

## Avaliação biofarmacêutica *in vitro* de cápsulas de fluconazol

Valentina Porta\*, Érika Yamamichi, Sílvia Storpirtis

Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

*Atualmente, no mercado brasileiro, vários laboratórios farmacêuticos comercializam produtos a base do antifúngico fluconazol na forma de cápsulas de 150 mg. Pretendeu-se, neste trabalho, realizar avaliação biofarmacêutica *in vitro* de três formulações do mercado nacional contendo fluconazol, designadas por produtos A, B e C. Após desenvolvimento e padronização do método de dissolução, avaliou-se a cinética de dissolução de cápsulas de fluconazol provenientes de dois lotes de cada produto por meio dos parâmetros  $k_s$  (constante de velocidade de dissolução) e  $t_{85\%}$  (tempo necessário para dissolução de 85% do fármaco presente na forma farmacêutica), derivados dos perfis de dissolução. Obteve-se  $k_s$  de  $0,1377 \text{ min}^{-1}$  e  $0,1079 \text{ min}^{-1}$  para os lotes de A,  $0,5421 \text{ min}^{-1}$  para os lotes de B e  $0,0354 \text{ min}^{-1}$  e  $0,0146 \text{ min}^{-1}$  para os lotes de C.  $t_{85\%}$  foi de 15,09 min e 20,06 min para os lotes de A, 5,64 min e 6,02 min para os lotes de B e 132,12 min e 56,05 min para os lotes de C. Concluiu-se que a dissolução de fluconazol em cápsulas segue cinética de primeira ordem para os três produtos avaliados, sendo que o produto B apresenta maior velocidade de dissolução do fármaco, seguido pelo produto A e pelo produto C.*

### Unitermos:

- Fluconazol
- Cápsulas
- Avaliação biofarmacêutica
- Perfil de dissolução
- Cinética de dissolução

### \*Correspondência:

Valentina Porta  
Departamento de Farmácia FCF – USP  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580  
05508-900  
São Paulo – SP – Brasil  
e-mail: vporta@usp.br

## INTRODUÇÃO

A absorção de fármacos após administração de medicamentos por via oral depende de série de processos. Particularmente no caso de formas farmacêuticas sólidas, a absorção acontecerá após adequadas desintegração, dissolução e liberação do fármaco (Langenbucher, 1978). Assim, diversos fatores relacionados à forma farmacêutica podem afetar a absorção e, conseqüentemente, a biodisponibilidade (Führer, 1978; Razdan, Verma, 1992; Sjögren, 1978).

A existência de influência da forma farmacêutica sobre a absorção de fármacos era conhecida já em 1902, quando surgiram relatos de tentativas de avaliação da desintegração de formas farmacêuticas sólidas orais por meio da observação de seu comportamento em água (Ganderton, 1978; Lowenthal, 1972). Em 1950, a Farmacopéia Americana incluiu, em algumas monografias, o teste de desintegração e, em 1970, o teste de dissolução (Abdou, 1989).

A partir de então, surgiram diversos trabalhos com o objetivo de estabelecer correlação entre os parâmetros

da dissolução *in vitro* e os parâmetros relativos aos estudos de biodisponibilidade *in vivo* (correlações *in vitro*–*in vivo* ou correlações *in vivo*) (Aoyagi *et al.*, 1982; Avico *et al.*, 1976; Bramanti, 1973; Dey *et al.*, 1989; Drewe, Guitard, 1993; Grđinic *et al.*, 1979; Hayashi *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 1990; Yau, Meyer, 1983).

Atualmente, os ensaios de dissolução constituem importante ferramenta no desenvolvimento de novas formulações (Dredán *et al.*, 1996; Goracinova *et al.*, 1996; O'Hara *et al.*, 1997; Pinho, Storpirtis, 1999; Williams *et al.*, 1991) e na garantia de qualidade dos medicamentos (Steinijans *et al.*, 1988). Estes testes adquirem maior relevância quando podem ser correlacionados com dados obtidos em testes *in vivo*, o que permite prever o comportamento de uma formulação específica no organismo humano a partir de dados obtidos *in vitro*.

No mercado brasileiro, vários laboratórios farmacêuticos comercializam produtos a base de fluconazol para tratamento de candidíase vaginal e dermatomicoses, na forma de cápsulas de 150 mg, mas apenas um destes produtos é genérico (Dicionário de especialidades farmacêuticas, 2000). Fatores econômicos tornam interessante a utilização de genéricos e similares como alternativa aos produtos originais, desde que se garantam segurança e eficácia equivalentes.

Assim, torna-se interessante realizar avaliação de cápsulas contendo fluconazol por meio de ensaios de dissolução, uma vez que os mesmos podem fornecer indicações importantes sobre o desempenho *in vivo* destes medicamentos.

O presente trabalho teve, por objetivo, avaliar a qualidade biofarmacêutica de cápsulas contendo fluconazol em amostras provenientes de diversos lotes e fabricantes do mercado nacional de produtos considerados similares, por meio de ensaios físicos e físico-químicos (teor de fármaco, peso médio, uniformidade de conteúdo e cinética de dissolução).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas amostras de cápsulas gelatinosas duras contendo 150 mg de fluconazol de três produtos, que, no presente trabalho, serão designados por produto A (lotes A1 e A2), produto B (lotes B1 e B2) e produto C (lotes C1 e C2).

Utilizaram-se, nas análises, padrão de referência secundário de fluconazol e amostra simulada do produto farmacêutico, sem fármaco (contendo apenas os excipientes), fornecidos por Laboratórios Sintofarma S.A.

## Desenvolvimento e validação de método para quantificação de fluconazol

O fluconazol não está inscrito em compêndios oficiais. Atay e Selçuk (1996) descrevem métodos para sua quantificação utilizando espectrofotometria com detecção no infravermelho ou ultravioleta e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), todos com valores semelhantes de sensibilidade. Entre esses três, o método espectrofotométrico com detecção no ultravioleta é o de aplicação mais simples. Entretanto, os autores utilizam, nesse método, o metanol como solvente, o que dificulta a sua utilização em testes de dissolução. Assim, desenvolveu-se, no presente trabalho, método analítico para quantificação de fluconazol em formas farmacêuticas e em amostras provenientes de ensaios de dissolução por espectrofotometria no ultravioleta, empregando ácido clorídrico 0,1 N como solvente.

Verificou-se o espectro de absorção do fluconazol e, com base nos resultados obtidos, padronizou-se o seguinte método para quantificação do fluconazol: preparou-se solução padrão pesando-se exatamente cerca de 100 mg de fluconazol (padrão de referência), que foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1 N. Retiraram-se 10 mL desta solução que foram diluídos com ácido clorídrico 0,1 N em balão volumétrico de 50 mL. A solução, amostra foi preparada pesando-se exatamente quantidade de amostra equivalente a cerca de 100 mg de fluconazol, que foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1 N. Retiraram-se cerca de 12 mL desta solução que foram centrifugados a 2000 rpm por 10 minutos. Diluíram-se 10 mL do sobrenadante com ácido clorídrico 0,1 N em balão volumétrico de 50 mL. Procedeu-se à leitura das absorvâncias das soluções padrão e amostra em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda de 261 nm e ácido clorídrico 0,1 N como branco. A quantidade de fluconazol nas amostras foi calculada da seguinte forma:

$$Q(\text{mg}) = C_p(\text{mg} / \text{mL}) \times \frac{A_a}{A_p} \times \frac{m(\text{mg})}{a(\text{mg})} \times 500\text{mL}$$

em que:

Q = quantidade de fluconazol por cápsula;

$C_p$  = concentração de fluconazol na solução padrão;

$A_a$  = absorvância da solução amostra;

$A_p$  = absorvância da solução padrão;

m = peso médio (ou individual) do conteúdo das cápsulas;

a = quantidade pesada da amostra

A validação foi realizada conforme os critérios estabelecidos pela Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000), através da determinação dos parâmetros exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação e linearidade.

A exatidão foi determinada conforme método definido pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1995) e expressa em termos de porcentagem de recuperação. A precisão foi determinada por meio da análise repetitiva (10 vezes) de amostra simulada no mesmo dia (precisão intradia) e em dias diferentes (precisão interdias) e expressa pelo coeficiente de variação dos resultados destas análises (United States Pharmacopoeia, 1995). A especificidade foi determinada através da análise dos espectros de absorção de amostra simulada sem fármaco (contendo apenas os excipientes) e de cápsulas vazias após diluições em 900 mL de ácido clorídrico 0,1 N (volume de meio utilizado na análise da cinética de dissolução). Verificou-se a existência ou não de interferência com o fluconazol no comprimento de onda utilizado no método de quantificação (261 nm). O limite de detecção foi determinado com base no ruído do espectrofotômetro, conforme método descrito pela Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000). O limite de quantificação foi determinado com base no ruído do espectrofotômetro e confirmado através da análise repetitiva de amostra contendo fluconazol na concentração correspondente ao limite de quantificação, conforme método descrito pela Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000). A determinação da linearidade foi efetuada através da construção da curva de calibração com soluções padrão de fluconazol de diversas concentrações (United States Pharmacopoeia, 2000).

### Desenvolvimento de método para análise da cinética de dissolução

Não existe, ainda, teste oficial de dissolução para

formas farmacêuticas contendo fluconazol. Desta forma, tornou-se necessário, no presente estudo, o desenvolvimento de método para a análise da dissolução do fluconazol em cápsulas gelatinosas duras, que foi, em seguida, aplicado a todas as amostras envolvidas no ensaio.

O desenvolvimento do método para análise da cinética de dissolução de cápsulas contendo fluconazol foi realizado em equipamento de dissolução Hanson Research, modelo SRII equipado com seis cubas. Foram utilizadas cápsulas do produto A, lote A1, as quais foram submetidas a diversas condições de dissolução, variando-se o meio utilizado (900 mL de água ou ácido clorídrico 0,1 N), o equipamento (aparato 1 - cesta ou aparato 2 - pá) e a velocidade de rotação (50, 75 ou 100 rpm). A temperatura foi mantida a 37,0 °C. Essas condições são detalhadas na Tabela I.

As coletas de amostras do meio de dissolução foram realizadas nos tempos 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos para as condições I, IV e VI; 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos para as condições II e V e 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos para a condição III.

Com base nos resultados obtidos, padronizou-se a condição III para análise das cápsulas de fluconazol.

A concentração do fármaco no meio de dissolução foi determinada por espectrofotometria, em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1601. Procedeu-se à leitura da absorvância das amostras do meio de dissolução, após centrifugação a 2000 rpm por 10 minutos, e de solução padrão de fluconazol, utilizando-se comprimento de onda de 261 nm e ácido clorídrico 0,1 N como branco.

### Ensaio físicos e físico-químicos

As amostras foram submetidas às análises de peso médio, teor de fármaco, uniformidade de conteúdo e cinética de dissolução.

**TABELA I** - Condições de dissolução testadas no desenvolvimento de método para análise da cinética de dissolução de cápsulas contendo fluconazol

Condição	Aparato	Meio (900 mL)	Velocidade (rpm)	Temperatura (°C)
I	1 (cesta)	HCl 0,1 N	50	37,0
II	1 (cesta)	HCl 0,1 N	75	37,0
III	1 (cesta)	HCl 0,1 N	100	37,0
IV	2 (pá)	HCl 0,1 N	50	37,0
V	2 (pá)	HCl 0,1 N	100	37,0
VI	1 (cesta)	água	100	37,0

### Peso médio

Esse teste foi realizado conforme descrito na Farmacopéia Britânica (British Pharmacopoeia, 1999).

### Teor de fármaco

Determinou-se, exatamente, por diferença entre os pesos da cápsula cheia e da cápsula vazia, o peso do conteúdo de 10 cápsulas de fluconazol, misturando-se os pós obtidos. Procedeu-se à análise do teor de fármaco por espectrofotometria a 261 nm, preparando-se três soluções padrão e três soluções amostra em ácido clorídrico 0,1N, as quais foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos, tomando-se o sobrenadante para a análise. Utilizou-se, no cálculo, o peso médio do conteúdo das cápsulas. O teor de fármaco foi expresso pela média das três determinações.

### Uniformidade de conteúdo

Esse teste foi realizado conforme descrito na Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000).

### Cinética da dissolução

Utilizou-se equipamento de dissolução Hanson Research, modelo SR11 equipado com seis cubas. Foram analisadas seis cápsulas por lote, nas condições padronizadas no desenvolvimento do método para análise da cinética de dissolução, descrito anteriormente: aparato 1, meio de dissolução constituído por 900 mL de HCl 0,1 N à temperatura de 37 °C e velocidade de rotação de 100 rpm. Coletaram-se amostras de 10 mL nos tempos 2,5, 5,0, 7,5, 10, 15, 20 e 30 minutos. A concentração do fármaco nas amostras foi determinada por espectrofotometria, após centrifugação a 2000 rpm por 10 minutos, conforme descrito anteriormente. A partir dos resultados obtidos construíram-se as curvas “quantidade de fluconazol dissolvida (%) vs tempo (min)”, utilizadas na análise da cinética da dissolução.

Para análise da cinética de dissolução utilizou-se método descrito por El-Yazigi (1981), que consiste em um método gráfico simples para análise da desintegração e dissolução de cápsulas e comprimidos a partir de dados de quantidade dissolvida (%) em função do tempo, além de permitir estimativa das constantes de desintegração e dissolução, através da equação:

$$100 - f_s = \frac{100k_d}{k_d - k_s} e^{-k_s t} - \frac{100k_s}{k_d - k_s} e^{-k_d t}$$

em que:

$f_s$  = quantidade dissolvida de fluconazol acumulada (%) no tempo  $t$ ;

$k_d$  = constante de velocidade de desintegração;

$k_s$  = constante de velocidade de dissolução;

No presente estudo, a desintegração das cápsulas contendo fluconazol ocorreu de forma muito rápida e não pôde ser detectada. Este fato permite uma simplificação do método proposto por El-Yazigi (1981), já que podemos considerar  $k_d \rightarrow \infty$ . Desta forma, a equação apresentada pelo autor pode ser reduzida a:

$$100 - f_s = 100e^{-k_s t}$$

Assim, a construção do gráfico “ln (quantidade de fármaco não dissolvida (%)) vs tempo” resulta em reta com inclinação equivalente a  $-k_s$ .

## RESULTADOS

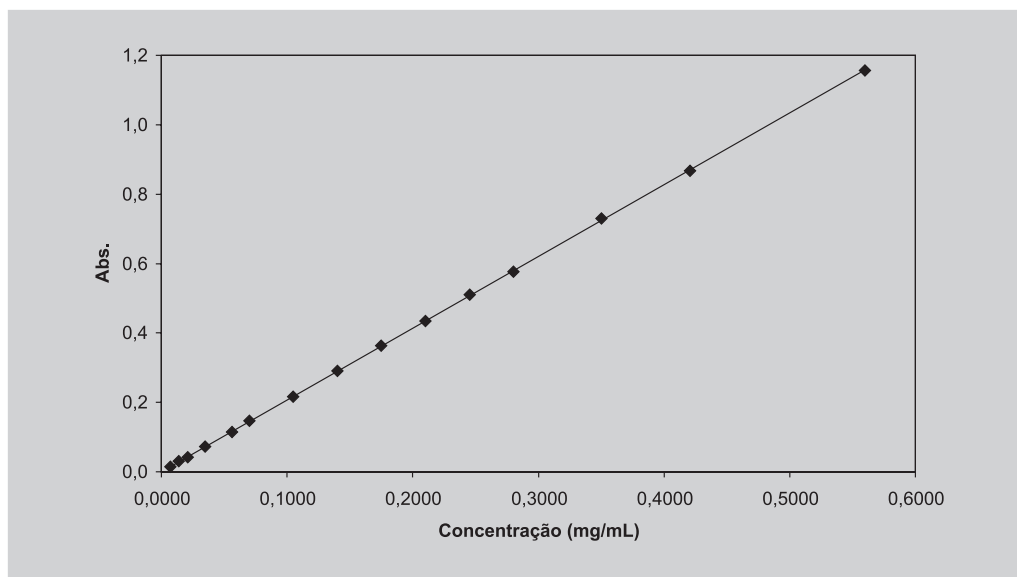
### Desenvolvimento e validação de método para quantificação de fluconazol

O espectro de absorção de solução de 1 mg/mL de fluconazol em ácido clorídrico 0,1 N indicou bandas de absorção em máximo de 261 e 267 nm, correspondendo ao descrito por Atay e Selçuk (1996).

A exatidão do método foi de 98,30%, enquanto que a precisão foi de 1,14% para amostras analisadas no mesmo dia e de 1,69% para amostras analisadas em dias diferentes. A interferência dos excipientes na quantificação do fluconazol foi praticamente inexistente. O limite de detecção determinado para o método foi de 0,0020 mg/mL e o limite de quantificação foi de 0,0080 mg/mL. O método foi linear na faixa de concentração de 0,0080 mg/mL a 0,5601 mg/mL. A reta de calibração está representada na Figura 1 e os parâmetros relativos a ela, na Tabela II. Os resultados da validação do método são apresentados na Tabela III.

### Desenvolvimento de método para análise da cinética de dissolução

A Tabela IV e a Figura 2 apresentam os valores médios de quantidade dissolvida e as curvas médias de “quantidade dissolvida (%) vs tempo (min)”, obtidas ao se submeter o produto A, lote A1, às seis condições de dissolução testadas.



**FIGURA 1** - Reta de calibração utilizando-se soluções de fluconazol em ácido clorídrico 0,1 N e leitura em 261 nm.

**TABELA II** - Parâmetros relativos à reta de calibração do método analítico para quantificação de fluconazol. a = coeficiente angular; b = coeficiente linear;  $r^2$  = coeficiente de correlação;  $S_e$  = erro padrão da regressão

Parâmetro	Valor
a	2,0679
b	0,0004
$r^2$	0,99998
$S_e$	0,00236

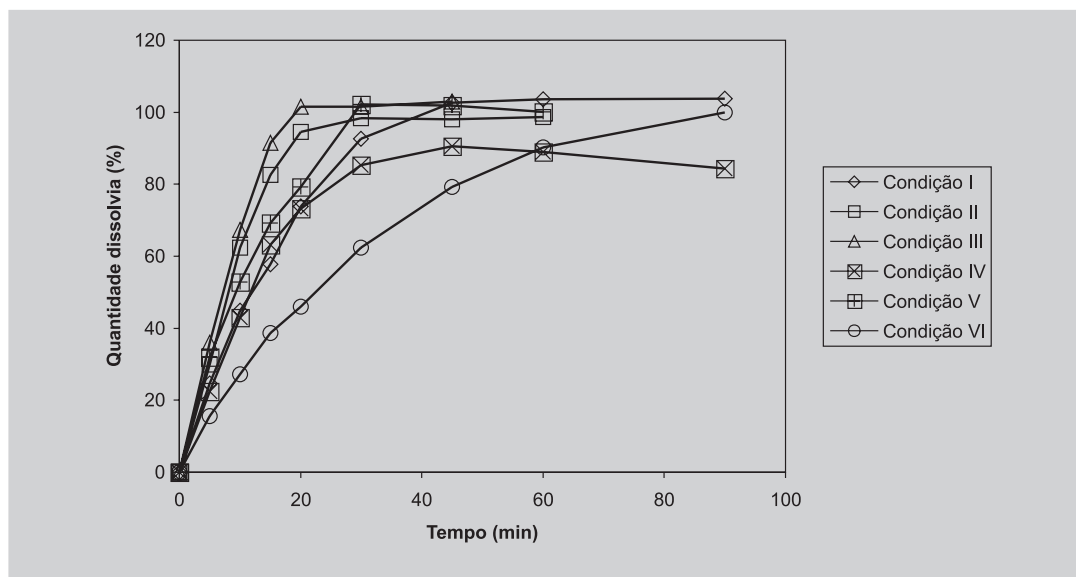
**TABELA III** - Parâmetros relativos à validação do método analítico para quantificação de fluconazol

Parâmetro	Valor
Exatidão	98,30 %
Precisão intradia	1,14 %
Precisão inter-dias	1,69 %
Limite de detecção	0,0020 mg/mL
Limite de quantificação	0,0080 mg/mL
Linearidade	0,0080 a 0,5601 mg/mL

**TABELA IV** - Valores médios da quantidade de fluconazol dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter o produto A, lote A1 às condições I (aparato 1, HCl 0,1 N, 50 rpm, 37 °C), II (aparato 1, HCl 0,1 N, 75 rpm, 37 °C), III (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm, 37 °C), IV (aparato 2, HCl 0,1 N, 50 rpm, 37 °C), V (aparato 2, HCl 0,1 N, 100 rpm, 37 °C) e VI (aparato 1, água, 100 rpm, 37°C) de dissolução

Tempo (min)	Quantidade dissolvida (%)					
	Cond. I	Cond. II	Cond. III	Cond. IV	Cond. V	Cond. VI
0	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
5	24,66	29,92	35,90	22,42	31,98	15,54
10	44,94	62,38	67,27	42,97	52,84	27,18
15	57,81	82,54	91,54	63,18	69,31	38,65
20	73,88	94,51	101,59	73,27	79,32	45,97
30	92,70	98,43	101,59	85,27	102,17	62,31
45	102,66	98,03	102,99	90,51	101,80	79,31
60	103,66	98,68	-	88,89	100,16	90,27
90	103,72	-	-	84,28	-	99,88

NQ = não quantificável.



**FIGURA 2** - Valores médios da quantidade de fluconazol dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter o produto A, lote A1 às condições I (aparato 1, HCl 0,1 N, 50 rpm, 37 °C), II (aparato 1, HCl 0,1 N, 75 rpm, 37 °C), III (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm, 37 °C), IV (aparato 2, HCl 0,1 N, 50 rpm, 37 °C), V (aparato 2, HCl 0,1 N, 100 rpm, 37 °C) e VI (aparato 1, água, 100 rpm, 37 °C) de dissolução.

### Ensaio físico e físico-químico

As Tabelas V, VI e VII apresentam os resultados, respectivamente, dos testes de peso médio, de teor de fluconazol e de uniformidade de conteúdo em amostras dos produtos A, B e C.

**TABELA V** - Peso médio do conteúdo das cápsulas em amostras dos produtos A, B e C. D.P.P.= desvio percentual entre peso individual e peso médio

Produto	Lote	Média	D.P.P. (%)
A	A1	349,9	-7,3 a 3,4
	A2	355,9	-2,9 a 3,3
B	B1	267,4	-4,5 a 9,0
	B2	260,6	-9,5 a 6,8
C	C1	226,1	-5,3 a 5,7
	C2	227,5	-8,3 a 6,5

O desvio percentual entre os pesos individuais e o peso médio variou de -7,3 a 3,4 e -2,9 a 3,3 para o produto A, lotes A1 e A2, respectivamente; de -4,5 a 9,0 e -9,5 a 6,8 para o produto B, lotes B1 e B2, respectivamente e de -5,3 a 5,7 e -8,3 a 6,5 para o produto C, lotes C1 e C2, respectivamente.

O teor de fármaco em cada uma das 10 cápsulas analisadas por lote variou de 91% a 103% e 98% a 104%

**TABELA VI** - Teor de fármaco (p.a.) em amostras dos produtos A, B e C. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação

Produto	Lote	p.a. (%)		
		Média	D.P.	C.V.(%)
A	A1	96,54	0,93	0,96
	A2	101,42	0,45	0,45
B	B1	105,85	1,40	1,33
	B2	101,95	0,31	0,30
C	C1	104,08	1,27	1,22
	C2	103,41	0,51	0,49

**TABELA VII** - Uniformidade de conteúdo de fármaco (p.a.) em amostras dos produtos A, B e C. D.P. = desvio padrão; C.V. = coeficiente de variação

Produto	Lote	p.a. (%)		
		Média	D.P.	C.V.(%)
A	A1	96,90	3,25	3,36
	A2	100,94	2,40	2,38
B	B1	106,81	4,76	4,45
	B2	102,97	4,54	4,41
C	C1	104,25	3,03	4,35
	C2	104,15	4,75	4,56

para o produto A, lotes A1 e A2, respectivamente; de 100% a 115% e 96% a 109% para o produto B, lotes B1 e B2, respectivamente e de 99% a 108% e 97% a 108% para o produto C, lotes C1 e C2, respectivamente.

A Tabela VIII e a Figura 3 apresentam os resultados médios da dissolução dos seis lotes de produtos testados.

A Figura 4 apresenta as retas resultantes da aplicação do método proposto por El-Yazigi (1981) e descrito anteriormente, aos resultados médios da dissolução dos

seis lotes testados. Na Tabela IX encontram-se os parâmetros relativos a essas retas.

Com base nos parâmetros indicados na Tabela IX, foi possível calcular a constante de velocidade de dissolução ( $k_s$ ) e o tempo médio necessário para dissolução de 85% ( $t_{85\%}$ ) do fluconazol presente nas cápsulas dos lotes testados, nas condições padronizadas para a dissolução neste estudo. Estes valores são apresentados na Tabela X.

## DISCUSSÃO

O método analítico desenvolvido e validado para quantificação de fluconazol mostrou-se apropriado para determinação do fármaco em cápsulas, apresentando exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação e linearidade adequados.

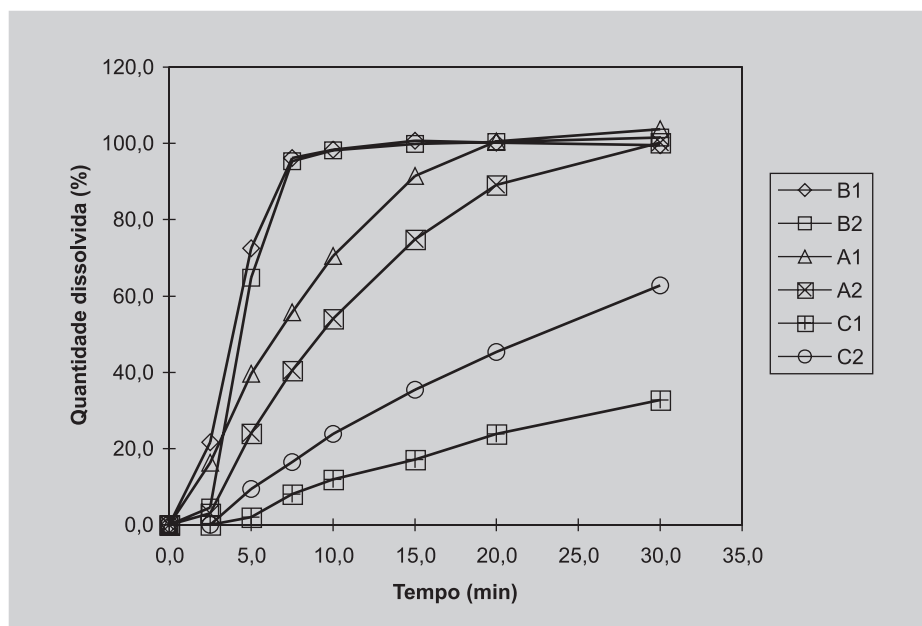
Atay e Selçuk (1996) descrevem método espectrofotométrico para quantificação do fluconazol, no qual utilizam metanol como solvente. O método desenvolvido no presente estudo emprega ácido clorídrico 0,1 N, o que permite sua aplicação direta na quantificação de fluconazol em ensaios de dissolução, tornando-o extremamente vantajoso em relação ao método proposto pelos autores supracitados, pois não requer qualquer tratamento prévio da amostra.

Todos os lotes avaliados apresentaram-se em conformidade com os parâmetros farmacopéicos em relação a peso médio e uniformidade de conteúdo. O teor de fármaco

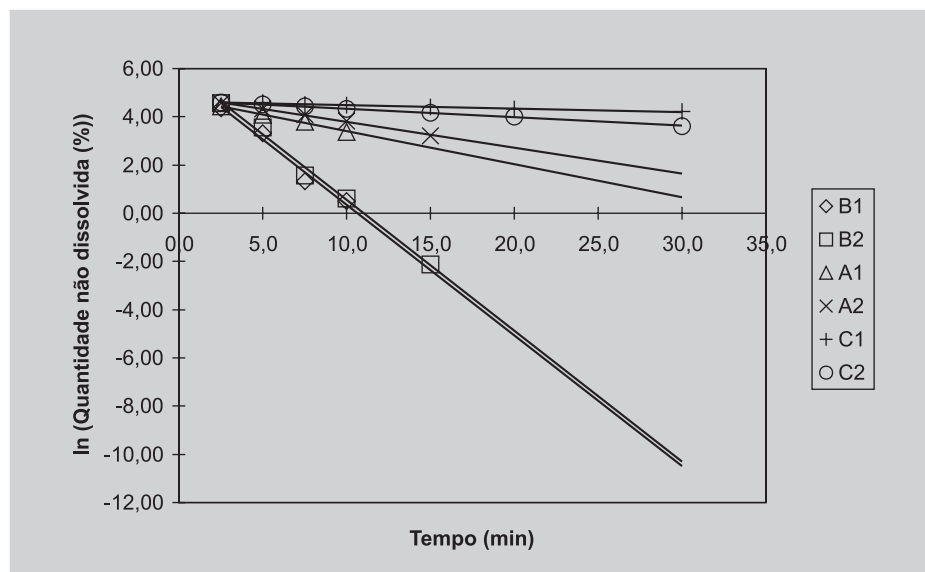
**TABELA VIII** - Quantidade média de fluconazol dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter os produtos A, B e C à dissolução (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm e 37 °C).

Tempo (min)	Quantidade dissolvida (%)					
	A		B		C	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
0,0	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ	NQ
2,5	16,3	3,0	21,7	4,6	NQ	NQ
5,0	39,6	23,9	72,5	64,8	2,1	9,5
7,5	55,7	40,5	96,2	95,3	8,0	16,4
10,0	70,6	54,0	98,3	98,2	11,9	23,8
15,0	91,4	74,9	100,7	99,9	17,1	35,4
20,0	100,5	89,1	100,2	100,4	23,8	45,3
30,0	103,8	100,2	99,6	101,5	32,7	62,8

NQ = não quantificável



**FIGURA 3** - Quantidade média de fluconazol dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter os produtos A, B e C à dissolução (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm e 37 °C).



**FIGURA 4** - Transformação logarítmica da quantidade média de fluconazol não dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter os produtos A, B e C à dissolução (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm e 37 °C).

**TABELA IX** - Parâmetros relativos à transformação logarítmica da quantidade média de fluconazol não dissolvida (%) em função do tempo, ao se submeter os produtos A, B e C à dissolução (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm e 37 °C). a = coeficiente angular; b = coeficiente linear;  $r^2$  = coeficiente de correlação;  $S_e$  = erro padrão da regressão

Parâmetros	A		B		C	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
a	-0,1377	-0,1079	-0,5421	-0,5421	-0,0146	-0,0354
b	4,7859	4,8721	5,7657	5,9714	4,6371	4,6924
$r^2$	0,9961	0,9967	0,9750	0,9920	0,9913	0,9990
$S_e$	0,0340	0,0345	0,3436	0,2700	0,0142	0,0121

**TABELA X** - Constante de velocidade de dissolução ( $k_s$ ) e tempo médio necessário para dissolução de 85 % ( $t_{85\%}$ ) do fluconazol presente nas cápsulas dos produtos A, B e C ao submetê-los à dissolução (aparato 1, HCl 0,1 N, 100 rpm e 37 °C)

Produto	$k_s$ (min <sup>-1</sup> )	$t_{85\%}$ (min)
A1	0,1377	15,09
A2	0,1079	20,06
B1	0,5421	5,64
B2	0,5421	6,02
C1	0,0146	132,12
C2	0,0354	56,05

variou entre 96,54 % e 101,42 % para o produto A, 101,95 % e 105,85 % para o B e 103,41 % e 104,08 % para o C.

No desenvolvimento de método para análise da cinética da dissolução de fluconazol em cápsulas, várias condições foram testadas. A condição III, que utiliza aparato 1 (cesta), velocidade de 100 rpm e meio de ácido clorídrico 0,1 N a 37 °C, foi selecionada por apresentar os melhores resultados, representados por tempo de dissolução e quantidade de fármaco dissolvido compatíveis com o tipo de fármaco e forma farmacêutica em análise, e por pequena variação entre cápsulas avaliadas no mesmo ensaio. Além disso, essas condições correspondem ao preconizado pela Farmacopéia Americana (United States Pharmacopoeia, 2000), que, em seu capítulo sobre avaliação *in vitro* e *in vivo* de formas farmacêuticas, recomenda o uso do aparato 1 à velocidade de 100 rpm no desenvolvimento de método para análise de cápsulas.

A análise da cinética de dissolução demonstrou que as cápsulas de fluconazol provenientes dos seis lotes em



estudo obedecem cinética de primeira ordem. Entretanto, observaram-se diferenças importantes entre os produtos dos diversos fabricantes. O produto B apresentou maior velocidade de dissolução, seguido pelo produto A. O produto C demonstrou dissolução mais lenta. Além disso, foi possível observar que os dois lotes de B analisados comportaram-se de forma extremamente homogênea, apresentando valores iguais para a constante de dissolução ( $k_s$ ) e extremamente próximos para o tempo necessário para dissolução de 85 % ( $t_{85\%}$ ) do fluconazol presente nas cápsulas, conforme apresentado na Tabela X. Este comportamento homogêneo não foi observado para os demais produtos, fato este que levanta questões sobre a garantia de bioequivalência entre lotes diferentes do mesmo produto.

Existem diversos fatores capazes de exercer influência sobre a velocidade de dissolução de fármacos em formas farmacêuticas sólidas, tais como: características físico-químicas do próprio fármaco; excipientes utilizados na formulação; processo de fabricação; embalagem e armazenamento; aparato de dissolução e parâmetros do ensaio de dissolução (Abdou, 1989). No presente estudo avaliaram-se cápsulas contendo o mesmo fármaco utilizando-se o mesmo aparato e os mesmos parâmetros de dissolução. Assim, as diferenças observadas podem ser explicadas por diferenças de formulação, processo de fabricação e/ou armazenamento.

Segundo Skelly *et al.* (1993), produtos que contêm fármaco de alta solubilidade e alta permeabilidade às membranas biológicas, como é o caso do fluconazol, apresentarão biodisponibilidade adequada caso demonstrem dissolução de 85% do fármaco a partir da forma farmacêutica em 30 minutos, em 900 mL de ácido clorídrico 0,1 N. No presente estudo, os produtos A e B apresentaram tal comportamento.

Amidon *et al.* (1995) sugerem, ainda, que produtos contendo fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade poderiam ser considerados bioequivalentes, desde que apresentassem dissolução de 85% do fármaco em menos de 15 minutos. Entre os produtos testados, os dois lotes de B e um dos lotes de A comportaram-se desta forma, sugerindo a possibilidade de bioequivalência entre eles. Entretanto, um dos lotes de A não apresentou essa dissolução. Desta forma, a presença ou não de bioequivalência só poderá ser comprovada após a realização de estudo *in vivo*, já que não existe correlação *in vitro-in vivo* estabelecida para cápsulas gelatinosas duras de liberação convencional contendo fluconazol.

Da mesma forma, não é possível realizar afirmações em relação ao provável comportamento *in vivo* do produto C, apesar da lenta dissolução de fluconazol apresentada, que sugeriria prováveis problemas de biodisponibilidade. Trabalhos de Eddington (1999) demonstram que formas

farmacêuticas sólidas orais que apresentam perfis de dissolução bastante diferentes *in vitro* podem apresentar bioequivalência em ensaios *in vivo*.

Estudos *in vitro* mostram-se úteis na detecção de diferenças entre produtos similares e mesmo entre lotes diferentes de produtos da mesma empresa, além de fornecerem indicações importantes sobre o provável comportamento *in vivo* desses produtos. No entanto, conclusões definitivas sobre biodisponibilidade e bioequivalência somente são possíveis após a realização de estudos *in vivo*.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados no presente estudo pode-se concluir que a dissolução de fluconazol a partir da forma farmacêutica segue cinética de primeira ordem para os três produtos avaliados, sendo que o produto B apresenta maior velocidade de dissolução do fármaco, seguido pelo produto A e pelo produto C. Além disso, os produtos A e B apresentaram dissolução de 85 % do fármaco em tempo inferior a 30 minutos e os dois lotes do produto B e um dos lotes do produto A apresentaram dissolução de 85 % do fármaco em tempo igual ou inferior a 15 minutos.

## ABSTRACT

### *In vitro* biopharmaceutic evaluation of capsules containing fluconazole

Many brazilian pharmaceutical industries manufacture capsules containing 150 mg of the antifungal agent fluconazole. The present study was designed to perform a *in vitro* biopharmaceutic evaluation of three commercial products available in Brazil, designated as products A, B and C. After a dissolution method was developed and standardized, the dissolution kinetics for samples of two batches of each product was analysed through  $k_s$  (dissolution rate constant) and  $t_{85\%}$  (time for dissolution of 85% of the drug in the dosage form), obtained from dissolution profiles. Results showed  $k_s$  values of  $0,1377 \text{ min}^{-1}$  and  $0,1079 \text{ min}^{-1}$  for the tested batches of A,  $0,5421 \text{ min}^{-1}$  for the tested batches of B and  $0,0354 \text{ min}^{-1}$  and  $0,0146 \text{ min}^{-1}$  for the tested batches of C.  $t_{85\%}$  was 15,09 min e 20,06 min for the tested batches of A, 5,64 min and 6,02 min for the tested batches of B and 132,12 min and 56,05 min for the tested batches of C. It was concluded that the dissolution of fluconazole in capsules follows first order kinetics for the three products and product B shows the greatest dissolution rate, followed by products A and C.

UNITERMS: Fluconazole. Capsules. Biopharmaceutical evaluation. Dissolution profile. Dissolution kinetics

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, H. M. *Dissolution, bioavailability and bioequivalence*. Easton: Mack Printing, 1989. p. 7, 73.
- AMIDON, G. L., LENNERNÄS, H., SHAH, V. P., CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm. Res.*, Stuttgart, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
- AOYAGI, N., OGATA, H., KANIWA, N., KOIBUCHI, M., SHIBAZAKI, T., EJIMA, A. Bioavailability of griseofulvin from tablets in humans and the correlation with its dissolution rate. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.71, n.10, p.1165-1169, 1982.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC. 16.ed. Washington, 1995. v.1, pt.1, p.xviii.
- ATAY, O., SELÇUK, F. Quantitative determination of fluconazole by infrared spectrophotometry. *Anal. Lett.*, New York, v.29, n.12, p.2163-2176, 1996.
- AVICO, U., CIRANNI, E. S., ZUCCARO, P., CINGOLANI, E., FOSCHI, F., PACIARONI, E. Caratteristiche biofarmaceutiche delle compresse di digossina. *Boll. Chim. Farm.*, Milano, v.115, n.6, p.432-439, 1976.
- BRAMANTI, G. Disponibilit  della fenformina contenuta in una forma farmaceutica orale a cessione protratta. *Boll. Chim. Farm.*, Milano, v.112, p.472-478, 1973.
- BRITISH pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationery Office, 1999. v.2, p.A211.
- DEY, M., ENEVER, R., MARINO, M., MICHELUCCI, J., SMITH, D., WARNER, R., WEIERSTALL, R. Sustained-release etodolac bioavailability and dose proportionality: correlation between *in vivo* and *in vitro* performance. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.49, n.2, p.121-128, 1989.
- DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas (DEF 2000/2001). 29. ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 2000. 1186p.
- DREDÁN, J., ANTAL, I., RÁCZ, I. Evaluation of mathematical models describing drug release from lipophilic matrices. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.145, n.1-2, p.61-64, 1996.
- DREWE, J. GUITARD, P. In vitro - in vivo correlation for modified-release formulations. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.82, n.2, p.132-137, 1993.
- EDDINGTON, N. D. Development of a level B correlation. In: WORKSHOP SOBRE CORRELAÇÃO DE ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE / BIOEQUIVALÊNCIA IN VIVO E IN VITRO (IVIVC). São Paulo, 1999. *Apostila*. São Paulo: SINDUSFARM, 1999. 1v.
- EL-YAZIGI, A. Disintegration: dissolution analysis of percent dissolved - time data. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.70, n.5, p.535-537, 1981.
- FÜHRER, C. Crystallographic state and bioavailability. *Acta Pharm. Suec.*, Stockholm, v.15, n.4, p.319, 1978.
- GANDERTON, D. Effect of production variables on the properties of tablets and capsules related to bioavailability. *Acta Pharm. Suec.*, Stockholm, v.15, n.4, p.314-315, 1978.
- GORACINOVA, K., KLISAROVA, L., SIMOV, A., FREDRO-KUMBARADZI, E., PETRUSEVSKA-TOZI, L. Preparation, physical characterization, mechanisms of drug/polymer interactions, and stability studies of controlled-release solid dispersion granules containing weak base as active substance. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.22, n.3, p.255-262, 1996.
- GRDINIC, S., GJURIS, V., BICAN-FISTER, T. Comparison of *in vitro* release and renal elimination of 1-butylbiguanide from timed-release oral antidiabetic preparations. *Acta Pharm. Jugosl.*, Zagreb, v.29, n.4, p.215-221, 1979.
- HAYASHI, T., OGURA, T., TAKAGISHI, Y. New evaluation method for *in vitro/in vivo* correlation of enteric-coated multiple unit dosage forms. *Pharm. Res.*, Stuttgart, v.12, n.9, p.1333-1337, 1995.
- LANGENBUCHER, F. *In vitro* tests for bioavailability: disintegration, dissolution, permeation. *Acta Pharm. Suec.*, Stockholm, v.15, n.4, p.315, 1978.

- LIN, S. Y., KAO, Y. H., CHANG, H. N. Preliminary evaluation of the correlation between *in vitro* release and *in vivo* bioavailability of two aminophylline slow-release tablets. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.79, n.4, p.326-330, 1990.
- LOWENTHAL, W. Disintegration of tablets. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.61, p.1695-1711, 1972.
- O'HARA, T., DUNNE, A., KINAHAN, A., CUNNINGHAM, S., STARK, P., DEVANE, J. Review of methodologies for the comparison of dissolution profile data. *Adv. Exp. Med. Biol.*, New York, v.423, p.167-171, 1997.
- PINHO, J. J. R. G., STORPIRTIS, S. Desenvolvimento e avaliação biofarmacotécnica de comprimidos de liberação controlada de cloridrato de metformina empregando meio de dissolução com variação gradual de pH. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, São Paulo, v.35, n.1, p.101-109, 1999.
- RAZDAN, B., VERMA, P. K. Evaluation of dosage forms. III: studies on commercial acetaminophen tablet dosage forms. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.79, n.2-3, p.83-88, 1992.
- SJÖGREN, J. Formulation factors influencing the bioequivalence of drug. *Acta Pharm. Suec.*, Stockholm, v.15, n.4, p.297-298, 1978.
- SKELLY, J. P., VANBUSKIRK, G. A., SAVELLO, D. R., AMIDON, G. L., ARBIT, H. M., DIGHE, S., FAWZI, M. B., GONZALEZ, M. A., MALICK, A. W., MALINOWSKI, H., NEDICH, R., PECK, G. E., PEARCE, D. M., SHAH, V., SHANGRAW, R. F., SCHWARTZ, J. B., TRUELOVE, J. Scaleup of immediate release oral solid dosage forms. *Pharm. Res.*, Stuttgart, v.10, n.2, p.313-316, 1993.
- STEINIJANS, V. W., DIETRICH, R., TRAUTMANN, H., SAUTER, R., BENEDIKT, G. A novel approach to the specification of *in-vitro* dissolution boundaries based on regulatory requirements for bioequivalence. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, Aulendorf, v.38-II, n.8, p.1238-1240, 1988.
- UNITED States Pharmacopoeia. 24.ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2000. p.2000-2002, 2051-2052.
- WILLIAMS, R. L., UPTON, R. A., BALL, L., BRAUN, R. L., LIN, E. T., LIANG-GEE, W., LEESON, L. J. Development of a new controlled release formulation of chlorpheniramine maleate using *in vitro in vivo* correlations. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.80, n.1, p.22-25, 1991.
- YAU, M. K. T., MEYER, M. C. In vivo - in vitro correlation with a commercial dissolution simulator. II: papaverine, phenytoin and sulfisoxazole. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.72, n.6, p.681-686, 1983.

Recebido para publicação em 15 de março de 2002.