOVA 2200e (Quantachrome Corporation, Boyton Beach, FL, EUA). Primeiramente foi pesado um porta-amostra de vidro vazio e, em seguida, adicionou-se o fármaco de forma a completar 2/3 do bulbo terminal. O sistema foi condicionado sob vácuo e temperatura de 100°C por 3 horas e, então, pesou-se novamente o porta-amostra a fim de anotar a massa de material em seu interior. Por fim, a amostra foi submetida a congelamento em nitrogênio líquido por 20 minutos e, em seguida, analisada.

Para cada amostra, traçou-se uma isoterma de 50 pontos, sendo 30 de adsorção e 20 de desorção de gás nitrogênio, a pressões relativas (P/P_0) entre 0,05 e 0,95. A partir das isotermas foram obtidos gráficos de multi-BET, que serviram de base para o cálculo da área superficial, bem como para a determinação do tamanho e volume total de poro das amostras. Os resultados foram gerados pelo software NOVA-Win P 9.0.

2.2.6. Densidade verdadeira

A densidade verdadeira das amostras foi determinada em ultrapicnômetro de Hélio (Ultrapycnometer 1000, Quantachrome Corporation, Boyton Beach, FL, Estados Unidos). Para cada amostra de cerca de 1,0 a 2,0 gramas, foram realizadas cinco medições de volume de gás, obtendo-se, ao final, a densidade média.

2.2.7. Densidade aparente e compactada

O comportamento de fluxo e compactação das matérias-primas de besilato anlodipino foram avaliados através das densidades aparente (d_a) e compactada (d_c), de acordo com os procedimentos descritos na Farmacopéia Americana (USP, 2010). Com esses parâmetros, foi possível determinar o índice de Carr (I_c) e a razão de Hausner (R_H), de acordo com as equações 1 e 2.

$$I_c(\%) = \frac{d_c - d_a}{d_c} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$$R_H = \frac{d_c}{d_a} \quad (\text{Equação 2})$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de solubilidade das amostras (Figura 2) indica que o fármaco é mais solúvel em meio ácido ($5,24 \text{ mg.mL}^{-1}$) e apresenta queda de solubilidade à medida que o meio fica mais alcalino. Isso ocorre em virtude do anlodipino ser uma base fraca bastante solúvel em valores de pH abaixo de 2 (SHOIN et. al., 2010). Observa-se também que nos meios HCl 0,1N, suco gástrico pH 1,2, tampão acetato pH 4,5, tampão fosfato pH 5,8 e pH 6,8, a amostra **C** apresenta maior solubilidade em relação aos demais.

Entretanto, considerando-se a maior dose administrada do fármaco (10 mg), verifica-se que ele é facilmente solubilizado em 250 mL de qualquer um dos meios testados, indicando que se trata de um ativo de alta solubilidade, de acordo com os critérios do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (YU et.al., 2002; UNITED STATES, 2000).

Figura 2 – Solubilidade, obtida através do método do equilíbrio, das amostras A, B e C de besilato de anilipino em diferentes meios. As barras de erros indicam o desvio padrão dos testes feitos em triplicata.

A análise térmica das amostras indicou que não há alteração no comportamento térmico entre os diferentes fornecedores. Observa-se, ainda, a ocorrência de um evento endotérmico relacionado à fusão do fármaco, por volta de 200°C, seguido de degradação (Figura 3).

Figura 3 – Curvas de DSC e TG das amostras de besilato de anlodipino obtidas sob atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ na faixa de temperatura de 25°C a 300°C (DSC) e 10°C.min⁻¹ na faixa entre 25 e 600°C (TG).

Da mesma forma, as análises de difração de raios-x dos materiais preparados a partir do método de refinamento de Reitveld mostraram semelhanças entre as estruturas cristalinas das amostras A, B e C (Figura 3)

Figura 4 – Difrátogramas de raios-X das amostras preparadas pelo método de Reitveld.

Os resultados de análise térmica e difração de raios-x indicam que não há ocorrência de polimorfismo entre as amostras. Koradia e colaboradores (2010) estudaram as formas cristalinas de besilato de anlodipino e verificaram a existência de quatro estruturas distintas (amorfa, anidra, monohidratada e dihidratada). De

acordo com os dados obtidos no presente estudo, pode-se inferir que o besilato de anlodipino dos três fornecedores encontra-se na forma anidra, o que é evidenciado no TG pela ausência de perda de massa antes do ponto de fusão do fármaco e nas curvas DSC, pela presença de um único pico endotérmico. Os picos encontrados nos ângulos de difração de 5,8, 11,6 e 13° também indicam a presença dessa estrutura cristalina, que é mais solúvel em comparação com as demais (KORADIA, 2010; ROLLINGER & BURGER, 2002).

A análise de tamanho de partícula mostra que as amostras possuem faixas granulométricas diferentes (Figura 4). Pode-se perceber, pelo gráfico apresentado, que as amostras A e B apresentam faixas granulométricas mais abrangentes, enquanto a amostra C possui uma faixa mais estreita. A Tabela 1 mostra os valores de diâmetros a 10%, 50%, 90% e tamanho médio das partículas.

Figura 5 – Distribuição de tamanho de partícula para as amostras de besilato de anlodipino de diferentes fornecedores, pelo método de dispersão líquida de difração a laser (+ → A; ◇ → B; X → C).

Tabela 1 – Diâmetros a 10%, 50%, 90% e tamanho médio de partículas obtidos por análise de difração de raios laser. Valores expressos em média (mm) $\pm$ desvio padrão de cinco determinações.

Amostra	d (0,1)	d(0,5)	d (0,9)	Tamanho Médio
A	5,23 $\pm$ 0,25	18,29 $\pm$ 0,34	38,86 $\pm$ 0,29	20,59 $\pm$ 0,19
B	5,78 $\pm$ 0,16	17,78 $\pm$ 0,18	34,81 $\pm$ 0,18	19,35 $\pm$ 0,20
C	17,98 $\pm$ 0,34	28,84 $\pm$ 0,45	45,67 $\pm$ 0,64	30,54 $\pm$ 0,39

A análise de área superficial pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET) indicou que a amostra C possui menor valor de área em relação às amostras A e B, relacionando-se, assim, com os resultados de tamanho de partícula. Pode-se notar, também, que, pelo fato de as amostras A e B estarem mais micronizadas, estas apresentam um aumento do volume de poro. Em contrapartida, essas diferenças não parecem ter efeito sobre o tamanho de poro e a densidade verdadeira (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados de área superficial, volume e tamanho de poro, obtidos em analisador de área superficial sob atmosfera de nitrogênio e densidade verdadeira (expressa em valor médio $\pm$ desvio padrão) obtida em ultrapicnômetro de Hélio.

Amostra	Área Superficial (m ² .g ⁻¹)	Volume de Poro (x 10 ⁻³ cm ³ .g ⁻¹)	Tamanho de Poro (Å)	Densidade Verdadeira (g.mL ⁻¹)
A	2,311	3,18	19,8	1,426 $\pm$ 0,02
B	2,123	3,15	29,9	1,386 $\pm$ 0,00
C	1,321	1,57	25,6	1,378 $\pm$ 0,01

A solubilidade de um fármaco é diretamente relacionada ao tamanho de partícula. Para fármacos poucos solúveis, observa-se, de forma geral, que a redução do tamanho de partícula resulta em um aumento da área superficial, aumentando, assim, a interação soluto-solvente, o que promove aumento da solubilidade. Nesse

sentido, o processo de micronização se torna uma importante ferramenta para resolver problemas de dissolução e biodisponibilidade (ALLEN JR., 2008). No entanto, no presente estudo, observou-se que a amostra com maior tamanho de partícula (amostra C) apresentou maior solubilidade em comparação com as demais. Assim, faz-se necessária uma análise mais profunda do comportamento desse material no teste de solubilidade.

O comportamento reológico das amostras, representado pelos índices de Carr e Hausner, é mostrado na tabela 3. Todas as amostras apresentaram valores que, segundo a Farmacopéia Americana (2010), as caracterizam como pobres em fluxo. No entanto, a amostra C, por possuir um tamanho de partícula maior, apresenta uma leve melhora na fluidez, de acordo com o índice de Carr apresentado. Assim, é necessário avaliar o impacto dessas características durante o processo de fabricação de formas farmacêuticas sólidas à base de besilato de anlodipino.

Tabela 3 - Valores de índice de Carr e Razão de Hausner para as amostras A, B e C

Amostra	Índice de Carr (%)	Razão de Hausner
A	33,3	1,50
B	31,0	1,33
C	27,9	1,41

4. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados permitem concluir que as amostras de besilato de anlodipino estudadas (A, B e C) não apresentam diferenças em suas estruturas cristalinas. Apesar de possuírem menor tamanho partícula e maior área superficial, as amostras A e B apresentaram menor solubilidade em meio ácido quando comparadas à amostra C. Por fim, foi verificado que os pós apresentam baixo fluxo e compressibilidade, o que deve ser levado em conta no processo de fabricação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN JR., L.V. Dosage form design and development. **Clinical Therapeutics**. v.30, n. 11, p. 2102-2111. 2008.
- BHAD, V, P.; AYALASOMAYAJULA, S.; KARAN, R.; LEON, S.; RIVIERE, G.L.; SUNKARA, G.; JARUGULA J. Evaluation of pharmacokinetics interactions between amlodipine, valsartan and hydrochlorothiazide in patients with hypertension. **The journal of clinical pharmacology**. v. 50, n.11. p. 734-740. 2010.
- CARSTENSEN, J.T. **Advanced Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker. 2001.
- CRAIG, D.P.M. Pharmaceutical Applications of DSC. In: CRAIG, D.P.M; READING, M. **Thermal Analysis of Pharmaceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2007. cap. 3, p. 53-100.
- CLUNN, G.F.; SEVER, P.S.; HULES, A.D. Calcium channel regulation in vascular smooth cells: Synergistic effects of statins and calcium channel blockers. **International Journal of Cardiology**. v. 139, n.1. 2010.
- ELLIOTT, H.L. Calcium Channel Blockers. In: MCLINNES, G. T.,ed. **Clinical Pharmacology and Therapeutics of Hypertension**. Amsterdã: Elsevier BV, 2008. p. 219 – 234.
- GUPTA, P.K. Pharmaceutical Testing, Analysis and Control: Dissolution. In: REMINGTON. **The Science and Practice of Pharmacy**. 21 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 2006. Parte 4, cap. 35. p. 672-690.
- KORADIA, V.; DIEGO, H. L.; FRYDENVANG, K., ELEMA M. R.; MCULLERTZ, A.; BOND, A. D.; RANTANEN, J. Solid Forms of Amlodipine Besylate: Physicochemical, Structural, and Thermodynamic Characterization. **Crystal Growth and Design**. v.10, p. 5279-5290. 2010.
- KOROLKOVAS. Dicionário Terapêutico Guanabara. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2010. 680p.
- ROLLINGER, J.M.; BURGER, A. Physico-chemical characterization of hydrated and anhydrous crystal forms of amlodipine besylate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 68. p. 361-372. 2002.
- SHOHIN, I. E.; RAMENSKAYA, G. V.; VASILENKO, G. F.; MALASHENKO, E. A. In Vitro Dissolution Kinetics of Amlodipine Tablets Marketed in Russia Under Biowaiver Conditions. **Dissolution Technologies**. v. 17, n.3. p. 20-23. 2010.

STELLE, J.; AUSTIN, T. Preformulation Investigations using Small Amounts of Compound as an Aid to Candidate Drug Selection and Early Development. In: GIBSON, M. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation**. New York: Informa HealthCare, 2009. cap. 3, p.17- 128.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 33 ed. Rockville: The United States Pharmacopeia Convention. 2010.

UNITED STATES. Department of health and human services. Food and drug administration. **Guidance for industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutical classification system**. Rockville: FDA. 2000. p.1-13.

YU, L.X.; AMIDON, G.L.; POLLI, J.E.; ZHAO, H.; MEHTA, M.U.; CONNER, D.P.; SHAH, V.P.; LESKO, L.J.; CHEN, M.; LEE, V.H.L.; HUSSAIN, A.S. Biopharmaceutical classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. **Pharmaceutical Research**. v.19, n.7; p.921-925. 2002.

CAPÍTULO III

**Identificação dos parâmetros de ensaio que afetam a
velocidade de dissolução intrínseca do besilato de
anlodipino**

IDENTIFICAÇÃO DOS PARÂMETROS DE ENSAIO QUE AFETAM A VELOCIDADE DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DO BESILATO DE ANLODIPINO

RESUMO

A finalidade do presente trabalho foi identificar os fatores de ensaio capazes de afetar a velocidade de dissolução intrínseca (VDI) do fármaco anti-hipertensivo besilato de anlodipino. Dessa forma, foi utilizado um planejamento experimental do tipo fatorial fracionado (3^{3-1}) utilizando como variáveis independentes o meio de dissolução (água, HCl 0,1M e tampão fosfato pH 6,8), velocidade de rotação (50, 75 e 100 rpm) e pressão de compactação do fármaco (1000, 1500 e 2000 psi). Os ensaios foram randomizados e comparados estatisticamente pelo software Statistica 8.0. A análise de variância (ANOVA) indicou que o meio de dissolução exerce considerável impacto na VDI do besilato de anlodipino. A análise das variáveis em seus componentes lineares e quadráticos permitiu a proposição de um modelo matemático que descreve a VDI em função dos parâmetros estudados. Por outro lado, a pressão de compactação e a velocidade de rotação exercem efeito menos relevante, especialmente quando o ensaio é conduzido em HCL 0,1M.

1. INTRODUÇÃO

O ensaio de dissolução intrínseca consiste no estudo da liberação e solubilização de um fármaco a partir de uma superfície constituída por ele mesmo, sob condições constantes de agitação, pH e força iônica do meio. Essa liberação é expressa numericamente por um valor denominado velocidade de dissolução intrínseca (VDI) que é uma característica que permite avaliar a solubilidade de um determinado princípio ativo (**UNITED STATES PHARMACOPEIA**, 2010; HEALY *et al.*, 2002).

Em relação ao teste de solubilidade (realizado, por exemplo, através do método do equilíbrio), o ensaio de dissolução intrínseca possui a vantagem de utilizar uma menor quantidade de fármaco e requerer um tempo menor de experimento. Além disso, a variabilidade dos resultados costuma ser menos expressiva, permitindo uma melhor descrição do fenômeno. Por fim, a correlação *in vivo* / *in vitro* pode ser mais bem definida, uma vez que se trata da medição da velocidade com a qual um fármaco se dissolve (ISSA & FERRAZ, 2011; YU *et al.*, 2004).

Assim, a dissolução intrínseca é uma importante ferramenta para a caracterização físico-química de fármacos no estado sólido e trata-se de um ensaio que permite inferir o comportamento de dissolução do ativo em determinado meio fisiológico, independentemente da ação de excipientes da formulação. Para tanto, pode ser utilizado o sistema de disco rotativo (*Wood's apparatus*), bem como o de disco fixo (STELLE & AUSTIN, 2009; VIEGAS *et al.*, 2001).

Entretanto, é importante considerar que a velocidade de dissolução intrínseca pode ser afetada por diversos fatores, dentre os quais se destacam as propriedades cristalinas do fármaco (ocorrência de polimorfismo e solvatação), as condições do meio de dissolução (temperatura, força iônica e viscosidade), e a hidrodinâmica resultante, em grande parte, da velocidade de agitação (ISSA & FERRAZ, 2011; SEHIC *et al.*, 2010; STELLE & AUSTIN, 2009; ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009; BARTOLOMEI *et al.*, 2006).

A influência desses fatores na velocidade de dissolução intrínseca pode ser estudada através de um tratamento estatístico adequado. Uma metodologia muito usada consiste em alterar os níveis da variável estudada, mantendo-se todas as outras constantes (*one factor at a time*). Apesar de ser possível avaliar os efeitos de um fator específico sobre determinada resposta, esse procedimento exige um elevado número de testes, o que pode ser pouco eficaz e economicamente inviável (KINCL et al., 2005).

Nesse sentido, o planejamento experimental é uma técnica que pode ser utilizada, pois permite a determinação das variáveis que exercem maior influência na resposta de um fenômeno. No caso específico dos planejamentos fracionados, a relação entre diferentes fatores pode ser explicada pelo método de superfície de resposta, que permite avaliar quais apresentam maior impacto na resposta estudada, bem como possibilita a otimização de um processo, visando sua maior produtividade e eficiência. A vantagem da aplicação do planejamento experimental está ligada à racionalização dos ensaios, redução de custos e melhor concordância entre valores obtidos e esperados (BOX et al., 2005; MONTGOMERY, 2001).

Atualmente, são encontrados poucos estudos na literatura acerca da avaliação estatística da influência dos parâmetros empregados (em seus diferentes níveis) nos ensaios de dissolução, o que evidencia uma pequena utilização dessa importante ferramenta na área farmacêutica. (POLONINI et al., 2011; PAROJČIĆ et al., 2001).

O besilato de anlodipino (metil etil 2-(2-aminoetoximetil)-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-diidropiridina-3,5-dicarboxilato), de fórmula empírica $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ e peso molecular $408,9 \text{ g.mol}^{-1}$, é um fármaco anti-hipertensivo da terceira geração da classe das diidropiridinas, introduzido na terapêutica em meados da década de 1980 pela Pfizer Inc., sob o nome Norvasc® (EPSTEIN, 1999). Sua estrutura contém a cadeia longa denominada 2-aminoetoximetila, que protege o anel diidropiridínico da oxidação promovida pela enzima citocromo P₄₅₀ (KATOH et al., 2000). Apesar de ser um fármaco de alta solubilidade, não há consenso sobre a classe que ele ocupa no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, devido ao seu valor intermediário de permeabilidade, que é de 65% (LINDENBERG et al., 2004).

Por outro lado, não são encontrados registros na literatura acerca de ensaios de dissolução intrínseca envolvendo esse fármaco, tampouco quais parâmetros podem influenciar sua VDI. Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o impacto das diferentes variáveis no ensaio de dissolução intrínseca envolvendo o fármaco besilato de anlodipino.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. FÁRMACO

Uma amostra do fármaco anti-hipertensivo besilato de anlodipino (Cadila Healthcare, Gujarat, Índia. Lote LD045992) foi utilizada para a realização dos ensaios. O ativo, na forma de matéria-prima, estava dentro do prazo de validade e devidamente protegido da luz em embalagem adequada.

2.2. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os ensaios de dissolução intrínseca foram planejados por intermédio de um delineamento experimental do tipo fatorial fracionado 3^{3-1} , em que foram estipulados três fatores (velocidade de rotação, meio e pressão de compactação), cada um com três níveis, denominados -1, 0 e +1, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 – Variáveis independentes (fatores) e níveis empregados no delineamento experimental para os ensaios de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
Meio de dissolução	Tampão Fosfato pH 6,8	Água	HCl 0,1M
Pressão de compactação (psi)	1000	1500	2000
Velocidade de rotação (rpm)	50	75	100

Dessa forma, foi gerado um conjunto de 12 experimentos (9 provenientes do planejamento fatorial fracionado e 3 considerando os níveis centrais das variáveis), conforme a Tabela 2. Os ensaios foram devidamente randomizados a fim de eliminar tendências na obtenção dos resultados. Além disso, os efeitos de interação entre os fatores não foram incluídos no modelo, uma vez que tal procedimento seria mais bem aproveitado em estudo empregando fatorial completo (em que todas as 27 combinações possíveis seriam avaliadas), o que não constitui o escopo deste trabalho.

Por fim, a análise de interação entre as variáveis foi realizada através de cálculos estatísticos, como análise de variância (ANOVA) e gráficos de Pareto, médias, resíduos e superfície-resposta, todos elaborados empregando-se software Statistica 8.0 (Statsoft, Tulsa, Estados Unidos).

Tabela 2 – Descrição dos ensaios através de níveis codificados (-1, 0 e +1) para cada um dos fatores usados no planejamento fracionado para os ensaios de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino.

Ensaio	Pressão de Compactação	Meio de dissolução	Velocidade de Rotação
1	-1	-1	-1
2	-1	0	+1
3	-1	+1	0
4	0	-1	+1
5	0	0	0
6	0	+1	-1
7	+1	-1	0
8	+1	0	-1
9	+1	+1	+1
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

2.3. DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

Os ensaios de dissolução intrínseca foram conduzidos em equipamento de dissolução VK 7010 (Varian Inc., Palo Alto, CA, Estados Unidos), no qual foram acoplados os discos rotativos contendo cerca de 250 mg de fármaco previamente compactado por uma prensa hidráulica (American Lab, Charqueada, SP, Brasil). Cada ensaio foi realizado em triplicata, em cubas contendo 900 mL de meio. As amostras foram coletadas nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos e quantificadas por espectrofotometria no ultravioleta em equipamento Cary 50 (Varian Inc., Palo Alto, CA, Estados Unidos), no comprimento de onda de 237 nm.

Os valores de velocidade de dissolução intrínseca (VDI) foram obtidos por intermédio da construção de gráficos de quantidade de fármaco dissolvido (miligramas) em função do tempo (minutos). O coeficiente angular das curvas permitiu obter a velocidade de dissolução do fármaco em mg.min^{-1} que, divididos pela área superficial do compactado ($0,5 \text{ cm}^2$), resultaram na VDI do besilato de anlodipino, de acordo com o demonstrado na Equação 1 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2010).

$$IDR = \frac{\alpha}{A}$$

(Equação 1)

Em que:

- VDI = velocidade de dissolução intrínseca (em $\text{mg.min}^{-1}.\text{cm}^{-2}$)
- α = coeficiente angular da curva quantidade de fármaco dissolvido x tempo (em mg.min^{-1})
- A = área superficial do compactado ($0,5 \text{ cm}^2$)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 mostra os valores de velocidades de dissolução intrínseca obtidas. Pode-se observar que os coeficientes de regressão linear obtidos foram satisfatórios, com valores maiores ou iguais a 0,99.

Tabela 3 – Valores de VDI obtidos em cada ensaio, com os respectivos coeficientes de regressão linear (R^2)

Ensaio	VDI (mg.cm ⁻² .min ⁻¹)	R ²
1	1,143	0,994
2	0,229	0,999
3	> 5	*
4	0,223	0,995
5	0,233	0,998
6	4,591	0,998
7	0,319	0,996
8	0,192	0,997
9	1,221	0,995
10	0,187	0,999
11	0,199	0,999
12	0,264	0,998

* Coeficiente de correlação não obtido, em virtude do desprendimento do compactado no início do ensaio

A Figura 1 apresenta a regressão linear dos pontos de quantidade dissolvida (mg) pelo tempo de coleta (min) para obtenção da velocidade de dissolução do fármaco. Alguns testes duraram menos de três horas devido ao desprendimento do compactado. Desse modo, para calcular a VDI do fármaco, considerou-se o tempo em que o compactado se manteve na matriz. Por fim, o ensaio 3 não foi concluído porque o compactado se desprendeu logo no início do experimento. Para que fosse possível a realização das análises estatísticas, considerou-se a VDI, nesse caso, maior do que 5 mg.cm⁻².min⁻¹.

Figura 1 – Regressões lineares das quantidades de besilato de anlodipino dissolvidas em função do tempo, nos ensaios de dissolução intrínseca realizados de acordo com a Tabela 2.

A Tabela 4 apresenta os coeficientes de regressão estimados e testes de significância dos componentes dos fatores estudados. Pode-se verificar que o termo linear dos fatores pressão e velocidade de rotação, assim como os termos linear e quadrático do meio de dissolução, são aqueles que compõem o modelo matemático que explica a velocidade de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino (Equação 2).

Tabela 4 – Coeficientes de regressão estimados e testes de significância dos componentes lineares (L) e quadráticos (Q) dos fatores estudados. O resultado é significativo para $p < 0,05$ (**negrito**)

Interações	Coeficiente	p	Erro Padrão	Limite de Confiança (-95%)	Limite de Confiança (+95%)
Intercepto	1,40	0,000	0,20	0,892	1,907
Pressão de Compactação (L)	-0,77	0,028	0,25	-1,428	-0,118
Pressão de Compactação (Q)	0,07	0,723	0,20	-0,433	0,581
Meio de dissolução (L)	1,78	0,000	0,23	1,180	2,388
Meio de dissolução (Q)	-0,62	0,032	0,21	-1,181	-0,075
Velocidade de rotação (L)	-0,70	0,038	0,25	-1,364	-0,053
Velocidade de rotação (Q)	0,36	0,200	0,20	-0,307	0,707

$$VDI_{(Anlodipino)} = 1,400 - 0,773 (C) + 0,074 (C)^2 + 1,784 (M) - 0,628 (M)^2 - 0,708 (V) + 0,356 (V)^2 \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

- C = pressão de compactação
- M = meio de dissolução
- V = velocidade de rotação

Por outro lado, a análise de variância dos fatores (realizada considerando-se a combinação dos efeitos lineares e quadráticos) permite observar que o meio de dissolução é a variável de maior impacto na velocidade de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino (Tabela 5).

Tabela 5 – Testes de significância (ANOVA) para os fatores estudados. O resultado é significativo para $p < 0,05$ (**negrito**)

Efeito	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	F	p
Pressão de Compactação	3,64	2	1,82	4,67	0,071
Meio de dissolução	24,37	2	12,18	31,26	0,001
Velocidade de rotação	3,41	2	1,70	4,38	0,079
Erro	1,95	5	0,38	**	**

O gráfico de Pareto (Figura 2) mostra coerência com o resultado obtido na análise de variância. Nota-se que, apesar de os componentes lineares da pressão de compactação e velocidade de rotação exercerem impacto na VDI (o que justifica os valores significativos encontrados para esses parâmetros, do ponto de vista estatístico), o efeito provocado pelo meio de dissolução é muito mais pronunciado quando comparado aos demais.

Figura 2 - Gráfico de Pareto representando a análise de variância para os componentes lineares (L) e quadráticos (Q) dos parâmetros estudados. Valores a direita de $p=0,05$ são significativos

Adicionalmente, o gráfico de médias (Figura 3) revela que a VDI do besilato de anlodipino não sofre grandes variações quando se utiliza água ou tampão fosfato pH 6,8 como meio de dissolução. Por outro lado, há um aumento significativo no valor da VDI quando o meio empregado é o HCl 0,1M.

Como dito anteriormente, o anlodipino possui solubilidade alta em meio aquoso, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica. No entanto, as maiores VDIs foram obtidas quando se utilizou HCl 0,1M como meio de dissolução, o que provocou, inclusive, desprendimento dos compactados, independentemente da pressão de compactação utilizada (conforme observado nos ensaios 1, 6 e 9). Esse comportamento se deve ao fato de o anlodipino possuir caráter básico ($pka = 8,7$), o que lhe confere solubilidade muito maior em meio ácido (SHOIN *et al.*, 2010; VAN ZWIETEN, 1994).

O gráfico de médias permite ainda inferir que a pressão de compactação, embora não apresente impacto significativo na VDI, mostra alguma influência na dissolução do fármaco. Em todos os meios estudados, pode-se notar que a pressão de compactação 1000 psi origina um valor maior de velocidade de dissolução intrínseca, o que corresponde à teoria de que o meio de dissolução tem facilidade de penetrar por entre as partículas dessa estrutura, aumentando sua molhabilidade e, consequentemente, a facilitando a dissolução do composto. No entanto, vale ressaltar que, do ponto de vista estatístico, os resultados apresentados pela análise de variância não permitem rejeitar a hipótese nula, ou seja, de que não existe relação entre a pressão de compactação e a velocidade de dissolução intrínseca.

Por fim, a velocidade de rotação não demonstra um padrão de comportamento em relação aos outros níveis estudados, o que permite concluir que se trata do fator de menor impacto na VDI do besilato de anlodipino.

Figura 3 – Valores médios de VDI ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$) de besilato de anlodipino. As barras de erros indicam o desvio padrão das médias obtidas.

A viabilidade do modelo fatorial fracionado (3^{3-1}) foi verificada através da análise de resíduos. Para tanto, foi elaborado um gráfico de probabilidade normal dos erros, tomando por base os valores residuais em função dos valores esperados de VDI. Os pontos correspondentes aos erros residuais estão distribuídos aleatoriamente próximos à reta (Figura 4), indicando a homogeneidade das variâncias e a validade do modelo fatorial fracionado proposto para esse estudo (MONTGOMERY, 2001).

Figura 4 – Gráfico de probabilidade normal de erros, com base nos resíduos obtidos para os ensaios de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino

A comparação da influência dos fatores tomados dois a dois na VDI é representada nos gráficos de superfície-resposta (Figura 5), em que é possível observar que, quanto menor a pressão de compactação, maior a tendência de o fármaco se desprender e solubilizar, aumentando a VDI. No entanto, quando comparado com o meio de dissolução, a compactação do pó em si não se mostra

relevante, pois em todos os pontos, a VDI cresce significativamente quando o fármaco é submetido ao ensaio com HCl 0,1M, que é o nível mais alto da variável meio de dissolução.

Por fim, a comparação dos outros dois fatores mostra que, quanto menor a pressão de compactação e maior velocidade de rotação, a VDI do besilato de anlodipino aumenta. No entanto, a ausência de uma curvatura acentuada demonstra que esses fatores não são significativos na resposta da variável dependente, o que corrobora os resultados das análises estatísticas previamente mencionadas.

Figura 5 – Gráficos superfície-resposta para a VDI do besilato de anlodipino em função dos fatores estudados **(A)** Meio de dissolução x Pressão de compactação; **(B)** Meio de dissolução x Velocidade de rotação; **(C)** Pressão de compactação x Velocidade de rotação.

Diante dos resultados obtidos, é possível estabelecer as condições mais favoráveis para avaliar a velocidade de dissolução intrínseca do besilato de anlodipino. O meio de dissolução constituído somente de água foi o que apresentou a menor variabilidade de VDI, o que é demonstrado especialmente no gráfico de valores médios (Figura 3). Assim, o uso desse meio de dissolução em quaisquer pressões (de 1000 a 2000 psi) e velocidade (de 50 a 100 rpm) garantem um ensaio em que o compactado não sofre alteração em sua área superficial, o que possibilita um estudo adequado da VDI do fármaco.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que a VDI do besilato de anlodipino é afetada principalmente pelo meio de dissolução empregado no ensaio. A pressão de compactação e a velocidade de rotação apresentam impacto menor na variável dependente e, de acordo com as análises de variância, são fatores não significativos na velocidade de dissolução intrínseca do fármaco.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; ANTONIELLA, E.; RODOMONTE, A. Physico-chemical characterisation and intrinsic dissolution studies of a new hydrate form of diclofenac sodium: comparison with anhydrous form. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.40, n.5, p.1105-13. 2006.

BOX, G.E.P.; HUNTER, J.S.; HUNTER, W.G. **Statistics for experimenters: design, innovation and discovery**. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc. 2005. 640 p.

EPSTEIN, M. Role of a third generation calcium antagonist in the management of hypertension. **Drugs**. v.57 Suppl 1, p.1-10. 1999.

HEALY, A.M.; MCCARTHY, L.G.; GALLAGHER, K.M.; CORRIGAN, O.I. Sensitivity of dissolution rate to location in the paddle dissolution apparatus. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v.54, n.3, p.441-4. 2002.

ISSA, M.G.; FERRAZ, H.G. Intrinsic dissolution as a tool for evaluating the drug solubility in accordance with the biopharmaceutical classification system. **Dissolution Technologies**. v.18, n.3, p.6-11. 2011.

KATOH, M.; NAKAJIMA, M.; SHIMADA, N.; YAMAZAKI, H.; YOKOI, T. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by 1,4-dihydropyridine calcium antagonists: prediction of in vivo drug-drug interactions. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v.55, n.11-12, p.843-852. 2000.

KINCL, M.; TURK, S.; VRECER, F. Application of experimental design methodology in development and optimization of drug release method. **International Journal of Pharmaceutics**. v.291, n.1-2, p.39-49. 2005.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.58, n.2, p.265-278. 2004.

MONTGOMERY, D. **Design and Analysis of Experiments**. New York: John Wiley and Sons, Inc. 2001. 720 p.

PAROJČIĆ, J.; DURIC, Z.; JOVANOVIĆ, M.; IBRIĆ, S.; NIKOLIĆ, L. Influence of pH and agitation intensity on drug dissolution from tablets evaluated by means of factorial design. **Pharmazeutische Industrie**. v.63, n.7, p.774-779. 2001.

POLONINI, H.C.; OLIVEIRA, M.A.L.D.; FERREIRA, A.O.; RAPOSO, N.R.B.; GROSSI, L.N.; BRANDÃO, M.A.F. Optimization of a new dissolution test for oxcarbazepine capsules using mixed-level factorial design. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.22, n.7, p.1263-1270. 2011.

SEHIC, S.; BETZ, G.; HADZIDEDIC, S.; EL-ARINI, S.K.; LEUENBERGER, H. Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine samples. **International Journal of Pharmaceutics**. v.386, n.1-2, p.77-90. 2010.

SHOIN, I.E.; RAMENSKAYA, G.V.; VASILENKO, G.F.; MALASHENKO, E.A. In vitro dissolution kinetics of amlodipine tablets marketed in Russia under biowaiver conditions. **Dissolution Technologies**. v.17, n.3, p.20-23. 2010.

STELLE, J.; AUSTIN, T. Preformulation investigations using small amounts of compound as an aid to candidate drug selection and early development. In: GIBSON, M. (Ed.). **Pharmaceutical preformulation and formulation**. New York: Informa HealthCare, 2009. p.84-86

UNITED STATES PHARMACOPEIA. Rockville: The United States Pharmacopeia Convention. 2010

VAN ZWIETEN, P.A. Amlodipine: an overview of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. **Clinical Cardiology**. v.17, n.9 Suppl 3, p.III3-6. 1994.

VIEGAS, T.X.; CURATELLA, R.U.; WINKLE, L.L.V.; BRINKER, G. Measurement of intrinsic dissolution rates using two types of apparatus. **Pharmaceutical technology**. v.6, p.44-53. 2001.

YU, L.X.; CARLIN, A.S.; AMIDON, G.L.; HUSSAIN, A.S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. **International Journal of Pharmaceutics**. v.270, n.1-2, p.221-7. 2004.

ZAKERI-MILANI, P.; BARZEGAR-JALALI, M.; AZIMI, M.; VALIZADEH, H. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.73, n.1, p.102-106. 2009.

CAPÍTULO IV

**Desenvolvimento de minicomprimidos de besilato de
anlodipino e avaliação dos fatores que influem em suas
características físicas e dissolução**

DESENVOLVIMENTO DE MINICOMPRESSOS DE BESILATO DE ANLODIPINO E AVALIAÇÃO DOS FATORES QUE INFLUEM EM SUAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E DISSOLUÇÃO

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver e caracterizar minicomprimidos de besilato de anlodipino, avaliando quais fatores possuem maior impacto nas suas características físicas (peso médio, relação diâmetro / espessura, dureza e friabilidade) e na dissolução. Para tanto, foi desenvolvido um planejamento experimental do tipo fatorial completo, em que foram considerados dois fatores (diluyente e desintegrante), cada um com três níveis (3^2). Assim, foram produzidas 9 formulações, que foram submetidas aos referidos testes físicos e a ensaios de dissolução empregando aparato 1 (cesta) e 2 (pá). A análise de variância indicou que o diluyente influencia nas características de peso médio e relação diâmetro / espessura das formulações, o que é evidenciado pelas diferentes propriedades plásticas da celulose microcristalina e do fosfato de cálcio diidratado. O desintegrante, por sua vez, apresenta impacto significativo na eficiência de dissolução do fármaco. Apesar de o anlodipino ser um fármaco de alta solubilidade, esse resultado pode ser relevante, uma vez que o ativo não tem posição definida entre as classes I e III do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que medicamentos contendo fármacos de classe I apresentem liberação de 85% da dose e 30 minutos, o que é observado em todas as formulações, independentemente do uso de desintegrante. Por outro lado, a mesma agência determina que, em fármacos de classe III, a dissolução seja de 85% em 15 minutos, o que é alcançado somente nas formulações de F4 a F9, que possuem desintegrante na sua composição.

1. INTRODUÇÃO

Sistemas multiparticulados são formas farmacêuticas que contêm um ativo dividido em várias subunidades de liberação, como, por exemplo, grânulos, *pellets* ou minicomprimidos, com diâmetro de até 3 cm (PEZZINI et al., 2007). A importância dessas formas farmacêuticas é justificada por alguns aspectos biofarmacotécnicos, tais como a possibilidade de veiculação de ativos incompatíveis, facilidade de obtenção de diferentes dosagens em um mesmo produto, menor variabilidade de absorção intra e inter-individual, entre outros (PEZZINI et al., 2007; SANTOS, 2004).

Nesse contexto, minicomprimidos têm despertado crescente interesse, pois combinam as vantagens dos sistemas multiparticulados com as técnicas bem padronizadas de produção dos comprimidos. Podem ser obtidos por compressão direta, utilizando máquinas convencionais dotadas de matrizes e minipunções múltiplas, que se caracterizam como pequenas adaptações no equipamento e aceleram a velocidade de fabricação do produto (ZERBINI & FERRAZ, 2011). Além disso, não requerem o uso de água durante o processo, constituindo, assim, um benefício para fármacos sensíveis à umidade. Apresentam, ainda, uma reduzida variabilidade lote a lote, o que constitui uma diferença significativa em relação a *pellets* e grânulos (LENNARTZ & MIELCK, 1998).

Adicionalmente, minicomprimidos podem ser veiculados em cápsulas ou até mesmo misturados a excipientes e submetidos à compressão, oferecendo, assim, uma nova variedade de formulações (BHANDARI et al., 2010; LOPES et al., 2006).

O besilato de anlodipino (metil etil 2-(2-aminoetoximetil)-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-diidropiridina-3,5-dicarboxilato), de fórmula empírica $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ e peso molecular $408,9 \text{ g.mol}^{-1}$, é um fármaco diidropiridínico de terceira geração, usado no tratamento de doenças cardiovasculares, como angina de peito e hipertensão. A dose usualmente administrada é de 5 ou 10 mg, e seu mecanismo de ação é descrito pela ligação iônica do grupo amino protonizado com o oxigênio aniônico presente na membrana fosfolipídica, o que explica o início de ação lento e efeito prolongado de vasodilatação (AUSTIN et al., 2005). Apesar de ser um fármaco de alta solubilidade, não há consenso sobre a classe que ele ocupa no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, devido ao seu valor intermediário de biodisponibilidade, estimado em 65% (LINDENBERG et al., 2004).

A literatura não apresenta registros de formulação de sistemas multiparticulados contendo besilato de anlodipino. Em vista do intenso uso desse fármaco no tratamento de doenças cardiovasculares, especialmente em associação com outras drogas (CHRY SANT et al., 2012; BLACK et al., 2011; OLIVER et al., 2011), a formulação de minicomprimidos de anlodipino pode ser o primeiro passo para a obtenção de formulações inovadoras para o tratamento da hipertensão.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver minicomprimidos contendo besilato de anlodipino para liberação imediata, avaliando quais fatores são capazes de influenciar em suas características físicas e na sua dissolução.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.1. MATERIAIS

Besilato de anlodipino (Cadila Healthcare, Índia), celulose microcristalina PH 102 (Microcel[®], Blanver Farmamoquímica Ltda., São Paulo, Brasil), fosfato de cálcio diidratado (Emcompress Premium[®], JRS Pharma, Rosemberg, Alemanha) crospovidona e croscarmelose (ISP Ltda., São Paulo, Brasil), dióxido de silício coloidal (Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., São Paulo, Brasil), estearato de magnésio (Mallinckrodt, St. Louis, Estados Unidos).

A solução de HCl 0,1M foi preparada adicionando-se 8,5 mL do ácido clorídrico concentrado (LabSynth, São Paulo, Brasil) para cada 1000 mL de água, de acordo com o preconizado pela Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2012).

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Preparo das formulações

Foram produzidas, por compressão direta, nove formulações de minicomprimidos de besilato de anlodipino, denominadas de F1 a F9, em lotes de 50 gramas, com auxílio de máquina de comprimir excêntrica Fabber-Primar (São Paulo, Brasil). As punções utilizadas foram de 3 mm de diâmetro.

As formulações foram preparadas segundo um delineamento experimental do tipo fatorial completo 3^2 , em que são considerados dois fatores (diluyente e desintegrante, nomeados x_1 e x_2 , respectivamente), cada um com três níveis, (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Fatores (variáveis independentes) e níveis empregados no delineamento experimental da dissolução de minicomprimidos de besilato de anlodipino

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
Diluyente	Celulose Microcristalina 102	Celulose Microcristalina 102 + Fosfato de Cálcio Anidro (75:25 m/m)	Celulose Microcristalina 102 + Fosfato de Cálcio Anidro (50:50 m/m)
Desintegrante	Sem desintegrante	Crospovidona	Croscarmellose

Tabela 2 – Descrição dos ensaios através de níveis codificados (-1, 0 e +1) para cada um dos fatores usados (x_1 e x_2) no planejamento fatorial completo 3^2 .

Formulação	Diluyente (x_1)	Desintegrante (x_2)
F1	-1	-1
F2	0	-1
F3	+1	-1
F4	-1	0
F5	0	0
F6	+1	0
F7	-1	+1
F8	0	+1
F9	+1	+1

As quantidades de fármaco e excipientes empregados em cada ensaio estão descritos na Tabela 3. Para evitar tendências de erros, os ensaios para obtenção dos minicomprimidos foram devidamente randomizados, com auxílio do software

Statistica® 11.0 (Statsoft, Tulsa, Estados Unidos). A ordem dos ensaios também é encontrada na referida Tabela.

Tabela 3 – Composição (em gramas) das formulações de minicomprimidos de besilato de anlodipino. Números entre parênteses indicam a ordem de execução dos ensaios

Componente	Formulações								
	F1 (3)	F2 (5)	F3 (7)	F4 (1)	F5 (8)	F6 (9)	F7 (2)	F8 (6)	F9 (4)
Besilato de anlodipino	1,43	1,81	1,66	1,43	1,81	1,66	1,43	1,81	1,66
Celulose microcristalina 102	47,57	35,39	23,67	45,06	33,47	22,42	45,06	33,47	22,42
Fosfato de cálcio diidratado	-	11,80	23,67	-	11,22	22,42	-	11,22	22,42
Croscarmelose	-	-	-	2,50	-	-	-	2,50	2,50
Crospovidona	-	-	-	-	2,50	2,50	2,50	-	-
Estearato de magnésio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Dióxido de silício coloidal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

2.2.2. Testes físicos

O peso médio dos minicomprimidos foi verificado em balança analítica BL 210S (Sartorius, Goettingen, Alemanha). Para determinação da dureza, foi utilizado durômetro automático Logan HDR-300 (Logan Instruments, New Jersey, Estados Unidos), enquanto a espessura foi medida com auxílio de paquímetro manual (Mitutoyo, Kawasaki, Japão). Por fim, o valor de friabilidade foi obtido utilizando-se friabilômetro FAB-2 (Logan Instruments, New Jersey, EUA), no qual 5 g de minicomprimidos foram acondicionados juntamente com 100 esferas de vidro de 4 mm de diâmetro e submetidos a 100 rotações. A porcentagem de perda de massa dos minicomprimidos foi calculada.

2.2.3. Teor de anlodipino

Cinco gramas de minicomprimidos foram transferidos para um pistilo, onde foram triturados até obtenção do pó. Uma porção de pó equivalente a 10 mg do fármaco, foi pesada e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL, contendo cerca de 60 mL de HCl 0,1M. A amostra foi submetida a ultra-som por 20 minutos, para garantir a solubilização completa do ativo. Em seguida, completou-se o volume do balão volumétrico, e uma alíquota foi retirada e filtrada com auxílio de filtros Minisart RC 25 (Sartorius, Goettingen, Alemanha) de 0,20mm de tamanho de poro. A quantidade de fármaco na solução resultante foi determinada com espectrofotômetro UV DU-640 (Beckman Coulter, Califórnia, Estados Unidos), no comprimento de onda de 238nm.

2.2.4. Perfil de dissolução

O ensaio de dissolução dos minicomprimidos foi feito em triplicata em equipamento Logan D-800 (Logan Instruments, New Jersey, Estados Unidos), utilizando aparato 1 (cesta) a 75 rpm e aparato 2 (pá) a 50 rpm, para cada uma das formulações. A quantidade de minicomprimidos em cada teste foi ajustada de acordo com o teor de fármaco, a fim de se obter a dosagem requerida de 10 mg.

O meio empregado foi HCl 0,1M (500 mL) a 37°C, previamente filtrado e degaseificado. Alíquotas de 10 mL foram retiradas nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos com auxílio de filtros de 0,45 micra (Quality Lab Accessories, Bridgewater, Estados Unidos). O fármaco foi quantificado em espectrofotômetro UV DU-640 (Beckman Coulter, Califórnia, Estados Unidos), no comprimento de onda de 238nm. Assim, foi possível determinar o perfil de dissolução de cada uma das formulações, bem como as respectivas eficiências de dissolução, calculadas de 0 a 15 minutos, através do método dos trapezóides (PITA et al., 2004; KHAN, 1975).

2.2.5. Cálculos estatísticos

Para o planejamento fatorial completo empregado neste estudo, foram consideradas como variáveis de resposta o peso médio, relação diâmetro / espessura, dureza friabilidade e eficiência de dissolução. A influência dos fatores (e seus respectivos níveis) em tais respostas foi avaliada utilizando-se análise de

variância (ANOVA) e gráficos auxiliares gerados pelo *software* Statistica® 11.0 (Statsoft, Tulsa, Estados Unidos).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as formulações foram produzidas com êxito. Não houve dificuldades com relação ao fluxo do pó no alimentador da máquina de comprimir, tampouco os minicomprimidos apresentaram defeitos como “descabeçamento” (*capping*) ou desgaste (*binding e sticking*).

3.1. TESTES FÍSICOS

A Tabela 4 apresenta os resultados de peso médio, espessura, dureza e friabilidade para cada um dos lotes produzidos. Nota-se que os desvios-padrão são baixos, o que evidencia a boa homogeneidade das misturas. No entanto, é possível observar que há diferenças de valores entre as formulações.

Tabela 4 – Ensaio físicos para as formulações F1-F9. Resultados expressos em valor absoluto $\pm$ desvio padrão de dez medidas.

Componente	Formulações								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Peso Médio (mg)	18,20 $\pm$ 0,12	23,60 $\pm$ 0,26	24,14 $\pm$ 0,19	18,2 $\pm$ 0,09	22,42 $\pm$ 0,33	23,84 $\pm$ 0,10	18,21 $\pm$ 0,05	23,70 $\pm$ 0,18	23,85 $\pm$ 0,11
Relação Diâmetro / Espessura	1,49 $\pm$ 0,06	1,26 $\pm$ 0,07	1,21 $\pm$ 0,05	1,53 $\pm$ 0,05	1,42 $\pm$ 0,01	1,40 $\pm$ 0,04	1,46 $\pm$ 0,09	1,28 $\pm$ 0,04	1,16 $\pm$ 0,06
Dureza (N)	29,0 $\pm$ 2,3	36,4 $\pm$ 3,9	38,7 $\pm$ 2,9	37,7 $\pm$ 5,2	38,9 $\pm$ 4,0	36,2 $\pm$ 3,4	33,7 $\pm$ 4,5	33,1 $\pm$ 3,1	32,9 $\pm$ 1,9
Friabilidade	0,03	0,02	0,00	0,02	0,01	0,51	0,80	0,19	0,03

Para avaliar o impacto dos fatores nas características físicas dos minicomprimidos, foi conduzida uma análise de variância (ANOVA *one-way*) dos componentes lineares e quadráticos do diluente e desintegrante, aplicando nível de significância de 5% (Tabelas 5). Dessa forma, valores menores do que $p = 0,05$ indicam que o fator é significativo para a característica estudada.

Tabela 5 – Análise de variância dos componentes lineares (L) e quadráticos (Q) dos fatores x_1 e x_2 (diluyente e desintegrante, respectivamente) para as respostas peso médio, relação diâmetro / espessura (RDE), dureza e friabilidade. O resultado é significativo para $p < 0,05$ (**em negrito**).

Fator	Componente	Peso médio		RDE		Dureza		Friabilidade	
		F	valor p	F	valor p	F	valor p	F	valor p
x_1	L	237,22	0,000	26,09	0,006	1,84	0,268	0,56	0,505
	Q	45,37	0,006	1,25	0,32	0,88	0,419	0,32	0,612
	L+Q	141,3	0,001	13,67	0,016	1,35	0,38	0,44	0,678
x_2	L	0,01	0,921	0,23	0,653	0,63	0,482	0,13	0,738
	Q	1,97	0,255	13,59	0,021	5,52	0,1	0,32	0,608
	L+Q	0,99	0,467	6,91	0,051	3,08	0,187	0,33	0,808
Interação $x_1 + x_2$		0,12	0,749	0,05	0,829	5,61	0,099	0,46	0,545

Os resultados indicam que, com relação ao peso médio, os dois componentes de x_1 apresentam nível de significância menor do que 0,05, mostrando, assim, que o diluyente é uma variável de impacto para essa característica. Adicionalmente, o componente linear de x_1 e o quadrático de x_2 exercem impacto sobre a relação diâmetro / espessura. No entanto, quando se considera a combinação dos efeitos linear e quadrático de cada fator, observa-se que apenas o diluyente é significativo para o resultado.

Por outro lado, não é observada influência dos fatores na dureza e friabilidade dos minicomprimidos, o que demonstra que essas características independem da composição das formulações. Finalmente, nota-se que uma possível interação entre os dois fatores não resulta em impacto significativo em quaisquer características estudadas.

A celulose microcristalina é um derivado parcialmente despolimerizado, obtido a partir da α -celulose encontrada na natureza. É um excipiente de escolha para a indústria farmacêutica, uma vez que é quimicamente compatível com a maioria dos

fármacos, é inerte para o organismo humano e, com relação à fabricação de formas sólidas, possui boa compressibilidade a baixas pressões.

Já o fosfato de cálcio é um sal produzido a partir de uma complexa reação envolvendo ácido fosfórico e cal hidratada. Possui fluidez considerável devido à sua alta densidade, razão pela qual as indústrias estão optando cada vez mais por usá-lo, como diluente, em seus processos de compressão direta (JIVRAJ et al., 2000). Por outro lado, a lactose, apesar de ser um excipiente amplamente utilizado, não foi considerada para esse estudo, em virtude de sua reconhecida incompatibilidade química com o anlodipino (ABDOH et al., 2004)

Em relação aos minicomprimidos produzidos com fosfato de cálcio diidratado, as formulações contendo apenas celulose microcristalina apresentaram menor peso médio e maior relação diâmetro / espessura. De fato, a celulose, ao ser comprimida, apresenta uma deformação plástica muito grande, o que faz com que suas partículas fiquem unidas, resultando em uma forma mais compactada (ZHANG et al., 2003). Assim, é possível regular a máquina de comprimir para que sejam obtidos minicomprimidos de menor peso e espessura, o que é altamente desejável para esse tipo de forma farmacêutica multiparticulada, em virtude da possibilidade da maior diluição da dose, por exemplo.

O mesmo não pode ser obtido quando se utiliza fosfato de cálcio diidratado. Apesar de ser empregado na indústria para aumentar a fluidez de misturas (inclusive com celulose microcristalina), essa característica, como dito anteriormente, não foi determinante para a obtenção dos minicomprimidos. Adicionalmente, as formas resultantes apresentaram maior peso médio e menor relação diâmetro / espessura, explicados pela natureza frágil do excipiente, que não tem boas propriedades plásticas (GARR & RUBINSTEIN, 1991).

Assim, minicomprimidos contendo fosfato de cálcio diidratado necessitam de muito mais força de compactação para atingir a mesma espessura de formas contendo celulose microcristalina. Isso ocorre principalmente pela alta porosidade intraparticular e pela densidade elevada do fosfato (ZHANG et al., 2003). Dessa forma, para assegurar a integridade da máquina de comprimir, não foi possível usar as mesmas configurações aplicadas quando a celulose microcristalina foi empregada sem o fosfato, sendo necessário aumentar a carga de pó no interior da

matriz nos ensaios envolvendo os níveis 0 e +1 do fator diluente (que continha, respectivamente, 25% e 50% de fosfato). O resultado foi a obtenção de formulações com maior peso médio e relação diâmetro / espessura mais próximas de 1, o que indica que os minicomprimidos tendem a formar um cilindro equilátero, cuja altura (espessura) é igual ao diâmetro da base. Tal apresentação não é esteticamente adequada para esse tipo de forma farmacêutica, podendo, assim, representar uma desvantagem em relação aos minicomprimidos obtidos somente com o uso de celulose microcristalina.

A Figura 1 apresenta os gráficos de superfície-resposta, que evidenciam uma relação praticamente direta do aumento da concentração de fosfato de cálcio com o acréscimo do peso médio e diminuição da relação diâmetro / espessura.

Figura 1 – Gráficos tridimensionais de superfície-resposta mostrando o efeito do diluente e desintegrante sobre peso médio (esquerda) e relação diâmetro / espessura

3.2. DISSOLUÇÃO

Os perfis de dissolução obtidos a partir de ensaios com aparatos 1 e 2 estão representados na Figura 2. Apesar da liberação rápida do fármaco em todos os casos, nota-se que há uma aparente diferença de comportamento entre as formulações.

Figura 2 – Perfis de dissolução dos minic comprimidos de besilato de anlodipino. F1, F2, F3 (sem desintegrante); F4, F5 e F6 (croscarmelose sódica); F7, F8 e F9 (crospovidona). As barras de erros indicam os desvios-padrão dos pontos medidos em triplicata.

Dessa forma, para verificar a validade dessa hipótese, a eficiência de dissolução (ED%) foi escolhida como variável de resposta. Trata-se de um parâmetro importante que avalia a cinética de dissolução através da área sob a curva do perfil em um determinado intervalo de tempo (PITA et al., 2004; ANDERSON et al., 1998; KHAN, 1975).

A Tabela 6 apresenta os valores de teor, as quantidades de minicomprimidos usadas em cada ensaio, e por fim, a ED% para cada uma das formulações nos diferentes aparatos utilizados.

Tabela 6 – Teor, quantidade de minicomprimidos (MniCps) usados nos ensaios de dissolução e valores de ED% para cada uma das formulações, nos testes empregando aparatos 1 (cesta) e 2 (pá). Resultados expressos em valor absoluto $\pm$ desvio padrão de triplicata.

Formulação	Teor (%)	Unidades de MiniCps	ED (%) aparato 1	ED (%) aparato 2
F1	81,57 $\pm$ 2,98	24	48,52 $\pm$ 1,01	54,02 $\pm$ 4,30
F2	84,80 $\pm$ 0,33	14	57,15 $\pm$ 2,26	55,79 $\pm$ 0,73
F3	84,59 $\pm$ 0,95	13	51,25 $\pm$ 2,32	47,21 $\pm$ 0,80
F4	85,99 $\pm$ 2,29	22	83,21 $\pm$ 4,33	78,08 $\pm$ 1,77
F5	90,52 $\pm$ 3,09	14	75,52 $\pm$ 1,33	79,16 $\pm$ 5,98
F6	79,23 $\pm$ 3,32	15	70,08 $\pm$ 1,61	79,21 $\pm$ 2,34
F7	80,88 $\pm$ 3,59	24	79,50 $\pm$ 0,86	78,69 $\pm$ 3,85
F8	83,27 $\pm$ 0,65	12	80,93 $\pm$ 1,45	69,46 $\pm$ 0,34
F9	89,86 $\pm$ 1,87	12	80,24 $\pm$ 2,79	72,53 $\pm$ 2,14

A avaliação do impacto dos fatores nas características físicas dos minicomprimidos foi conduzida por meio de uma ANOVA *one-way* dos componentes lineares e quadráticos dos fatores empregados (diluyente e desintegrante), aplicando nível de significância de 5% (Tabela 7). Dessa forma, valores menores do que $p = 0,05$ indicam que a variável em observação é significativa para a característica estudada.

Tabela 7 – Análise de variância dos componentes lineares (L) e quadráticos (Q) dos fatores x_1 e x_2 (diluyente e desintegrante, respectivamente) para as eficiências de dissolução obtidas a partir dos ensaios com aparatos 1 e 2. O resultado é significativo para $p < 0,05$ (**em negrito**).

Fator	Componente	Aparato 1		Aparato 2	
		F	valor p	F	valor p
x_1	L	0,47	0,541	1,12	0,367
	Q	0,35	0,596	0,00	0,965
	L+Q	0,41	0,696	0,56	0,621
x_2	L	35,45	0,009	32,41	0,011
	Q	6,07	0,090	24,18	0,016
	L+Q	20,76	0,017	28,28	0,011
Interação $x_1 + x_2$		0,03	0,873	0,01	0,948

A análise de variância executada permite concluir que o componente linear do desintegrante tem impacto significativo na ED% obtida a partir dos ensaios feitos utilizando-se cesta. Da mesma forma, observa-se que o termo linear e quadrático do referido fator também exerce influência sobre a resposta quando a dissolução é feita com o auxílio de pás. No entanto, independentemente do aparato utilizado, a combinação dos efeitos linear e quadrático mostra que o desintegrante é o fator mais importante da formulação, quando se considera a eficiência de dissolução do fármaco, nas condições estabelecidas. Adicionalmente, é possível inferir que o comportamento das formulações quando testadas com aparato 1 e 2 não se altera, o que permite a conclusão de que ambos podem ser utilizados, nas configurações descritas, para a obtenção do perfil de dissolução de minicomprimidos de besilato de anlodipino.

Croscarmelose e crospovidona são derivados de celulose e polivinilpirrolidona, respectivamente. Pertencem à classe dos super-desintegrantes, ou seja, aqueles que, em baixas concentrações (1 a 5%), promovem a ruptura rápida e completa da forma farmacêutica, permitindo a liberação total do ativo para dissolução e posterior absorção pelo trato gastrointestinal. O mecanismo de ação

consiste no intumescimento das partículas de desintegrante, o que promove um “inchaço” do comprimidos, possibilitando sua desintegração (ALDERBORN, 2002).

Em fármacos de alta solubilidade, como o besilato de anlodipino, não há diferença no uso de crospovidona ou croscarmellose nas formulações, visto que elas são formas farmacêuticas de liberação imediata. No entanto, a ausência do desintegrante pode acarretar um retardamento da liberação do ativo, o que parece ser a razão para o fato de a variável x_2 ter sido considerada significativa pela análise de variância.

A relevância desse resultado pode ser explicada à luz dos conceitos propostos pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Como dito anteriormente, não há um consenso sobre a classificação a que anlodipino se insere, sendo que alguns autores listam o fármaco como pertencente à classe I (OLUSOLA et al., 2012; SHOIN et al., 2010) e outros, à classe III (TSRLINC, 2012; LINDENBERG et.al., 2004).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), ao contrário das agências americana e europeia (FDA e EMA, respectivamente) adota padrões diferentes quanto ao perfil de dissolução desejado para medicamentos contendo fármacos de classe I e III. Para a primeira, a recomendação é de que a formulação apresente, pelo menos, 85% de liberação do ativo em 30 minutos, ao passo que, para fármacos de classe III, essa quantidade deve ser estar dissolvida em não mais do que 15 minutos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

Assim, considerando o anlodipino como um fármaco de alta solubilidade e permeabilidade (ou seja, pertencente à classe I do SCB), os ensaios de dissolução realizados indicam que, em todas as formulações, a porcentagem de fármaco liberado, ao final de 30 minutos, foi de pelo menos 85%, independentemente do uso do desintegrante. Dessa forma, apesar do impacto significativo na dissolução, a adição de crospovidona e croscarmellose na formulação não seria relevante para o atendimento das recomendações da OMS, com relação a fármacos de classe I.

No entanto, a classificação do anlodipino como um fármaco de baixa permeabilidade (o que o levaria para a classe III) pode justificar o uso desses excipientes nos minicomprimidos. De acordo com a OMS e com base em dados da

literatura, medicamentos contendo moléculas dessa classe devem apresentar uma dissolução seja muito rápida, isto é, pelo menos 85% da dose do ativo deve ser liberada e dissolvida em 15 minutos (YU et al., 2002; YU et al., 2001) o que não é observado nas formulações F1, F2 e F3. A adição de desintegrante, como visto, tem impacto positivo na ED%, fazendo com que a liberação do anlodipino em todas as outras formulações (F4 a F9) atenda às especificações da OMS para formulações contendo fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade.

Em suma, a partir dos resultados até aqui apresentados, pode-se inferir que as formulações mais adequadas são aquelas que empregam celulose microcristalina PH 102 como diluente (o que possibilita a obtenção de minicomprimidos com peso médio e relação diâmetro / espessura adequados) e crospovidona ou croscarmelose como desintegrantes, pois possibilitam a dissolução muito rápida do anlodipino a partir dos minicomprimidos.

4. CONCLUSÃO

A partir das nove formulações elaboradas por intermédio do planejamento fatorial completo, verifica-se que os diluentes (celulose microcristalina e fosfato de cálcio diidratado) exercem impacto significativo no peso médio e na relação diâmetro / espessura, o que é explicado pelas propriedades plásticas desses excipientes. Por outro lado, a eficiência de dissolução é influenciada pela presença do desintegrante. Considerando as recomendações da OMS para dissolução de medicamentos contendo fármacos de classe I ou III do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, tal resultado indica que, somente com o uso de crospovidona ou croscarmelose, é possível alcançar uma liberação de 85% da dose em não mais do que 15 minutos, mesmo se tratando de um fármaco de alta solubilidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOH, A.; AL-OMARI, M.; BADWAN, A.; JABER, A. Amlodipine besylate-excipients interaction in solid dosage form. **Pharmaceutical Development and Technology**. v.9, n.1, p.15-24. 2004.

ALDERBORN, G. Tablets and compression. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design**. London: Churchill Livingstone, 2002. p.402-443

ANDERSON, N.; BAUER, M.; BOUSSAC, N.; KHAN-MALEK, R.; MUNDEN, P.; M., S. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.17, n.4-5, p.811-822. 1998.

AUSTIN, R.P.; BARTON, P.; DAVIS, A.M.; FESSEY, R.E.; WENLOCK, M.C. The thermodynamics of the partitioning of ionizing molecules between aqueous buffers and phospholipid membranes. **Pharmaceutical Research**. v.22, n.10, p.1649-57. 2005.

BHANDARI, A.; SHAH, N.; SHAH, D. Technologies for Combination Drug Therapies: An Overview. **International Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences**. v.1, n.2, p.2010. 2010.

BLACK, H.R.; WEINBERGER, M.H.; PURKAYASTHA, D.; LEE, J.; SRIDHARAN, K.; ISRAEL, M.; HILKERT, R.; IZZO, J. Comparative efficacy and safety of combination aliskiren/amlodipine and amlodipine monotherapy in African Americans with stage 2 hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**. v.13, n.8, p.571-581. 2011.

CHRY SANT, S.G.; IZZO, J.L., JR.; KEREIAKES, D.J.; LITTLEJOHN, T., 3RD; OPARIL, S.; MELINO, M.; LEE, J.; FERNANDEZ, V.; HEYRMAN, R. Efficacy and safety of triple-combination therapy with olmesartan, amlodipine, and hydrochlorothiazide in study participants with hypertension and diabetes: a subpopulation analysis of the TRINITY study. **Journal of the American Society of Hypertension**. v.6, n.2, p.132-141. 2012.

GARR, J.S.M.; RUBINSTEIN, M.H. The effect of rate of force application on the properties of microcrystalline cellulose and dibasic calcium phosphate mixtures. **International Journal of Pharmaceutics**. v.73, p.75-80. 1991.

JIVRAJ, M.; MARTINI, L.G.; THOMSON, C.M. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. **Pharmaceutical Science & Technology Today**. v.3, n.2, p.58-63. 2000.

KHAN, K.A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v.27, n.1, p.48-49. 1975.

LENNARTZ, P.; MIELCK, J.B. Minitabletting: improving the compactability of paracetamol mixtures. **International Journal of Pharmaceutics**. v.173, n.1, p.75-85. 1998.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.58, n.2, p.265-278. 2004.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P.; PINTO, J.P. Directly compressed mini matrix tablets containing ibuprofen: preparation and evaluation of sustained release. **Drug Delivery and Industrial Pharmacy**. v.32, p.95-106. 2006.

OLIVER, S.; JONES, J.; LEONARD, D.; CRABBE, A.; DELKHAH, Y.; NESBITT, S. Improving adherence with amlodipine/atorvastatin therapy: IMPACT study. **Journal of Clinical Hypertension**. v.13, n.8, p.598-604. 2011.

OLUSOLA, A.M.; OLUBUKOLA, O.O.; EMEKA, O.H.; LILIAN, A.E. Equivalence of two generic brands of amlodipine besylate under biowaivers conditions. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.4, n.2, p.265-268. 2012.

PEZZINI, B.R.; SEGATTO SILVA, M.A.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.43, n.4, p.491-502. 2007.

PITA, N.O.G.; PRATES, É.D.C.; FERRAZ, H.G. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de ciprofloxacino 250 mg comercializados como similares no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.40, n.3, p.309-315. 2004.

SANTOS, H.M.M., VEIGA, F. J. B., PINA, M. E. T., SOUSA, J. J. M. S. . Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica. Parte I. Avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.40, n.4, p.455-470. 2004.

SHOIN, I.E.; RAMENSKAYA, G.V.; VASILENKO, G.F.; MALASHENKO, E.A. In vitro dissolution kinetics of amlodipine tablets marketed in Russia under biowaiver conditions. **Dissolution Technologies**. v.17, n.3, p.20-23. 2010.

TSRLINC. **Biopharmaceutical classification system for amlodipine besylate**. Disponível em <www.tsrlinc.com/resources/services/bcs/search.cfm>. Acesso em 25/09/2012.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 35 ed. Rockville: The United States Pharmacopeia Convention. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. **WHO Technical Report Series**. 937. 2006.

YU, L.X.; AMIDON, G.L.; POLLI, J.E.; ZHAO, H.; MEHTA, M.U.; CONNER, D.P.; SHAH, V.P.; LESKO, L.J.; CHEN, M.-L.; LEE, V.H.L.; HUSSAIN, A.S.

Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. **Pharmaceutical Research**. v.19, n.7, p.921-925. 2002.

YU, L.X.; ELLISON, C.D.; CONNER, D.P.; LESKO, L.J.; HUSSAIN, A.S. Influence of drug release properties of conventional solid dosage forms on the systemic exposure of highly soluble drugs **AAPS PharmSciTech**. v.3, n.3, p.86-92. 2001.

ZERBINI, A.P.N.A.; FERRAZ, H.G. Sistemas multiparticulados: minicomprimidos. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.32, n.2, p.149-158. 2011.

ZHANG, Y.; LAW, Y.; CHAKRABARTI, S. Physical properties and compact analysis of commonly used direct compression binders. **AAPS PharmaSciTech**. v.4, n.4, p.489-499. 2003.