



# Influência da temperatura em estudos de dissolução de formas farmacêuticas contendo simvastatina

## Temperature effect on dissolution studies of simvastatin pharmaceutical dosage forms

Recebido em 17/11/2011

Aceito em 11/01/2012

Flávia Dias Marques-Marinho<sup>1\*</sup>, Mirella Monique Lana Diniz<sup>1</sup>, José Carlos da Costa Zanon<sup>2</sup>, Ilka Afonso Reis<sup>3</sup>, Angélica Alves Lima<sup>4</sup>, Cristina Duarte Vianna-Soares<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil

<sup>2</sup>Clínica Ouro Cordis, Hospital Santa Casa de Ouro Preto, MG, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Estatística, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil

<sup>4</sup>Departamento de Análises Clínicas, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, MG, Brasil

### RESUMO

O antihiperlipêmico simvastatina está disponível no mercado nacional na forma de comprimidos e cápsulas manipuladas. Método por cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção no ultravioleta ( $\lambda$  238 nm) foi utilizado para quantificar simvastatina em cápsulas e comprimidos em tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M contendo laurilsulfato de sódio 0,5%, pH 7, utilizado como diluente ou meio de dissolução. A estabilidade de curto prazo do fármaco das amostras foi avaliada no diluente, mantido a diferentes temperaturas. A estabilidade de curto prazo (até 24 h) de soluções de simvastatina, não submetidas ao teste de dissolução, foi satisfatória para o fármaco isolado e para cápsulas, o que não se verificou para comprimidos. A estabilidade da simvastatina em soluções mantidas a 22-24 °C por 8 h, após o teste de dissolução foi satisfatória para o fármaco isolado e para cápsulas contendo butilhidroxitolueno como excipiente. Os resultados de amostras de simvastatina cápsulas contendo vitamina B<sub>12</sub> e de comprimidos indicam a necessidade de refrigeração das soluções em estudos de dissolução, caso a análise cromatográfica tenha duração superior a 4 h e 2 h, respectivamente, como descrito.

**Palavras-chave:** Estabilidade de medicamentos, Simvastatina, Cápsulas, Comprimidos, Dissolução/análise.

### ABSTRACT

The antihyperlipidemic simvastatin is available in the national market as compounded capsules and tablets dosage forms. A high performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection ( $\lambda$  238 nm) was used to quantify simvastatin tablets and capsules in 0.5% SDS in monobasic sodium phosphate buffer 0.01 M pH 7, as diluent or dissolution medium. The samples short-term stability was evaluated in the diluent, maintained at different temperatures. The short-term stability (until 24 h) of simvastatin solutions, not submitted to dissolution test was satisfactory for drug and for capsules, what has not been observed for tablets. Simvastatin stability in solutions maintained at 22-24 °C for 8 h, after the dissolution test, was satisfactory for the drug and for capsules containing butylhydroxytoluene, as excipient. Results for simvastatin capsules containing vitamin B<sub>12</sub> and tablets samples indicate the need for cooling the solutions in dissolution studies if chromatographic analysis lasts more than 4 h and 2 h, respectively, as described.

**Keywords:** Drug stability, Simvastatin, Capsules, Tablets, Dissolution/analysis

### INTRODUÇÃO

O ácido 2,2-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexaidro-3,7-dimetil-8-[2-tetraido-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il]etil]-1-naftila[1

S-[1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,8 $\beta$ (2S\*,4S\*),8a $\beta$ ]] butanóico, fórmula química C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>, massa molecular 418,57 g/mol ou

\* Flávia Dias Marques-Marinho, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil, Telefone/fax +55(31)34096959/6975, E-mail: flaviadmar@hotmail.com

sinvastatina (SV) é um antihiperlipêmico inibidor competitivo da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A, envolvida em etapa limitante na biossíntese do colesterol (O'Neil *et al.*, 2006; The United States Pharmacopeia, 2011). SV é uma das estatinas mais vendidas em todo o mundo, seja por prevenir ou tratar a morbidade e mortalidade associadas às doenças cardíacas (Kapur & Musunuru, 2008). No Brasil, a SV está disponível comercialmente nas formas de comprimidos industrializados e cápsulas manipuladas. Uma vez administrada, a forma lactona inativa é convertida (principalmente no fígado) à forma  $\beta$ -hidroxiácida ativa (Figura 1) (Endo *et al.*, 1976; Moghadasian, 1999).

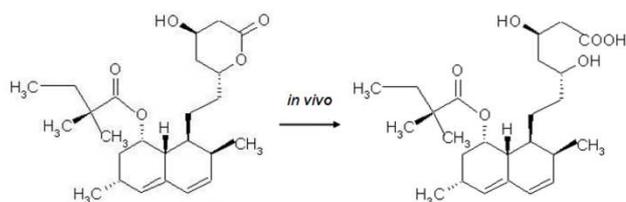


Figure 1. Conversão da lactona sinvastatina (CAS-79902-63-9) ao  $\alpha$ -hidroxiácido correspondente, principalmente no fígado.

Monografias deste fármaco e de suas formas farmacêuticas não constam na Farmacopeia Brasileira (Farmacopeia Brasileira, 2010). Entretanto, textos oficiais para o fármaco e/ou comprimidos são encontrados em compêndios internacionais tais como as Farmacopeias dos Estados Unidos da América (USP), Britânica (BP) e Européia (EP) (The United States Pharmacopeia, 2011; British Pharmacopoeia, 2011; European Pharmacopoeia, 2011). Por outro lado, nelas não há qualquer relato de monografia para SV cápsulas. A quantificação de SV em cápsulas foi realizada por cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV) (Baracat *et al.*, 2009), método esse adotado da monografia SV comprimidos da USP (The United States Pharmacopeia, 2011). Outros métodos por espectrometria no UV (Polonini *et al.*, 2011) e por CLAE (Markman *et al.*, 2010; Marques-Marinho *et al.*, 2011) foram desenvolvidos para quantificação de SV em cápsulas.

A determinação de SV em cápsulas submetidas ao teste de dissolução é descrita por espectrometria no UV após tratamento das soluções com óxido de manganês, conforme monografia SV comprimidos da USP (Baracat *et al.*, 2009; Markman *et al.*, 2010). Alternativamente, SV foi avaliada diretamente por CLAE-UV após o teste de dissolução de cápsulas (Marques-Marinho *et al.*, 2011). Em todos os trabalhos, empregou-se o meio de dissolução descrito na monografia de SV comprimidos (The United States Pharmacopeia, 2011). As soluções de um analito devem permanecer em condições que garantam a sua estabilidade, a qual depende do(s) solvente(s), do(s) excipiente(s), além de fatores externos como luz e temperatura (The United States Pharmacopeia, 2011a). A estabilidade de sinvastatina em água é relatada sob exposição à luz solar e diversas condições de pH (Piecha *et*

*al.*, 2010), mas não sob diferentes temperaturas a partir de suas formas farmacêuticas (cápsulas e comprimidos). Portanto, avaliou-se a estabilidade de curto prazo de SV (fármaco, cápsulas e comprimidos) em meio de dissolução, armazenado sob diferentes temperaturas com posterior determinação direta por CLAE-UV (Marques-Marinho *et al.*, 2011).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Sinvastatina adquirida da Farmacopeia dos Estados Unidos da América (lote I0D382, teor 99,4%, Rockville, MD, EUA) e do fornecedor Pharma Nostra (lote 10010165B, teor 99,2%, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foram utilizadas como substância química de referência e de trabalho (SQT), respectivamente. Sinvastatina 20 mg cápsulas manipuladas contendo lactose associada à vitamina B<sub>12</sub> (amostra A, lote 203056); ao butilhidroxitolueno/BHT (amostras B1 e B2, lotes 201213 e CF3526/1, respectivamente) doadas pela Farmácia Universitária/UFGM (amostras A e B1) ou adquiridas no comércio local (amostra B2); comprimidos Zocor® sinvastatina 20 mg (amostra C, lote LLD034, Merck Sharp & Dohme, Northumberland, Reino Unido) foram utilizados. Metanol grau cromatográfico (Tedia, Fairfield, OH, EUA), ácido fosfórico 85% (Merck, Darmstadt, Alemanha), laurilsulfato de sódio (LSS, lote 143127, LabSynth, Diadema, SP, Brasil), hidróxido de sódio (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EUA) e fosfato de sódio monobásico (J.T. Baker, Xalostoc, EM, México) foram usados como recebidos. Água destilada foi usada no preparo do meio de dissolução e água ultrapura (Direct-Q3, Millipore, Bedford, MA, EUA) no preparo da fase móvel.

### Métodos

Estudos de dissolução (dissolutor DT80, Erweka, Heusenstamm, Alemanha) foram realizados para comprimidos a 50 rpm por 30 min (The United States Pharmacopeia, 2011) e para cápsulas a 75 rpm por 45 min (Marques-Marinho *et al.*, 2011) empregando pás e LSS 0,5% em tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M, pH 7,0 ajustado com hidróxido de sódio 40% v/v (900 mL, 37 $\pm$ 0,5 °C) em potenciômetro (827 pH lab, Metrohm, Herisau, Suíça). Após o tempo de teste, alíquotas (5,0 mL) retiradas das cubas foram filtradas para vials e injetadas (10  $\mu$ L) diretamente em cromatógrafo a líquido HP1200 (Agilent, Palo Alto, CA, EUA). A separação cromatográfica foi realizada em coluna octilsilano (C8e, 250x4 mm, 5  $\mu$ m, Merck, Darmstadt, Alemanha) mantida a 30 °C empregando metanol e ácido fosfórico 0,1% (80:20 v/v) como fase móvel sob fluxo 1,5 mL/min. A detecção no UV com varredura por arranjo de diodos (DAD) foi estabelecida em  $\lambda$  238 nm (Marques-Marinho *et al.*, 2011). Todas as soluções foram filtradas por membranas 0,45  $\mu$ m (Minisart RC15 Sartorius, Goettingen, Alemanha) antes da injeção. As áreas dos picos e as respectivas purezas, avaliadas por meio dos espectros UV/DAD foram empregadas na quantificação de SV.

### Preparo das soluções

Pesou-se quantidade de SQT (triplicata) e de pó proveniente de 10 unidades de cada amostra (cápsulas A, B1, B2; comprimidos C) equivalente a 5,55 mg e a 11,1 mg de SV em balões volumétricos 25 e 50 mL, respectivamente. Adicionaram-se 12 e 25 mL de LSS 0,5% em tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 7 e a solução foi submetida a sonicação (MaxiClean 1400, Unique, São Paulo, Brasil) por 5 e 10 min, respectivamente. Completou-se o volume usando o mesmo diluente e homogeneizou-se. Soluções de SV 22,2 µg/mL foram obtidas pela transferência de 1,0 mL da solução da SQT ou 5,0 mL do filtrado (papel filtro, porosidade média 25 µm) no caso das amostras (A, B1, B2, C), para balões volumétricos de 10 e 50 mL, respectivamente. Completou-se o volume com o mesmo diluente.

### Avaliação da estabilidade

As soluções SV 22,2 µg/mL em meio de dissolução, oriundas da SQT e das amostras (cápsulas A, B1, B2 ou comprimidos C) mantidas a temperatura ambiente controlada (22-24 °C) foram analisadas por CLAE-UV (Marques-Marinho *et al.*, 2011) após 8 h (com intervalo de 1 h para soluções das cápsulas e comprimidos) e após 24 h do preparo.

Soluções obtidas pela adição de 20 mg de SV SQT e de amostras (cápsulas A, B2; comprimidos C) a 900 mL de meio de dissolução (concentração final 22,2 µg/mL) mantido a 37 °C e sob agitação (pás 50 ou 75 rpm) por tempo adequado (30 ou 45 min para comprimidos e cápsulas, respectivamente) foram retiradas das cubas e filtradas para vials (n=2). As soluções dos vials, um mantido à temperatura ambiente (22-24 °C ou 27-28 °C) e outro sob refrigeração (2-8 °C), foram analisadas por CLAE-UV (injeções em duplicata) em intervalos de 1 h durante 8 h.

As soluções foram consideradas estáveis se a variação da resposta, ao longo do tempo, permanecer inferior a ±2% em relação à resposta inicial, ou seja, entre 98 a 102%, para o período avaliado (The United States Pharmacopeia, 2011a).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Há relatos, na literatura, de que a taxa de conversão da forma lactona de SV a seu β-hidroxiácido é maior em soluções aquosas neutras (pH 7) e que a formação de produtos de degradação é mais rápida em soluções ácidas (Piecha *et al.*, 2010). Estes pesquisadores verificaram que em soluções aquosas de SV, principalmente ácidas, tão logo ocorre a conversão à forma ácida, inicia-se a degradação, independentemente da incidência ou não da luz solar, sugerindo uma reação térmica. Esse fato exposto caracteriza uma situação semelhante à do teste de dissolução, em que o tempo e a temperatura são fatores que podem influenciar a estabilidade do fármaco (The United States Pharmacopeia, 2011).

Observou-se no cromatograma da solução de SV 22,2 µg/mL (SQT), diluída em meio de dissolução e mantida 24 h a 22-24 °C que o pico referente ao fármaco eluiu em 5,22 min (fator de retenção k= 4,29) e apresentou espectro UV

característico com pureza 99,9% (Figura 2). Cromatogramas com características de separação e perfis espectrais semelhantes foram obtidos para as demais amostras (A, B1, B2, C) nas mesmas condições.

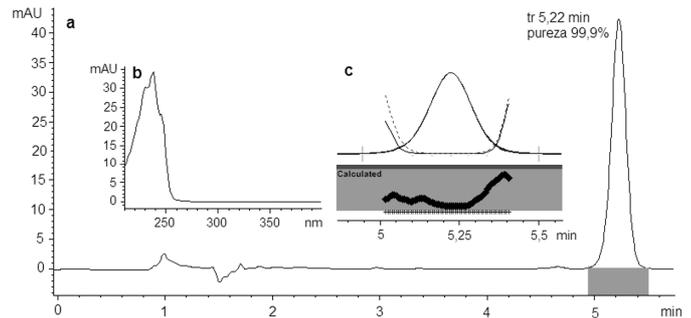


Figura 2. Cromatograma de (a) simvastatina SQT 22,2 µg/mL em meio de dissolução (LSS 0,5% em tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M, pH 7) após 24 h a 22-24 °C, representativo daqueles obtidos para as amostras (A, B1, B2, C); detalhe: (b) respectivo espectro UV/DAD, (c) curva de pureza. Condições cromatográficas: metanol:ácido fosfórico 0,1% 80:20 v/v, 1,5 mL/min, C8e 250x4 mm, 5 µm, 30 °C, 10 µL, λ 238 nm.

As soluções de simvastatina SQT e das amostras A, B1, B2 (cápsulas) (Figura 3) preparadas em meio de dissolução apresentaram-se estáveis durante 24 h a 22-24 °C, com variações (var.) percentuais (inferiores a ±2,0%) em relação à resposta inicial de -0,56; -0,91; -1,78 e -0,88%, respectivamente. No entanto, a solução de SV 22,2 µg/mL da amostra C (comprimidos) foi estável por 3 h apenas com variação de -1,78% a 22-24 °C, mostrando-se instável a partir de 4 h (var. -2,22%) como apresentado na Figura 3. Após 8 h a 22-24 °C (var. -3,92%), a resposta foi reduzida para 96,1% aproximando-se, de valores descritos previamente, para solução do fármaco (isolado) em água pH 7 (94,3%) considerando o mesmo período de tempo (Piecha *et al.*, 2010).

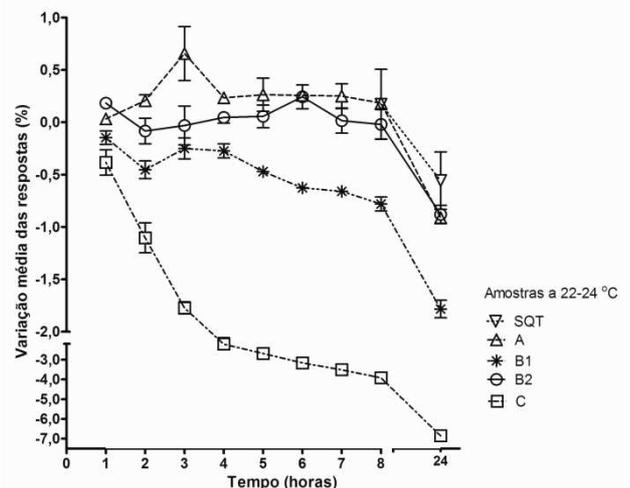


Figura 3. Variação percentual média das respostas de soluções SV 22,2 µg/mL (SQT, A, B1, B2, C) em tampão fosfato de sódio 0,01 M contendo LSS 0,5%, pH 7, mantidas a 22-24 °C e injetadas (n=3) por 24 h para avaliação de estabilidade a curto prazo. Condições cromatográficas: Figura 2.

As soluções de SV 20 mg SQT e cápsulas (amostras A e B2) (Figura 4a), adicionadas ao meio de dissolução a 37 °C sob agitação por pás durante 45 min e mantidas a 2-8 °C foram estáveis por 8 h (período máximo avaliado). As variações máximas foram de 0,54% (8 h); 0,53% (5 h) e 0,33% (8 h) para SQT, A e B2, respectivamente. Considerando os vials mantidos a temperatura ambiente (22-24 °C) por 8 h, as soluções da SQT e da amostra B2 permaneceram estáveis no período avaliado com variações máximas de -0,89% (6 h) e -0,60% (7 h), respectivamente (Figura 4b). Dentre as cápsulas avaliadas, a solução da amostra A apresentou-se estável por um tempo menor, até 4 h (var. 1,77%), com uma variação máxima de 2,18% após 7 h.

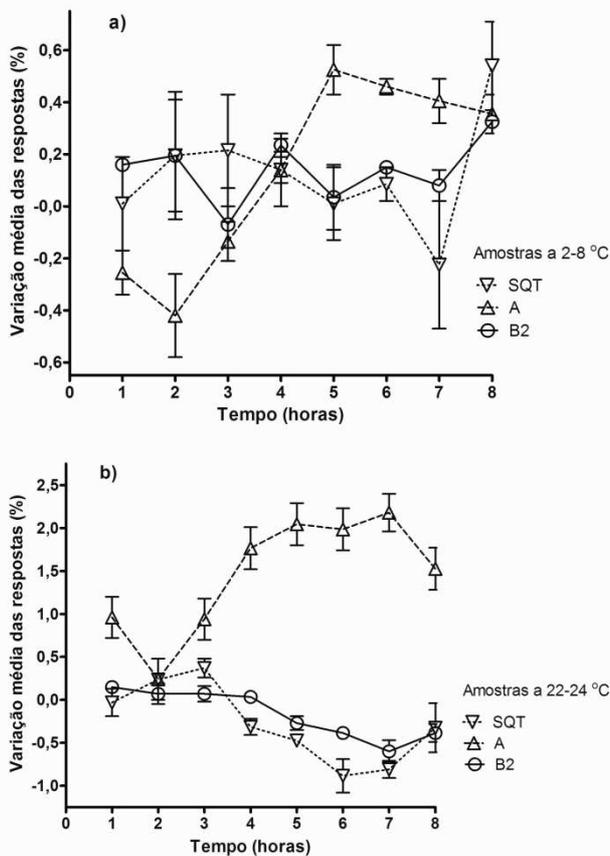


Figura 4. Variação percentual média das respostas de soluções SV 22,2 µg/mL, a partir de SQT e cápsulas (amostras A, B2) submetidas ao teste de dissolução. Alíquotas mantidas a (a) 2-8 °C ou (b) 22-24 °C foram injetadas (n=2) por 8 h para avaliação de estabilidade a curto prazo. Condições do teste de dissolução: LSS 0,5% em tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M, pH 7, 900 mL, 37 °C, pás, 75 rpm, 45 min. Condições cromatográficas: Figura 2.

De acordo com a Figura 5, a estabilidade de SV 20 mg SQT submetida ao teste de dissolução (30 min; 37 °C) e mantida a 22-24 °C e a 2-8 °C por 8 h foi adequada para a solução em ambas as condições de temperatura com variações menores que  $\pm 2\%$  (-0,85 e 0,66%, respectivamente). Por outro lado, o tempo de estabilidade da solução dos comprimidos (amostra C) reduziu conside-

ravelmente com o aumento da temperatura.

Conforme, as variações de resposta observadas, -1,22% (8 h; 2-8 °C), -1,32% (2 h; 22-24 °C) e -1,47% (1 h; 27-28 °C) apresentadas na Figura 5. Similarmente às soluções dos comprimidos (Figura 3), houve redução da resposta para 96,24% na temperatura ambiente 22-24 °C e para 93,51% na temperatura 27-28 °C, após 8 h. Esses valores encontram-se em concordância com a literatura (Piecha *et al.*, 2010).

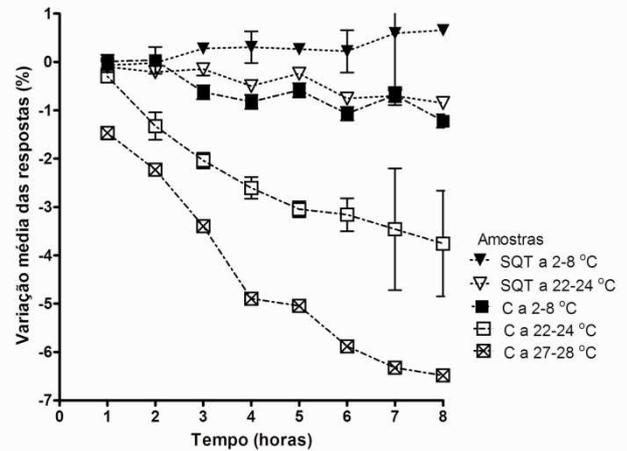


Figura 5. Variação percentual média das respostas de soluções SV 22,2 µg/mL de amostras submetidas ao teste de dissolução. Alíquotas mantidas a 2-8 °C e 22-24 °C (SQT, C); a 27-28 °C (C) foram injetadas (n=2) por 8 h para avaliação de estabilidade a curto prazo. Condições do teste de dissolução: LSS 0,5% em tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M, pH 7, 900 mL, 37 °C, pás, 50 rpm, 30 min. Condições cromatográficas: Figura 2.

Os resultados obtidos sugerem que a estabilidade do fármaco no meio de dissolução descrito depende da composição da amostra (excipientes). A razão para esta afirmativa deve-se ao fato de que as soluções de ambos, fármaco isolado (SQT) e cápsulas contendo BHT (amostras B1, B2, obtidas por diluição e/ou decorrentes do teste de dissolução) não apresentaram problemas quando mantidas nas temperaturas testadas. Comparativamente, as soluções das cápsulas contendo vitamina B<sub>12</sub> (amostra A) e dos comprimidos (amostra C) mostraram-se estáveis por até 4 h e 2 h, respectivamente, quando mantidas a 22-24 °C. Portanto, sugere-se que as soluções devam ser refrigeradas naqueles estudos de dissolução com duração superior a 4 h e 2 h, respectivamente, segundo as análises cromatográficas descritas.

Considerando que cada corrida cromatográfica leva 6 min e que o teste de dissolução (primeira etapa, com 6 unidades) fosse realizado com triplicata de injeções das soluções de cada cuba, o tempo total de análise seria em torno de 120 min. Portanto, pode-se inferir que a manutenção das soluções sob temperatura ambiente controlada (22-24 °C) é uma condição suficiente para garantir a estabilidade necessária até 2 h após o teste de dissolução, de acordo com as condições de análise cromatográfica descritas.

Por outro lado, para experimentos que requeiram a construção de perfis de dissolução, como em estudos de

equivalência farmacêutica, sugere-se, a refrigeração das soluções logo após o estudo, independente da composição da amostra contendo SV, a fim de garantir a estabilidade do fármaco.

## CONCLUSÃO

A avaliação da estabilidade de curto prazo de soluções aquosas de SV (cápsulas e comprimidos) em diferentes temperaturas (refrigerada ou ambiente) é imprescindível para estabelecer as condições experimentais e garantir a adequada execução de estudos de dissolução, tendo em vista a influência dos excipientes.

## AGRADECIMENTOS

À Fapemig pelo apoio financeiro e à CAPES, pela bolsa de doutoramento à Marques-Marinho, F.D.

## REFERÊNCIAS

Baracat MM, Montanher CLS, Kubacki AC, Martinez RM, Zonta GAN, Duarte JC, Nery MMF, Gianotto EAS, Georgetti SR, Casagrande R. Avaliação da qualidade de formulações manipuladas e industrializadas de sinvastatina. *Lat. Am. J. Pharm.* 28(3): 427 – 432, 2009.

British Pharmacopoeia. *Simvastatin, Simvastatin Tablets*. London: The Stationery Office, 2011.

Endo A, Kuroda M, Tisujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinium*. *J. Antibiot.* 29(12): 1346 – 1348, 1976.

European Pharmacopoeia. 7 ed. *Simvastatin*. Strasbourg: Directorate of Quality of Medicines of the Council of Europe, 2011.

Farmacopeia Brasileira. 5 ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Anvisa, 2010.

Kapur NK, Musunuru K. Clinical efficacy and safety of statins in managing cardiovascular risk. *Vasc. Health Risk Manag.* 4(2): 341 – 353, 2008.

Markman BEO, Rosa PCP, Koschtschak MRW. Avaliação da qualidade de cápsulas de sinvastatina de farmácias magistrais. *Rev. Saúde Pública.* 44(6): 1055 – 1062, 2010.

Marques-Marinho FD, Zanon JCC, Sakurai E, Reis IA, Lima AA, Vianna-Soares CD. Quality evaluation of simvastatin compounded capsules. *Braz. J. Pharm. Sci.* 47(3): 495 – 502, 2011.

Moghadasian MH. Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Life Sci.* 65(13): 1329 – 1337, 1999.

O'Neil MJ, Heckelman PE, Koch CB, Roman KJ, Kenny CM, D'Arecca MR. The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biological. 14. ed. Whitehouse Station: Merck & Co, 2006. 2564 p.

Piecha M, Sarakha M, Trebse P, Kocar D. Stability studies of cholesterol lowering statin drugs in aqueous samples using HPLC and LC-MS. *Environ. Chem. Lett.* 8: 185 – 191, 2010.

Polonini HC, Santos FC, Vaz PU, Brandão MAF. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação do teor de sinvastatina em cápsulas magistrais. *Quim. Nova.* 34(3): 516 – 519, 2011.

The United States Pharmacopeia. 34. ed. *Simvastatin, Simvastatin Tablets*. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011.

The United States Pharmacopeia. 34. ed. *The dissolution procedure: development and validation <1092>*. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011a.