

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR O DOSEAMENTO DE CINARIZINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD TO DETERMINE THE ASSAY OF CINARIZIN IN CAPSULES COMPOUNDED

DA SILVA, Derly Oliveira¹; COSTA JUNIOR, Gilberto Ferreira da¹; CARNEIRO, Wilsione José^{1*}.

¹ Universidade Federal de Mato Grosso, Curso de Farmácia, Campus Universitário do Araguaia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Brasil.

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

Received 25 November 2022; received in revised form 08 December 2022; accepted 10 February 2023

RESUMO

Introdução: A cinarizina é um vasodilatador cerebral utilizado em doenças do labirinto que é um distúrbio caracterizado por tonturas, desvios de marcha ou sensação de queda. Pelo fato do controle de qualidade das cápsulas magistrais contendo cinarizina ser limitado, e pela dificuldade de acesso de monografias farmacopéicas oficiais deste fármaco, há a necessidade de desenvolver um método analítico confiável e seguro para realizar a quantificação de cinarizina em cápsulas. **Objetivos:** Este trabalho tem por objetivo desenvolver e validar um método analítico para determinar o doseamento de cinarizina em cápsulas por espectrofotometria na região do UV que seja de fácil execução, baixo custo e que ofereça confiabilidade nos resultados de doseamento. **Métodos:** Utilizou a RDC N° 166, de 24 de julho de 2017, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, como sendo o guia para realizar a validação do método analítico. **Resultados e discussão:** O método proposto foi linear na faixa de 5,833 a 10,833 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e apresentou resultados de coeficiente de correlação linear e de Person semelhantes (0,999), seletividade/especificidade (0,14 %), limites de detecção (130, 20 ng/mL) e quantificação (260, 40 ng/mL) satisfatórios em 251 nm. Os resultados de precisão (DPR Precisão rep.: 2,89 %; DPR Precisão inter.: 1,07 %) e exatidão (CQB= 99,96 %, CQM= 100,02 % e CQA= 100,06 %) cumpriram com os parâmetros de validação. A robustez foi comprovada e o método analítico não sofre variações significativas a pequenas deliberações. Após a validação foi determinado o doseamento de cinarizina em cápsulas de Farmácias do comércio varejista de Barra do Garças – MT. Os resultados de teor encontrados atenderam o preconizado pela Farmacopéia Brasileira 6ª Edição. **Conclusões:** O método analítico validado apresentou ser linear, específico, exato, preciso e robusto e permite determinar o doseamento de cinarizina em cápsulas magistrais de maneira simples, com baixo custo e fornece resultados confiáveis.

Palavras-chave: Cinarizina, teor e validação de método analítico.

ABSTRACT

Background: Cinnarizine is a brain vasodilator used in labyrinth diseases, a disorder characterized by dizziness, gait deviations, or falling. The quality control of compounded capsules containing cinnarizine is limited. Because of the difficulty accessing official pharmacopeia monographs of this drug, there is a need to describe an analytical method that is reliable and safe to perform the quantitative determination of cinnarizine in capsules. **Aim:** This work aims to develop and validate an analytical method to determine cinnarizine assay in capsules by spectrophotometry in the UV region that is easy to perform, low cost, and offers reliability in the dosage results. **Methods:** The RDC n°. 166, of 24 July 2017, of the National Health Surveillance Agency, was used as the guide for validating analytical methods. **Results and Discussion:** The proposed method was linear in the range of 5.833 to 10.833 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and presented similar results of linear and Person correlation coefficient (0.999), selectivity/specificity (0.14 %), detection limits (130, 20 ng/mL), and quantification (260, 40 ng/mL) at 251 nm. The accuracy results (DPR Rep. accuracy: 2.89 %; DPR Inter. accuracy: 1.07 %) and precision (CQB= 99.96 %, CQM= 100.02 %, and CQA= 100.06 %) complied with the validation parameters. The robustness has been proven, and the analytical method does not vary significantly from small deliberations. After validation, the assay of cinnarizine in capsules of pharmacies of the retail trade of Barra do Garças - MT was determined. The results were found to comply with Farmacopéia Brasileira 6th Edition

requirements. **Conclusions:** The validated analytical method proved to be linear, specific, accurate, and robust and allows the determination of the dosage of cinnarizine in compounded capsules in a simple way, with low cost, and provides reliable results.

Keywords: Cinnarizine, assay, and validation of the analytical method.

1. INTRODUÇÃO:

A labirintite ou doença do labirinto é um distúrbio caracterizado por tonturas, desvios de marcha ou sensação de queda. Pode afetar crianças e adultos, com maior predominância em idosos, e é causada por infecções virais ou bacterianas. Segundo a Organização Mundial da Saúde, em até 2025 o Brasil será o sexto país em número de idosos, o que acarretará uma maior incidência de relatos desta enfermidade, com consequente aumento na prescrição de fármacos relacionados a esta doença, como por exemplo, a cinnarizina (CNZ) que é utilizada no tratamento da labirintite (Rang, Ritter e Dalle, 2011; Scherer *et al.*, 2012).

A CNZ (Figura 1) é um fármaco utilizado para o tratamento de distúrbios circulatórios periféricos e de equilíbrio e é derivada da piperazina, e amplamente prescrita em todo território nacional (ANVISA, 2016). Ela atua no bloqueio dos canais de cálcio do tipo T e receptores H1 de Histamina. Possui absorção gastrointestinal e se liga a 91 % das proteínas plasmáticas. A concentração plasmática máxima de CNZ é obtida na circulação sistêmica entre 1 a 3 horas após sua ingestão e a meia vida inicial é de 4 horas (Cezarino, 2010).

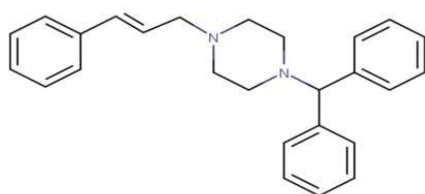


Figura 1. Estrutura química de CNZ

A CNZ possui fórmula e peso molecular de $C_{16}H_{28}N_2$ e 368,5 u, respectivamente. É caracterizada como um pó branco ou amarelado não solúvel em água, porém solúvel em meio ácido. A CNZ é disponibilizada no mercado brasileiro na forma farmacêutica de comprimidos, nas concentrações de 25,00 mg e 75,00 mg, mas

também pode ser encontrada na forma farmacêutica de cápsulas, produzidas pelas farmácias magistrais em todo território brasileiro (Cezarino, 2010).

Dentre os medicamentos manipulados as formas farmacêuticas sólidas são as mais prescritas. As cápsulas são as mais empregadas, porque apresentam maior versatilidade e proporciona flexibilidade de dosagem, o que possibilita a manipulação de medicamentos específicos e adequados às necessidades de cada paciente (Allen Jr., 2017; Bonfilio *et al.*, 2011; Fiese e Hagen, 2001; Leal *et al.*, 2014).

A determinação da dosagem de fármaco em uma formulação magistral é essencial para manter a qualidade do produto acabado. Para garantir esta qualidade é necessário que os métodos analíticos apresentem resultados seguros durante as análises químicas. Para isso, é de fundamental importância realizar o desenvolvimento e a validação de métodos analíticos. Estes estudos garantem que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, além de assegurar a confiabilidade dos resultados encontrados (Banker e Anderson, 2001; Diefenbach, 2007; Laporta *et al.*, 2013).

Não consta na Farmacopeia Brasileira 6ª Edição (Ed.) uma monografia específica para determinar o doseamento de CNZ em cápsulas. A literatura apresenta poucos métodos analíticos referentes à determinação do teor de CNZ, e diante disso, há a necessidade de desenvolver e validar um método analítico que seja preciso e exato (Brasil, 2022; Laporta *et al.*, 2013).

É encontrado na literatura vários trabalhos que descrevem as diferentes técnicas analíticas para a quantificação de CNZ, dentre as mais comuns podemos citar as análises por cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e espectrofotometria no ultravioleta (UV) (Gehring *et al.*, 2011).

Este trabalho tem por objetivo desenvolver e validar um método analítico para determinar o doseamento de CNZ em cápsulas magistrais por espectrofotometria na região do UV. O método analítico proposto será de fácil execução, baixo

custo e oferecerá confiabilidade nos resultados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

2.1. Padrão de Referência Secundário, Amostras, Soluções e Reagentes

Foi utilizado por doação o padrão de referência secundário (PRS) de CNZ com grau de pureza de 99,80 %. Foram desenvolvidas três (3) diferentes formulações farmacêuticas contendo 75,00 mg de CNZ por cápsula. Estas unidades foram manipuladas para conter um peso médio de 250,00 mg. As especialidades farmacêuticas desenvolvidas e manipuladas foram denominadas de A, B e C. Os excipientes empregados nas manipulações foram: lactose, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal, lauril sulfato de sódio e estearato de magnésio (Allen Jr., 2017; Bowe, 1998; Jackson, Yong e Pant, 2000; Jivraj, Martini e Thonson, 2000; Ramos e Morais, 2013; Souza, Aléssio e Gomes, 2009). Preparou-se uma formulação placebo, isenta de fármaco, nas mesmas concentrações das especialidades farmacêuticas A, B e C.

Em duas Farmácias de Barra do Garças (Mato Grosso, Brasil) foram adquiridas cápsulas com 75,00 mg de CNZ. Estas especialidades farmacêuticas adquiridas no comércio varejista foram denominadas de D e E. Os excipientes farmacêuticos das formulações farmacêuticas A, B e C eram semelhantes em composição dos produtos D e E.

As soluções controle de qualidade nas concentrações de 5,833 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 10,833 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de CNZ, são respectivamente denominadas de controles de concentração baixa (CQB), média (CQM) e alta (CQA) (Brasil, 2017; ICH, 1996).

A solução de ácido clorídrico (HCl) a 0,1 mL^{-1} foi preparada a partir do ácido concentrado a 37 % e como diluente foi utilizado água purificada por osmose reversa (Brasil, 2022).

O HCl a 37 % utilizado para preparar as soluções diluentes apresenta grau analítico adequado e foi obtido através da Tédia LTDA, Brasil.

2.2 Equipamentos

Balança analítica (Eletronic balance modelo FA-2104N); pHmetro (Mettler toledo, mPA210); aparelho ultrasonic (Marca unique modelo ultracleaner 1400); espectrofotômetro UV (Bioespectro modelo SP-220); centrifuga (Excelsa baby I modelo 206) e micropipeta da high tech lab (Modelo labmate+).

2.3 Preparo das Formulações Farmacêuticas Simuladas

Foram utilizadas para análise 3 (três) formulações farmacêuticas simuladas e distintas, denominadas de A, B e C, todas com dosagem de 75,00 mg de CNZ e peso médio de 250,00 mg. Os excipientes selecionados para a manipulação das cápsulas foram: lactose, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal, lauril sulfato de sódio e estearato de magnésio (Allen Jr., 2017; Bowe, 1998; Jackson, Yong e Pant, 2000; Jivraj, Martini e Thonson, 2000; Ramos e Morais, 2013; Souza, Aléssio e Gomes, 2009). Para cada preparação farmacêutica A, B e C foi manipulada uma formulação placebo, conforme as concentrações estabelecidas na Tabela 1, porém isentas de CNZ.

Tabela 1. Composição e concentrações das matérias primas utilizadas nas formulações farmacêuticas A, B e C das cápsulas com 75,00 mg de CNZ.

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

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

Para o preparo das formulações farmacêuticas A, B e C, descritas na tabela 1, foram pesadas separadamente cada matéria prima. Em seguida, cada formulação foi transferida para um recipiente adequado, afim de realizar o processo de mistura dos componentes da formulação farmacêutica.

2.4 Preparo da Solução Contendo CNZ PRS

A solução contendo o PRS foi preparada, solubilizando-se 83,33 mg de CNZ em balão volumétrico de 100,0 mL e foi utilizado HCl 0,1 mL⁻¹ como diluente. Foram realizadas diluições sucessivas até obter uma solução com concentração de 8,333 µg mL⁻¹.

2.5 Preparo das Soluções Amostrais

Foi utilizado o conteúdo de 10 (dez) cápsulas de CNZ preparadas conforme demonstrado na Tabela 1. Após homogeneização deste *pool*, foram pesados o equivalente a 83,33 mg de CNZ e transferido para um balão volumétrico de 100,00 mL. Foram adicionados 50,00 mL de HCl 0,1 mL⁻¹ no balão volumétrico e este foi levado ao aparelho de ultrassom até ocorrer a solubilização de CNZ. Em seguida, completou-se o volume final do balão volumétrico e homogeneizou. Esta solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta. Transferiu 1,00 mL do filtrado para balão volumétrico de 100,00 mL e completou o volume final com HCl 0,1 mL⁻¹. A concentração das soluções amostrais das especialidades farmacêuticas A, B, C, D e E foi 8,333 µg mL⁻¹ de CNZ.

2.6 Padronização das Condições Analíticas do Método de Análise

As leituras das soluções analíticas foram realizadas por espectrofotometria no ultravioleta no comprimento de onda de 251 nm e para isso foi utilizado uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Para a obtenção do branco foi utilizado o solvente HCl 0,1 mL⁻¹. As leituras das soluções foram realizadas em triplicatas e os experimentos foram conduzidos ao abrigo da luz.

2.7 Validação do Método Analítico por Espectrofotometria na Região do UV

Foi utilizado a Resolução da Diretoria Colegiada Nº 166, de 24 de julho de 2017, referente ao guia para validação de métodos analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os parâmetros avaliados foram: seletividade/especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação e robustez. As recomendações da ICH (The international Conference on Harmonisation of Technical Requirements for

2.7.1 Seletividade/Especificidade

Este parâmetro tem a finalidade de determinar se haverá interferência dos excipientes nas formulações A, B e C, conforme demonstrado na Tabela 1. A seletividade/especificidade foi avaliada pela análise das soluções: placebos A, B e C e suas respectivas formulações farmacêuticas simuladas contendo CNZ na concentração de 8,333 µg mL⁻¹. Para a leitura destas soluções foi preparado uma solução contendo o PRS de CNZ na mesma concentração das formulações farmacêuticas simuladas (8,333 µg mL⁻¹). Todas as soluções foram diluídas em HCl a 0,1 mL⁻¹ e, posteriormente foram realizadas as varreduras espectrais na faixa de 200 a 400 nm utilizando o espectrofotômetro ultravioleta.

2.7.2 Linearidade e Faixa

Foi determinada pela análise de cinco pontos distintos, a fim de avaliar a relação linear entre as concentrações de CNZ e as absorvâncias obtidas na faixa de 5,833 a 10,833 µg L⁻¹. Para avaliar cada ponto da curva de calibração foram preparadas soluções nas concentrações de 5,833; 6,666; 8,333; 9,999 e 10,833 µg L⁻¹. Após obter a leitura das absorvâncias em cada ponto a linearidade foi prevista pelo cálculo de regressão linear e pelo coeficiente de correlação de Pearson.

2.7.3 Exatidão

Foi determinada através da adição de quantidades conhecidas de PRS de CNZ para obtenção das soluções de CQB, CQM e CQA, aos quais foi adicionado o placebo da formulação B (Tabela 1). Cada concentração foi preparada em triplicata, totalizando 9 (nove) determinações. Os valores obtidos de exatidão foram expressos em porcentagens, e a recuperação de CNZ foi registrada a partir das respostas analíticas obtidas em relação a quantidade teórica de fármaco em cada concentração de controle de qualidade.

2.7.4 Precisão

As precisões do tipo repetibilidade e intermediária foram determinadas através da análise das absorvâncias dos CQB, CQM e CQA.

As análises da precisão intermediária foram realizadas em dias e por analistas diferentes, porém no mesmo laboratório. Cada concentração de controle de qualidade foi preparada em três réplicas e lida em triplicata. O desvio padrão relativo (DPR) foi obtido e avaliado a partir das leituras das soluções.

2.7.5 Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

Os LD e LQ foram avaliados por espectrofotometria no ultravioleta, a partir da concentração de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para ambos os limites foram realizadas diluições e leituras gradativas, em triplicata, até se obter a menor concentração possível, de maneira precisa e confiável. Os resultados foram determinados pela análise do DPR.

2.7.6 Robustez

Neste parâmetro, variou-se a concentração de HCl (0,08 M), comprimento de onda (252 nm), mudança de marca de solventes (Vetec), temperatura (30 °C) e pH da solução de HCl 0,1 mL^{-1} (1,5). A concentração de trabalho de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi utilizada para avaliar a robustez do método analítico. Após variação das condições de robustez o DPR foi determinado.

2.7.7 Avaliação da Estabilidade de CNZ em HCl 0,1 mL^{-1}

Foram preparadas soluções de CNZ com o PRS e com uma amostra simulada referente a formulação farmacêutica B, ambas na concentração de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em HCl 0,1 mL^{-1} . As soluções foram armazenadas em temperatura ambiente (25,0 \pm 0,5 °C) e ao abrigo da luz, por um intervalo de tempo de 16 horas. Após este período, foram obtidas as absorvâncias das soluções por espectrofotometria no comprimento de onda de 251 nm, e em seguida foram avaliados os DPR das leituras encontradas de cada tempo de análise.

2.7.8 Aplicação do Método Analítico Validado para Determinar CNZ em Cápsulas Magistrais

O doseamento de CNZ em cápsulas magistrais das especialidades farmacêuticas D e E foi determinado de forma individual pelo método analítico espectrofotométrico anteriormente

descrito e validado.

Para isso, foi utilizado o conteúdo de 10 (dez) cápsulas magistrais contendo CNZ. Após homogeneização deste *pool*, foram pesados o equivalente a 83,33 mg do fármaco e transferido para um balão volumétrico de 100,0 mL. Em seguida, foram adicionados 50 mL de HCl 0,1 mL^{-1} no balão volumétrico, e este foi levado ao aparelho de ultrassom até ocorrer a solubilização da CNZ. Em seguida, completou-se o volume final do balão volumétrico e homogeneizou. Esta solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta. Transferiu 1,00 mL do filtrado para balão volumétrico de 100,00 mL e completou o volume final com HCl 0,1 mL^{-1} . A concentração de trabalho das soluções é de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de CNZ.

Para a quantificação de CNZ em cápsulas, foi utilizada a curva de calibração descrita no estudo de linearidade. Mediram-se as absorvâncias das soluções em 251 nm, utilizando-se HCl 0,1 mL^{-1} para ajuste do zero.

2.7.9 Estatística dos Dados

Foi realizada a análise descritiva dos dados através da resposta dos resultados de cada parâmetro avaliado. A avaliação estatística dos resultados foi realizada utilizando o software Excell® (Microsoft, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Resultados

A avaliação do comprimento de onda de CNZ foi determinada pela varredura entre 200 a 400 nm no espectrofotômetro ultravioleta de soluções que continham o PRS e formulação farmacêutica B, ambas na concentração de 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de CNZ. A solução placebo, isenta de fármaco, também foi avaliada para verificar a interferência dos excipientes na leitura espectrofotométrica. O espectro de varredura de CNZ em HCl 0,1 mL^{-1} apresentou absorção máxima no comprimento de onda de 251 nm.

A seletividade/especificidade do método analítico foi determinada pela capacidade de detecção e quantificação de possíveis interferentes dos excipientes na formulação de CNZ das cápsulas magistrais. A maior interferência do placebo encontrado neste trabalho foi de 0,28 %, correspondente ao placebo A. Os demais (B e C) apresentaram resultados

semelhantes (0,14 %).

A curva analítica obtida no teste de Linearidade foi gerada a partir de cinco determinações distintas com concentrações em 5,833; 6,666; 8,333; 9,999 e 10,833 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A curva analítica obtida obedece a seguinte equação da reta $y = 0,0039x - 0,0552$, e o coeficiente de correlação linear (r) encontrado atende a resolução em vigor ($r = 0,999$).

Foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson (C_p), que mediu o grau da correlação entre as concentrações utilizadas para a construção da curva de calibração no teste de linearidade. O C_p obtido foi de 0,999 e este resultado estabelece um forte grau de dependência estatística entre as concentrações estabelecidas no ensaio de linearidade.

A exatidão é definida pela relação entre a proximidade dos resultados encontrados em comparação com os valores teóricos. Na Tabela 2, estão representados os resultados dos controles de qualidade avaliados para o ensaio de exatidão. Os valores encontrados de recuperação estão compreendidos na faixa de 99,96 a 100,06 % e o maior coeficiente de variação obtido foi de 1,63 %.

O ensaio de precisão tem por objetivo avaliar a dispersão entre os dados obtidos nos três diferentes níveis de concentrações dos controles de qualidade (CQB, CQM e CQA). Na repetibilidade foi obtido um maior DPR = 2,89 %. A precisão intermediária, que avalia a variação de ensaios realizados em dias e com analistas diferentes, mostrou um maior DPR = 1,07 %. Os resultados do parâmetro de precisão estão expressos na Tabela 3.

Os valores encontrados de LD e LQ foram de 130, 20 ng/mL e de 260,40 ng/mL , respectivamente. A avaliação dos limites foi realizada pela análise do DPR dos resultados encontrados e os valores obtidos não ultrapassaram os 5,00 % do estabelecido pela resolução vigente (Brasil, 2017). Os valores encontrados de LD e LQ confirmam que o intervalo de trabalho deste método analítico (5,833 a 10,833 $\mu\text{g mL}^{-1}$) está em conformidade com os parâmetros estabelecidos.

No teste de robustez foram avaliados os comportamentos dos dados obtidos em relação à concentração de HCl, comprimento de onda,

marca do solvente, temperatura e pH da solução de HCl 0,1 mL^{-1} . Os valores encontrados de robustez estão demonstrados na Tabela 4. Os resultados obtidos de DPR no teste de robustez foram menores que o preconizado pela resolução vigente (DPR $\leq 2,00\%$) (ANVISA, 2017). Pelos valores demonstrados, constata-se que o método analítico é robusto a pequenas variações. Os dados obtidos garantem confiança nas análises realizadas por diferentes analistas e equipamentos.

No estudo da robustez, também foi avaliada a estabilidade das soluções analíticas. Pelos resultados demonstrados na Tabela 4, é observado que as soluções que contêm o PRS e a formulação farmacêutica B de CNZ se mantiveram estáveis por até 14 h após o preparo. A variação das leituras foi determinada pela análise do DPR, e os valores encontrados não ultrapassaram 2,00 % do preconizado como ideal (Brasil, 2017).

Após a validação do método analítico foi determinado o doseamento de cápsulas magistrais que continham 75,00 mg de CNZ de duas Farmácias da região de Barra do Garças em Mato Grosso. As especialidades farmacêuticas avaliadas foram denominadas de D e E. Os valores obtidos no resultado de teor para CNZ das especialidades D e E, usando o método analítico espectrofotométrico, estão representados na Tabela 5.

3.2. Discussão

Para que um método analítico de doseamento possa ser validado é necessário que este atenda os critérios mínimos preconizados pelas legislações referentes à validação de método analítico estabelecido pela ANVISA e pelas recomendações do ICH. O processo de validação tem por objetivo gerar evidência documental que possa garantir segurança e confiabilidade nos resultados encontrados durante a realização dos testes de controle de qualidade da forma farmacêutica que está sendo analisada (Silva *et al.*, 2016).

Após o teste de varredura espectrofotométrica, obteve-se em 251 nm o espectro de absorção máxima de CNZ. Para a determinação da concentração de trabalho, foi escolhido 8,333 $\mu\text{g mL}^{-1}$, porque a absorbância nesta concentração não ultrapassou o valor de

1,0, sendo então considerada adequada para a avaliação dos demais parâmetros da validação do método analítico (Gomides, Sena e Silva, 2014). Gehring *et al.* (2011) realizaram um ensaio de dissolução com cápsulas contendo CNZ e utilizaram o comprimento de onda semelhante ao deste trabalho.

O estudo de seletividade/especificidade avalia a interferência dos excipientes na formulação, e as possíveis impurezas do fármaco. Os valores observados de interferência são semelhantes com os resultados encontrados por Cassiano *et al.* (2008) e Nogueira *et al.* (2011). Estes autores demonstraram os resultados de interferência do placebo em relação ao fármaco em porcentagem, e os valores de interferência não foram superiores a 2,00 %, semelhante ao encontrado para a CNZ em cápsulas magistrais deste trabalho.

A linearidade deve evidenciar que as absorbâncias encontradas são diretamente proporcionais às concentrações do fármaco na solução. Pelo valor encontrado fica evidente que o parâmetro avaliado pode ser considerado linear para a faixa de leitura avaliada, porque o critério mínimo de aceitação atende os requisitos da ANVISA ($r \geq 0,99$).

O resultado encontrado referente ao C_p está de acordo com o estabelecido pela literatura, que adota uma variação entre - 1 a 1. (Filho e Silva Jr., 2009). Borba *et al.* (2013), obteve resultados de linearidade semelhantes a este trabalho, porém, não há descrição ao teste de Pearson.

Os resultados obtidos no teste de exatidão estão de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos, que preconizam a exatidão entre 98,00 a 102,00 %, com $DPR \leq 2,00$ %. Nos testes de recuperação descritos por Laporta, (2013) e Polonini (2011), ambos os autores obtêm resultados em conformidade com o que é preconizado pela resolução vigente, aplicando uma técnica analítica semelhante ao desenvolvido para CNZ em cápsulas deste trabalho.

O resultado encontrado para o teste de precisão é menor que o parâmetro máximo exigido pela resolução vigente ($DPR \leq 5,00$ %). Corrêa (2019), também avaliou as precisões no método analítico que foi proposto. Ele considerou um grau de confiança de 95,00 % e os resultados encontrados não apresentaram alterações significativas, os valores obtidos demonstraram sucesso na aplicação do parâmetro proposto, semelhante ao que foi encontrado para CNZ neste trabalho.

Os LD e LQ representam os menores valores de concentração que podem ser detectados e quantificados pelo método analítico de forma confiável e precisa. Diante disso, assegura-se que o método proposto é capaz de detectar e quantificar uma ampla faixa de concentrações do fármaco com segurança (Brasil, 2017).

A robustez é determinada pela capacidade do método analítico em resistir a pequenas e deliberadas variações nas condições de análise. Nascimento *et al.* (2011), ao validar o método de Ciprofibrato em comprimidos por espectrofotometria no UV, avaliou a robustez com apenas 1 (uma) deliberação, a marca do solvente, e o parâmetro foi considerado satisfatório. Neste trabalho foram avaliados cinco diferentes deliberações, o que garante maior confiabilidade nos resultados.

No teste de estabilidade da solução analítica o intervalo de análise de 14 horas, permitiu quantificar o fármaco deste trabalho de forma robusta e garante que a CNZ será degradada em porcentagens que atendem os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente (Brasil, 2017).

Os limites especificados pelos métodos gerais da Farmacopéia Brasileira 6ª Ed. para doseamento são de no mínimo, 90,00 % e, no máximo, 110,00 % da quantidade declarada do fármaco. Os resultados experimentais obtidos no teor de CNZ em cápsulas magistrais atendem o preconizado pelos métodos gerais da Farmacopéia Brasileira 6ª Ed., sendo assim, o método analítico desenvolvido e validado pode ser utilizado em análises quantitativas de CNZ em cápsulas magistrais, porque após a avaliação do doseamento das amostras comerciais, foi possível atestar a confiança e segurança do método validado.

4. CONCLUSÕES:

O método analítico validado por espectrofotometria na região do UV apresentou linearidade na faixa estipulada, bem como especificidade, exatidão, precisão e robustez. O método proposto permite determinar o doseamento de CNZ em cápsulas magistrais de maneira simples, com fácil execução, segura, de baixo custo e fornece resultados confiáveis.

5. DECLARAÇÕES

5.1. Limitações do estudo

O estudo é limitado aos ensaios realizados e as condições descritas.

5.2. Agradecimentos

Os autores agradecem a UFMT pelo suporte fornecido ao projeto.

5.3. Fontes de financiamento

Os autores financiaram os custos de desenvolvimento da pesquisa.

5.4. Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse na pesquisa realizada.

5.5. Open Access

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY 4.0) International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third-party material in this article are included in the article's Creative Commons license unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

6. REFERÊNCIAS:

1. Allen JR, L. V. (2017). *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding*. APhA - American Pharmacists Association, 5 ed.
2. Anvisa. Agência nacional de vigilância sanitária. (2016). Adequação da RDC 47, Stugeron®, Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda.
3. Banker, G. S.; Anderson, N. R. Comprimidos. In: Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J. L. (2001). *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. I, cap. 6.
4. Bonfilio, R.; Emerick, G.L.; Netto, A.J.; Salgado, H.R.N. (2011). Farmácia Magistral: Sua importância e seu perfil de qualidade. *Revista Baiana Saúde Pública*, 34(3): 653- 664.
5. Bowe, K. E. (1998). Recent advances in sugar-based excipients. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1(4): 166-173.
6. Brasil, Farmacopeia Brasileira, 6ª Ed. (2022). Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
7. Brasil, Anvisa. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução nº 166, Diário Oficial da União, 24 de julho de 2017.
8. Borba A.A.P., Pereira N.R.R.K.M., Stulzer K.H. (2013). Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria uv para quantificação de carvedilol, *Quim. Nova*, 36(4):582-586.
9. Cassiano, M. N., Barreira C. J., Martins R.R. L., Oliveira V. R., Cass B. Q. (2009). Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas, *Quim. Nova*, 32(4): 1021-1030.
10. Cezarino, P. Y. A. (2010). Cinarizina no tratamento dos sintomas climatéricos, Digital Library, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, USP. São Paulo, SP. USP/FM/DBD-344/10.
11. Corrêa, C.A., Simões R. M., Vasconcelos L. H. (2019). Development and validation of spectrophotometric methodology to determine 5-aminosalicylic acid in drugs assisted with experimental design, *Braz. J. of Develop.*, 5(8):11559-11578.
12. Chiaradia C. M., Collins H. C., Jardim F. S. C. I. (2008). O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos, *Quim. Nova*, 31(3): 623-636.
13. Diefenbach, I.C.F. (2007). Sibutramina: validação de metodologia e avaliação biofarmacotécnica. Dissertação de mestrado (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria.

14. Fiese, E. F.; Hagen, T. A. Pré-formulação. In: Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J. L. (2001). Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1(8).
15. Filho F. B. D., Junior S. A. J. (2009). Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r), Revista Política Hoje, 18(1).
16. Gehring P.A.F., Santos O. M. M., Pereira G. R., Araújo M. B. (2011) Estabelecimento de condições para ensaio de dissolução de cápsulas de cinarizina empregando planejamento fatorial, Quim. Nova, 34(3): 455-461.
17. Ganança M. M., Caovilla H.H., Ganança F.F., Paulino C. A., Branco F., Doná F., Gazzola J. M., Ganaça C. F. (2008). Como Diagnosticar e Tratar Vertigem. RBM-Revista Brasileira de Medicina. 65(12): 6-14.
18. Gomides, L. F.; Sena, M.; Silva, G. R. (2014). Validação da metodologia de identificação espectrofotométrica e doseamento da furosemida em cápsulas. Journal of Applied Pharmaceutical Sciences, 1(3): 4-11.
19. International Conference on Harmonisation – ICH. (1996). Harmonized Tripartite Guidelines. Validation of analytical methodology. Q2(R1). Disponível em <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>.
20. Jackson, K.; Young D.; Pant, S. (2000). Drug–excipient interactions and their affect on absorption. Pharmaceutical Science & Technology Today, 3(10): 336-345.
21. Jivraj, M.; Martini, L. G.; Thomson, C. M. (2000). An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. Pharmaceutical Science & Technology Today, 3(2): 58-63.
22. Laporta L. V., Brum T. F., Júnior F. R. P., Santos M. R., Gonçalves C. A. (2013). Validação de método analítico para avaliação da qualidade de cápsulas de cloridrato de metformina manipuladas, RCFB - Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.
23. Leal, A.S.; Melo, F.P.S.; Gomes, T.C.B.; Santana, A.S.; Cunha, L.H.; Saiki, M. (2014). Avaliação da Qualidade da Sinvastatina Comercializada por Farmácias de Manipulação em Belo Horizonte/MG. Vigilância Sanitária em Debate, 2(1): 69 -74.
24. Nascimento L. N. G., Rosa L. D., Aversi-Ferreira A. T. (2011). Validation of a spectrophotometric method to determine ciprofibrate content in tablets, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 47(1).
25. Nogueira, R., Wollinger W., Silva E. T., Oliveira M. L., Rego P. C. E., Moreira F. G., Barin S. J., Laporta V.L., Mesko F. M., Bittencourt F. C., Rodrigues M. J., Cunha S. V. (2011). Validation of a liquid chromatographic method for determination of related substances in a candidate certified reference material of captopril, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 47(2).
26. Polonini C.H., Santos C. F., Vaz P. U., Brandão F. A. M. (2011). Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação do teor de sinvastatina em cápsulas magistrais, Quim. Nova, 34(3): 516-519.
27. Ramos, G; Morais, D.C.M. (2013). Revisão de literatura sobre excipientes em farmácia de manipulação. Foco: caderno de estudos e pesquisas, 4(5): 11-26.
28. Rang, M.M.; Ritter, H.P.; Dale, J.M. Farmacologia. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2011.
29. Silva S. E., Almeida M., Fregonezi-Nery M.M., Rabito F. M., Junior A. R. V., Madeira B. T., Nixdorf L. S. (2016). Método Analítico para doseamento de Fumarato de Tenofovir Desoproxila por cromatografia líquida. Ver. Bras. Farm., 97(34): 104 – 118.
30. Scherer. S., Lisboa. H.R.K., Paqualotti, A. (2012). Tontura em idosos: diagnóstico otoneurológico e interferência na qualidade de vida. Passo Fundo, RS. Rev Soc Bras Fonoaudiol.
31. Souza, K.J.; Aléssio, P.V.; Gomes, A.J.P.S. (2009). Desenvolvimento de excipientes específico para cápsulas de nifedipina preparadas magistralmente: parte I. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 30(3): 257-261.

Tabela 2. Resultados de recuperação obtidos através da adição de PRS de CNZ em três soluções com diferentes níveis de concentração (CQB, CQM e CQA).

Sol.	Conc. teórica ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Média de CNZ Recuperada		DPR (%)
		($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Exatidão (%) \pm DP (%)	
CQB	5,833	5,831	99,96 \pm 0,10	1,63
CQM	8,333	8,334	100,02 \pm 0,12	1,42
CQA	10,833	10,839	100,06 \pm 0,07	0,65

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

Tabela 3. Resultados de repetibilidade e recuperação intermediárias obtidas por espectrofotométricas no UV de soluções contendo CNZ referentes ao CQB, CQM e CQA.

Soluções	Leituras	Precisão					
		Repetibilidade ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Intermediária ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
		CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
1	1	6,23	8,39	11,08	6,23	8,33	10,84
	2	6,15	8,22	11,23	6,16	8,37	10,94
	3	6,32	8,22	11,19	6,21	8,29	10,90
2	1	6,44	8,33	11,00	6,27	8,33	10,92
	2	6,48	8,29	10,96	6,27	8,25	10,86
	3	6,21	8,39	10,96	6,25	8,18	10,88
3	1	6,09	8,41	11,06	6,18	8,35	10,86
	2	5,97	8,35	11,06	6,19	8,46	10,92
	3	5,99	8,39	11,02	6,23	8,44	10,94
Média		6,208	8,333	11,063	6,222	8,333	10,897
DP		0,18	0,07	0,10	0,04	0,09	0,04
DPR (%)		2,89	0,90	0,86	0,65	1,07	0,32

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

Tabela 4. Resultados referentes à robustez do método por espectrofotometria no UV.

Variável	Condição nominal	Condição alterada	DPR (%)
Concentração de HCl	0,1 M L ⁻¹	0,08 M L ⁻¹	0,13
Comp. Onda	251 nm	252 nm	1,10
Marcas de solvente	Tédia	Vetec	0,83
Temperatura	25 °C	30 °C	0,95
pH	1,2	1,5	1,28
Estabilidade das soluções	Tempo 0	14 horas	1,04

Legenda: HCl: ácido clorídrico e Comp.: comprimento.

Tabela 5. Resultados de doseamento das cápsulas magistrais com 75,00 mg de CNZ das especialidades farmacêuticas D e E adquiridas em Farmácias de Barra do Garças – Mato Grosso.

Especialidades farmacêuticas	Doseamento (%)	DPR (%)
D	102,73	0,51
E	96,81	0,82

Legenda: DPR: desvio padrão relativo.