



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS**

**ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DE INCREMENTADORES DE**  
**DISSOLUÇÃO PARA COMPRESSÃO DIRETA: ENFOQUE**  
**NO DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS**  
**GENÉRICOS**

**ALESSANDRA LIFSITCH VIÇOSA**

**RIO DE JANEIRO**  
**2003**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DE INCREMENTADORES DE  
DISSOLUÇÃO PARA COMPRESSÃO DIRETA: ENFOQUE  
NO DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS  
GENÉRICOS**

**ALESSANDRA LIFSITCH VIÇOSA**

**Dissertação apresentada para a obtenção do título  
de Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Orientador: Prof Dr Lúcio Mendes Cabral**

**RIO DE JANEIRO  
2003**

### Ficha Catalográfica

V639 e

Viçosa, Alessandra Lifsitch

Estudo da utilização de incrementadores de dissolução para compressão direta: enfoque no desenvolvimento de medicamentos genéricos / Alessandra Lifsitch Viçosa.- Rio de Janeiro : UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2003.

125 p. il. 29,7 cm

Dissertação (Mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2003.  
Bibliografia: p. 95-109

1. Compressão direta 2. Cetoconazol 3. Incrementadores de dissolução 4. Biodisponibilidade 5. Correlação in vitro-in vivo 6. Denominação genérica do medicamento I. Título.

CDD 615.4

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DE INCREMENTADORES DE  
DISSOLUÇÃO PARA COMPRESSÃO DIRETA:  
ENFOQUE NO DESENVOLVIMENTO DE  
MEDICAMENTOS GENÉRICOS**

ALESSANDRA LIFSITCH VIÇOSA

Dissertação submetida como um dos requisitos para a  
obtenção do Grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: \_\_\_\_\_  
Lúcio Mendes Cabral

Banca examinadora: \_\_\_\_\_  
Elisabete Pereira dos Santos

\_\_\_\_\_  
Tereza Cristina dos Santos

\_\_\_\_\_  
Carlos Alberto Manssour

Setembro  
2003

Ao meu tio Kucilofe ( *in memoriam* ) , que sempre me deu  
inspirações para estudar e trabalhar cada vez mais e mais , e  
sempre mantendo a humildade e a modéstia no coração.

À minha mãe Hylma e à minha avó Lybia , que através de seus  
esforços e preocupações e carinhos constantes me  
proporcionaram a oportunidade de me dedicar aos estudos e de  
conseguir terminar este trabalho.

Ao meu marido Jeanderson, pela confiança e compreensão  
nos momentos de ausência e pelo carinho e amor  
depositados nos momentos difíceis .

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus que sempre me manteve com saúde e me deu forças para enfrentar todos os obstáculos encontrados durante este período.

Ao professor Lúcio Mendes Cabral pela orientação, confiança e incentivo e compreensão de todas as dificuldades pelas quais passava pelo fato de possuir outros compromissos com a iniciativa privada.

Ao Laboratório Abbott do Brasil S A , pelo incentivo financeiro e pela dispensa de carga horária para que este sonho pudesse ser realizado.

À Eliane Nigri Chatah pela confiança depositada , amizade e conforto nos momentos de difíceis tomadas de decisão.

Aos colegas José Ricardo (Fininho) e ao Daniel Bessa (Bessinha) pelo trabalho de colaboração nesta tese pois sem vocês este trabalho seria inviável.

À todos os colegas do Desenvolvimento Técnico do Abbott (Jaime, Ricardo, Ana Paula, Mário, Maria, Anderson, Sr Antônio) por todo apoio e compreensão nos momentos em que precisava ficar ausente.

À Vera Regina e Evandro D'ornellas pelo voto de confiança dado e pela oportunidade de dar livre acesso para realizar meus trabalhos analíticos no laboratório de controle de qualidade do Abbott.

À grande amiga e mãezona Maria Cristina Serrano que sempre estava de braços estendidos para prestar toda e qualquer ajuda e para falar palavras que de tão bonitas sempre me faziam chorar. Obrigado por toda força , conselhos, companherismo e amizade.

Ao Instituto de Tecnologia em Fármacos pela oportunidade de me permitir alcançar mais uma etapa importante de minha vida. Agradeço pela

compreensão dos colegas da Farmacotécnica nos meus momentos de ausência necessários na reta final deste trabalho.

Ao colega Luiz Marcelo do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFRJ pelas análises de ACV tão importantes para este trabalho.

À Prof Elisabeth do Laboratório de Membranas da COPPE pela utilização do equipamento de ACV.

Ao LAPIN (IMA – UFRJ ) e ao PADCT/ CNPQ, pelas análises microscópicas realizadas , em especial à Beatriz por toda amizade e apoio dados.

Aos Fornecedores de matérias primas, Regina Samajauskas (Astrein Assessoria e Getec Química), Luiz Carlos Amorim (Merck S.A.), Flávio Moribe (Tovani Benzaquen) , Sr. Wilson Panconi (Forlab), Leila Coelho (BASF S.A.), Ricardo Meneguetti (FMC), Marcelo Nogueira (Domondo e Palatinit).

Ao Curso de Pós – graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial Dona Dulce.

A todas as pessoas que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Os medicamentos genéricos são uma alternativa mais barata e segura para o tratamento da saúde, com a mesma eficácia e segurança dos medicamentos de referência. Considerando a tecnologia de fabricação de medicamentos genéricos, um dos maiores desafios consiste no desenvolvimento de formulações sólidas orais, especialmente quando se veiculam fármacos com baixa hidrossolubilidade e com potenciais problemas de dissolução e de biodisponibilidade, como é o exemplo do cetoconazol, antifúngico de amplo espectro de ação pertencente a classe II da Classificação Biofarmacêutica .

Entre as diferentes alternativas de incrementar a dissolução destes fármacos, temos como opção mais acessível, o uso da técnica de compressão direta associada ao uso de excipientes capazes de melhorar a desintegração e dissolução deste tipo de formulação, no caso específico, polióis associados com super-desintegrantes. A técnica de compressão direta tem sido cada vez mais utilizada na Indústria Farmacêutica por diminuir os custos operacionais e aumentar a produtividade .

No presente trabalho foi desenvolvido um método de dissolução para comprimidos de cetoconazol, já que o mesmo não possui este ensaio descrito em compêndios oficiais. Para isto, avaliou – se diferentes condições de dissolução (variando pH e volume do meio, presença de tensoativo e velocidade de rotação) e, à partir dos resultados obtidos e dos resultados oriundos do estudo de bioequivalência, estabeleceu - se correlação in vitro-in vivo (CIVIV) nível C de modo a selecionar a metodologia de dissolução a ser empregada para a avaliação das formulações. A melhor correlação obtida ( $r = 0,9987$ ) foi utilizando 900 ml de solução tampão pH 4,5 (50 rpm).

Foi realizada a qualificação entre diferentes fornecedores de cetoconazol, de forma a se determinar a matéria-prima tida como ideal para a formulação a ser desenvolvida. A partir do estudo comparativo entre os polióis, entre o medicamento referência e o candidato à genérico, pode - se observar que a formulação proposta (cetoconazol, maltose, croscarmelose sódica, dióxido de silício, metabissulfito de sódio e estearato de magnésio)



apresentou o melhor perfil de dissolução e menor tempo de desintegração. Tal formulação manteve - se estável após 12 meses à 30 ° C/60% UR em frasco plástico de polietileno e também não observou-se interações fármaco - excipiente por ACV .

O poder discriminativo da metodologia de dissolução desenvolvida pode ser avaliado a partir da grande variabilidade observada no perfil de dissolução de exemplares de medicamentos genéricos disponíveis no mercado. Tal fato, serve de alerta às autoridades de Vigilância Sanitária quanto a qualidade dos medicamentos genéricos comercializados no país.

## ABSTRACT

The generic drugs are a cheaper alternative for the treatment of health, with the same effectiveness and security of reference drugs. Considering its production technology, one of the largest challenges consists of the development of solid oral formulations, particularly when they involve poorly water-soluble drugs, with potential dissolution and bioavailability problems, such as ketoconazole, a broad-spectrum antifungal agent belongs to the class II of Biopharmaceutics Classification System.

Among options of enhancement the dissolution of these drugs, direct compression technique can be used associated with the use of excipients able of improving the disintegration and dissolution of this type of formulation, in the particular case, polyols associated with super-disintegrants. The direct compression technique has been used in the Pharmaceutical Industry increasing productivity, because of low labor input and fewest processing steps.

In this work is presented a dissolution method developed for ketoconazole tablets, because the same it was not yet described in official pharmaceutical compendiums. It was investigated different dissolution conditions (variable pH and volume of the medium, presence of surfactant and rotation speed). From the bioequivalence results and from the *in vitro* results obtained using 900 ml of buffer solution pH 4,5 (50 rpm), the best *in vitro-in vivo* correlation level C ( $r = 0,9987$ ) was achieved.

The qualification of different suppliers of ketoconazole was carried out, and the ideal raw material was chosen for the formulation development. From the comparative study among the polyols, the reference drug and the generic candidate it can be observed that the proposal formula (ketoconazole, maltose, sodium croscarmellose, colloidal silicon dioxide, sodium metabisulfite and magnesium stearate) presented the best dissolution profile and disintegration time. It was also observed that the product kept the quality specifications after 12 months in plastic packing at 30 °C/60% RH condition. The formulation did not present drug-excipient interactions by DSC analysis too.

The discrimination ability of the dissolution method developed can be evaluated from important variations of dissolution profile among generic drugs already commercialized, and this serve as warning to the Regulatory Affairs with regards to the quality of generic drugs in the country.

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abs - absorvância

ACV – análise calorimétrica de varredura

ASC - área sobre a curva

CIVIV - correlação in vitro-in vivo

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

$C_{\text{máx}}$  - concentração máxima alcançada

CTZ – cetoconazol

DPR – desvio padrão relativo

FaSSIF - fasted state simulated intestinal fluid (fluido intestinal simulado não alimentado)

FeSSIF - fed state simulated intestinal fluid (fluido intestinal simulado alimentado)

FM – fase móvel

IV – infravermelho

PE - polietileno

r - coeficiente de correlação

SGF - simulated gastric fluid (fluido gástrico simulado)

Tg – temperatura de transição vítrea

$T_{\text{máx}}$  - tempo para o alcance de  $C_{\text{máx}}$

USP – United States Pharmacopoeia

UV - ultravioleta

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Estrutura do anel imidazólico.	23
Figura 2 - Estrutura química do cetoconazol	24
Figura 3 - Perfis de dissolução do medicamento referência (Formulação A) e do candidato a genérico (Formulação D) em 500 ml de HCl 0,1 N a 75 rpm (valores médios).	57
Figura 4 - Perfis de dissolução de cetoconazol 200 mg comprimidos em 900 ml de diferentes tampões pH 2, 3, 4, 5 e 6.	58
Figura 5 - Precipitação do cetoconazol a partir do aumento do pH de 3 até 10.	59
Figura 6 - Perfis de dissolução de comprimidos de cetoconazol 200 mg em meios biorrelevantes (SGF <sup>1</sup> = pH 1,2, FaSSIF <sup>2</sup> = pH 6,5 e FeSSIF <sup>3</sup> = pH 5,0) .	60
Figura 7 - Espectros de absorção do CTZ (aprox. 2,0µg/ml) : (a) em tampão pH 1,2; (b) em tampão pH 3; (c) em tampão pH 4,5.	61
Figura 8 - Perfis de dissolução da Formulação B (valores médios) nos diferentes meio de dissolução (a) 900 ml de meio a 50 rpm (b) 900 ml de meio a 75 rpm.	63
Figura 9 - Perfis de dissolução da Formulação B (valores médios) nos diferentes meio de dissolução (a) 500 ml de meio a 50 rpm (b) 500 ml de meio a 75 rpm.	64
Figura 10 - Curva de concentração plasmática média do CTZ em função do tempo após administração de um comprimido em dose única.	65
Figura 11 - Concentração plasmática (µg/ml) versus % dissolvido de CTZ obtido a partir da dissolução em 900 ml de tampão pH 4,5, a 50 rpm (r = coeficiente de correlação).	67
Figura 12 - Fotos representativas obtidas por microscopia ótica (x300) de diferentes amostras de cetoconazol: (a) Fornecedor A (b) Fornecedor B (c) Fornecedor C.	70
Figura 13 - Fotos representativas obtidas por microscopia ótica (x300) de diferentes amostras de cetoconazol: (d) Fornecedor D (e) Fornecedor E.	71
Figura 14 - Espectro de absorção no IV de diferentes amostras de cetoconazol: (a) Padrão primário USP (b) Fornecedor A.	74

Figura 15 - Espectro de absorção no IV de diferentes amostras de cetoconazol : (c) Fornecedor B (d) Fornecedor C.	75
Figura 16 - Espectro de absorção no IV de diferentes amostras de cetoconazol : (e) Fornecedor D (f) Fornecedor E.	76
Figura 17 - Análises calorimétricas de varredura ( ACV) de diferentes amostras de cetoconazol : (a) Padrão primário USP ; (b) Fornecedor A; (c) Fornecedor B; (d) Fornecedor C	78
Figura 18 - Análises calorimétricas de varredura (ACV) de diferentes amostras de cetoconazol : (e) Fornecedor D; (f) Fornecedor E.	79
Figura 19 - Espectro de absorção do CTZ (10,0µg/ml) em HCl 0,1 N .	85
Figura 20 - Efeito do desintegrante no perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol 200 mg ( valores médios).	86
Figura 21 - Efeito do excipiente no perfil de dissolução de comprimidos de CTZ 200 mg. O desintegrante utilizado foi a croscarmelose sódica (valores médios).	87
Figura 22 - Perfis de dissolução da formulação contendo maltose antes e após o período de estocagem de 12 meses , comparados às formulações B (medicamento referência) e D (candidato à genérico) (valores médios).	89
Figura 23 - Estudo de interação fármaco - excipiente por ACV: (a) mistura física maltose + cetoconazol , 1:1 (b) comprimidos formulados com maltose após estocagem de 12 meses	91
Figura 24 - Análise por CLAE dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose – início e após 12 meses de estocagem: (a) branco; (b) padrão primário USP (c) Formulação contendo maltose inicial (d) Formulação contendo maltose após 12 meses.	91
Figura 25 - Perfis de dissolução de medicamentos do mercado comparados ao medicamento referência (B) e ao candidato à genérico (D) (valores médios).	92

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Sumário das características anatômicas e fisiológicas do sistema gastrointestinal .	3
Tabela 2 - Principais vantagens e desvantagens do processo de granulação úmida para a obtenção de comprimidos.	8
Tabela 3 - Principais vantagens e desvantagens do processo de compressão direta para a obtenção de comprimidos.	9
Tabela 4 - Concentração das soluções estoque e razões de diluição das mesmas para avaliação no espectro de UV dos respectivos meios de dissolução.	41
Tabela 5 - Transições mais usuais verificadas em ACV (análise calorimétrica de varredura).	46
Tabela 6 - Fórmula base proposta para os comprimidos de cetoconazol.	47
Tabela 7 - Avaliação da combinação aglutinante x desintegrante para formulação de comprimidos de cetoconazol.	47
Tabela 8 - Concentrações plasmáticas médias de CTZ nos tempos utilizados para os estudos de correlação in vitro- in vivo.	66
Tabela 9 - Parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir da curva de concentração plasmática de CTZ versus tempo.	66
Tabela 10 - Demais coeficientes de correlação obtidos nas diferentes condições de dissolução estudadas.	68
Tabela 11 - Tamanho médio de partícula das amostras de cetoconazol	72
Tabela 12 - Principais bandas do espectro de IV das amostras de cetoconazol.	73
Tabela 13 - Peso médio e valores mínimo e máximo encontrados nas amostras dos comprimidos.	80
Tabela 14 - Peso médio e valores mínimo e máximo encontrados para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetoconazol do fornecedor E.	81
Tabela 15 - Resultados dos ensaios de dureza e friabilidade.	82
Tabela 16 - Resultados dos ensaios de dureza e friabilidade para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetoconazol do fornecedor E.	82
Tabela 17 - Resultados de desintegração.	83

Tabela 18 - Resultados de desintegração para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetoconazol do fornecedor E.	83
Tabela 19 - Resultados de teor por espectrofotometria de UV.	85
Tabela 20 - Proposta de nova formulação para cetoconazol 200 mg comprimidos e função de cada insumo.	88
Tabela 21 - Resultados físico-mecânicos e de teor (por espectrofotometria no UV) após 12 meses dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose.	89
Tabela 22 - Resultados de teor obtidos por CLAE dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose.	90



## SUMÁRIO

	Página
<b>INTRODUÇÃO</b>	1
1– Considerações Gerais	2
2– Medicamento Genérico	5
2.1- Vantagem econômica	5
2.2- Fabricação e desenvolvimento de formulações de medicamentos genéricos	6
2.3- Excipientes e processo de fabricação	10
2.3.1 - Excipientes incrementadores de dissolução	12
2.4 - Excipientes baseados em açúcares	12
2.5 - Uso de super-desintegrantes	15
2.6 - Estudos de dissolução	15
2.6.1 - Fatores físico-químicos que influenciam o ensaio de dissolução	15
2.6.1.1. - Meio de dissolução	17
2.6.1.2. – Volume	17
2.6.1.3. – Adição de tensoativos	17
2.6.1.4. – Presença de gases dissolvidos	18
2.6.1.5. – Temperatura	18
2.6.1.6. – Sistema e velocidade de agitação	18
2.6.1.7. – Verificação do equipamento	19
2.6.2. - Correlações entre os ensaios <i>in vitro</i> e os estudos <i>in vivo</i>	19
2.6.2.1- Níveis de correlação	20
2.6.2.1.1- Correlação nível A	20
2.6.2.1.2- Correlação nível B	21
2.6.2.1.3- Correlação nível C	21
2.6.3. - Possibilidade de correlação <i>in vitro-in vivo</i> e Classificação Biofarmacêutica	22
2.7. – Cetoconazol	23
2.7.1 – Propriedades físico-químicas	24
2.7.2 – Propriedades farmacocinéticas	25

2.7.3 – Propriedades farmacodinâmicas e mecanismo de ação	27
2.7.4 – Formas farmacêuticas e de apresentação	29
<b>OBJETIVOS</b>	30
1 - OBJETIVOS GERAIS	31
2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	32
1 - Materiais	33
1.1 – Equipamentos	33
1.2– Reagentes e insumos	34
1.3– Produtos farmacêuticos	35
1.4 – Outros	36
2 – Métodos	37
2.1 - Escolha do fármaco modelo	37
2.2- Desenvolvimento da metodologia de dissolução	37
2.2.1 -Determinação do pH dos meios	37
2.2.2- Metodologia de dissolução utilizada pelo fabricante do medicamento candidato a genérico (Formulação D)	38
2.2.2.1- Solução padrão	38
2.2.2.2- Solução amostra	38
2.2.2.3- Meio de dissolução	38
2.2.2.4- Condições do ensaio de dissolução	38
2.2.2.5- Determinação espectrofotométrica	39
2.2.2.6- Cálculos	39
2.2.3- Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de cetoconazol (Formulação B)	39
2.2.3.1 – Meio de dissolução	39
2.2.3.2 – Tipo de agitador e velocidade de agitação	40
2.2.3.3 – Tempo de ensaio e coleta das amostras	40
2.2.3.4 – Procedimento do ensaio de dissolução	40
2.2.3.5 – Quantificação do CTZ dissolvido	41
2.2.3.5.1– Determinação espectrofotométrica	41
2.2.3.5.2– Cálculos	42

2.3 - Teste de bioequivalência	42
2.4 - Estabelecimento da melhor correlação entre os dados <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	44
2.5- Caracterização da matéria prima cetoconazol	44
2.5.1 - Avaliação do habit de cristal	44
2.5.2 – Determinação da distribuição de tamanho de partícula	45
2.5.3 – Espectrometria no infravermelho	45
2.5.4 - Análise térmica	46
2.6- Preparo dos lotes pilotos	47
2.6.1 – Formulações	47
2.6.2 - Processo de fabricação	48
2.6.2.1 - Por compressão direta	48
2.6.2.2 - Por granulação úmida	48
2.7- Caracterização geral dos comprimidos de cetoconazol	49
2.7.1 - Peso médio e uniformidade de peso	49
2.7.2 – Dureza	49
2.7.3 – Friabilidade	50
2.7.4 – Tempo de desintegração	50
2.7.5 – Teor	50
2.7.5.1 – Solução diluição	50
2.7.5.2– Curva padrão para dosagem	51
2.7.5.3– Solução amostra	51
2.7.5.4– Leitura em espectrofotômetro	51
2.7.5.5– Cálculos	51
2.8 - Análise quantitativa do cetoconazol (CTZ) por CLAE	52
2.8.1 - Solução de Acetato de Amônio	52
2.8.2 - Solução de diluição	52
2.8.3 - Solução de diisopropilamina em metanol	52
2.8.4 – Fase móvel	53
2.8.5 – Solução padrão	53
2.8.6 – Solução amostra	53
2.8.7 – Condições cromatográficas	53

2.8.8 – Cálculos	54
2.9- Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol obtidos a partir dos lotes pilotos e de produtos disponíveis no mercado	54
2.9.1 – Curva padrão para dissolução	54
2.10- Estudo de estabilidade	55
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	56
1 – Desenvolvimento da metodologia de dissolução	57
2 - Estudo de Bioequivalência	65
3 – Estabelecimento da melhor correlação in vitro-in vivo entre os perfis de dissolução	66
4 – Caracterização da matéria prima cetoconazol	69
4.1 – Avaliação do habit de cristal	69
4.2 – Determinação do tamanho de partícula	72
4.3 – Espectrometria no infravermelho	73
4.4 – Análise térmica	77
5- Caracterização geral dos comprimidos de cetoconazol	79
5.1 – Peso médio e uniformidade de peso	79
5.2 – Resistência mecânica: dureza e friabilidade	81
5.3 – Desintegração	82
5.4 – Teor	84
5.5 – Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol obtidos a partir dos lotes pilotos	86
5.6 – Estudos de estabilidade	88
5.7 – Determinação do perfil de dissolução comprimidos de cetoconazol de 200 mg disponíveis no mercado	92
<b>CONCLUSÃO</b>	93
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	95



## 1–Considerações Gerais

A atividade farmacológica relacionada a uma substância biologicamente ativa depende, dentre outros fatores, da concentração com que esta se faz presente no fluido biológico que banha o tecido e seu receptor alvo. Esta concentração é determinada inicialmente pela desintegração e dissolução do ativo veiculado em uma forma farmacêutica qualquer e posteriormente, pela permeação destes fármacos através das membranas biológicas celulares em especial, das membranas da parede intestinal onde se observa o maior tempo de permanência de um fármaco veiculado em um medicamento por via oral, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Em termos de sua estrutura molecular, a permeação e conseqüente absorção destas substâncias, se encontra relacionada a lipofilicidade e polaridade das mesmas, o que torna a absorção de fármacos polares (grande maioria dos atualmente utilizados em terapia) uma tarefa bastante árdua (HOOGDALEM, BOER & BREIMER, 1989; LEE & YAMAMOTO, 1990).

A absorção de fármacos no sistema gastrointestinal segue quatro rotas distintas; a transcelular, a paracelular, a transcelular com incorporação em quilomicrom e a com transporte ativo. Os fármacos são geralmente absorvidos passivamente por transporte paracelular ou transcelular, ratificando a íntima relação acima citada entre permeação/lipofilicidade (HERVÁS, HOLGADO, & RABASCO, 1997).

Por outro lado, o fármaco deve se “dissolver” ou solubilizar-se a partir de sua forma farmacêutica originária para que todo o processo de absorção se inicie. Desta forma, não apenas sua permeabilidade frente às membranas biológicas, mas também o estudo de sua dissolução e solubilidade são parâmetros de importância na avaliação terapêutica. (LIEBERMAN & LACHMAN, 1990 ; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002a).

Estes estudos de solubilidade vem sendo grandemente requisitados por permitirem, através de testes *in vitro*, que se preveja a absorção de moléculas bioativas. O sistema de classificação biofarmacêutica introduzido por Amidon *et al.* (1995) propõe antecipar a absorção de um fármaco segundo a sua

**Tabela 1 – Sumário das características anatômicas e fisiológicas do sistema gastrointestinal ( WATTS & ILLUM , 1997) .**

Região do trato gastrointestinal	Características
	Comprimento (cm)
Todo o sistema gastrointestinal	500-700
Intestino delgado	
Duodeno	20-30
Jejuno	150-250
Íleo	200-350
Intestino largo	
Ceco	6-7
Cólon ascendente	20
Cólon transversal	45
Cólon descendente	30
Cólon signóide	40
Reto	12
Canal anal	3
	pH
Estômago	
em jejum	1,5 – 3
Alimentado	2 – 5
Intestino delgado	
Duodeno ( em jejum)	~ 6,1
Duodeno (alimentado)	~ 5,4
Íleo	~ 7- 8
Intestino largo	
ceco e cólon	5,5 – 7
Reto	~ 7
	Tempo de trânsito (h)
Estômago	0,25 – 3
Intestino delgado	3-4
Intestino largo	>10*

**\*Muito variável porque é dependente da dieta, da mobilidade, da concentração de fibras, do “stress” do indivíduo, da patologia e do fármaco.**

hidrossolubilidade e permeabilidade biológica. Segundo os critérios adotados por este autor, um fármaco pode ser classificado em quatro casos, a saber:

Caso I: Substâncias de alta hidrossolubilidade e altamente permeáveis;

Caso II: Substâncias de baixa hidrossolubilidade e altamente permeáveis;

Caso III: Substâncias de alta hidrossolubilidade e pouco permeáveis;

Caso IV: Substâncias de baixa hidrossolubilidade e pobremente permeáveis.

Esta classificação pode ser utilizada como forma de se antecipar a boa absorção ou não de um determinado fármaco e conseqüentemente, a biodisponibilidade de formulações orais com ele preparadas. Isto é de extrema relevância, uma vez que mais de 80% do mercado farmacêutico mundial é

representado por formulações administradas por esta via, sendo ainda a exigência de uma biodisponibilidade adequada, pré-requisito legal em quase todo o mundo, inclusive no Brasil (Brasil. RDC n ° 478, 2002).

Apesar de existirem diversas metodologias para a predição da solubilidade de um fármaco e a dissolução do mesmo a partir de uma forma farmacêutica qualquer, não existem modelos adequados para se predizer de forma precisa a absorção do mesmo com base em seu perfil de dissolução (HO, MERKLE & HIGUCHI, 1983; SINKO, LEESMAN & AMIDON, 1991).

É primordial, portanto, se desenvolver testes validados para a predição da permeabilidade de fármacos em membranas celulares com modelos animais ou *in vitro* que sejam capazes de, em associação com estudos de dissolução e solubilidade, predizer de forma segura sua absorção oral e o efeito de excipientes utilizados em sua formulação. Tal procedimento reduziria sobremaneira os custos de desenvolvimento de um novo medicamento, em especial no que se refere à avaliação da biodisponibilidade de prováveis formulações, assim como, na escolha de novas alternativas capazes de contornar problemas de biodisponibilidade já existentes, fato corriqueiro no caso de agentes anti-retrovirais utilizados no tratamento da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA), entre diversas outras classes de medicamentos (MENTRÉ *et al.*, 1993).

A preocupação com os parâmetros farmacocinéticos de diferentes fármacos e o impacto de sua formulação e os excipientes nela utilizados, ganha uma relevância ainda maior quando se considera a formulação de medicamentos genéricos.

No Brasil, a política de medicamentos genéricos se tornou uma realidade a partir da implantação da lei 9787 de 10 de fevereiro de 1999, e sua regulamentação. Neste ensejo, se considerou como sendo um medicamento genérico, aquele que possui as mesmas concentrações e forma farmacêutica que as apresentadas por um produto de referência ou inovador, pretendendo ser com este intercambiável. Estes devem ser designados por seu nome de DCB (Denominação Comum Brasileira) ou na sua ausência, pela DCI (Denominação comum internacional). Necessariamente, deve se observar a



renuncia ou expiração da proteção patentária do inovador ou referência para sua transformação em genérico (Brasil. Lei n ° 9787, 1999).

## **2– Medicamento Genérico**

### **2.1- Vantagem econômica**

Segundo dados da Organização das Nações Unidas, uma população de cerca de 30 milhões de brasileiros vive abaixo da linha da pobreza, sem acesso a moradia, alimentação e saúde. Outros 60 milhões dependem da assistência médica pública e não tem recursos financeiros para adquirir medicamentos em farmácias privadas.

Diante desse quadro, discutir questões ligadas à busca de caminhos que possibilitem à uma camada maior da população o acesso aos serviços de saúde, e, fundamentalmente, aos medicamentos, torna-se essencial e atual. O medicamento genérico, é um dos caminhos que levam à diminuição do custo da saúde em nosso país. Com o preço final em média 30% mais baixo do que os medicamentos de marca.

Em todo o mundo, o medicamento genérico é hoje uma realidade. E a explicação é simples: apesar do crescente avanço das pesquisas e do desenvolvimento de novos fármacos, boa parte do arsenal terapêutico disponível tem mais de 15 anos. Segundo a lei mundial de patentes, após um período de 15 anos entre o início da pesquisa e a comercialização, a substância química, deixa de ser propriedade da indústria farmacêutica que o pesquisou e desenvolveu, transformando-se em uma substância de bem comum. Com isso, o custo do medicamento com marca comercial (que embutia o investimento em pesquisa e divulgação) cai na proporção de seu custo real de fabricação. Os genéricos são uma alternativa mais barata para o tratamento da saúde, com a mesma eficácia e segurança dos medicamentos de marca comercial. Além destes benefícios à população, os medicamentos genéricos possibilitam a diminuição de gastos nos serviços de assistência farmacêutica governamentais, que podem adquirir e distribuir à população carente, medicamentos de qualidade a custo reduzido. E finalmente -

experiência esta já vivida nos países onde hoje os genéricos estão completamente regulamentados - o benefício da própria redução dos preços dos medicamentos de marca. Enfim, a questão dos medicamentos genéricos abre um generoso leque de opções e discussões, que tem como objetivo primeiro a ampliação do acesso da população brasileira aos medicamentos e, por conseguinte, a sua saúde e bem-estar (FURTADO, 2001).

## **2.2- Fabricação e desenvolvimento de formulações de medicamentos genéricos**

Os fatores que influem na biodisponibilidade de fármacos e medicamentos são inúmeros, razão pela qual é importante debater aqueles considerados mais importantes, correlacionando-os com a sua rota de absorção no organismo. A biofarmácia estuda a cinética das preparações medicamentosas, determina a variabilidade da ação farmacológica como consequência dos aspectos ligados à formulação e ao processo tecnológico de fabricação dos medicamentos. Não se ocupa com a atividade do fármaco em si, mas do modo como ele é introduzido no organismo. Seu escopo final é o de escolher as condições de administração em função da biodisponibilidade do princípio ativo, porque obviamente a atividade farmacológica de um medicamento não depende somente da quantidade do fármaco presente na forma farmacêutica, mas principalmente da quantidade do mesmo disponível para absorção e para atingir os receptores. Aqui reside a importância dos fatores físico-químicos e farmacêuticos da formulação e do processo tecnológico para uma adequada biodisponibilidade (MORETTO, 1999; PANCHAGNULA & THOMAS, 2000). Outros fatores, além dos relacionados com a farmacocinética, podem influir na biodisponibilidade de medicamentos, dentre os quais se destacam os fisiológicos, os patológicos e os genéticos (MORETTO, 1999). As características físico-químicas de um fármaco, como a forma cristalina e o estado físico e a dimensão das partículas, exercem grande influência sobre a velocidade de sua absorção, além obviamente dos demais constituintes da formulação e suas propriedades físico-químicas e físico-mecânicas (MORETTO, 1999; HORTER & DRESSMAN, 2001).

Muitas operações utilizadas em processos tecnológicos para fabricação de medicamentos podem contribuir para a redução de sua *performance* biológica. O grau de redução de tamanho de partícula em uma dispersão, o grau de emulsificação de um fármaco veiculado em emulsões líquidas e a estabilidade de uma solução, decorrente de um maior cuidado em sua fabricação, podem ser exemplificadas neste contexto. Isto se torna mais grave e evidente em formulações sólidas orais, especificamente em comprimidos. Neste tipo de formulação, a força de compressão aplicada na formação de comprimidos, pode influir no tempo de desintegração dos mesmos. Semelhante efeito, independentemente da força de compressão, pode ocorrer pelo exagerado tempo de mistura da massa, durante a fase de incorporação do aglutinante. A operação denominada granulação final, ou seja, a redução da massa seca para formar grânulos que submetidos à compressão, pode alterar a proporção entre os tamanhos dos mesmos. Conseqüentemente, a análise granulométrica poderá revelar variações entre lotes de um mesmo produto. Pode – se, em função dessas variações, constatar – se alterações no tempo de desintegração e do tempo de dissolução. A temperatura e o tempo de secagem de granulados podem provocar alterações nos fármacos e nas características dos medicamentos com ele fabricados. Fármacos, sob a forma de polimorfos metaestáveis podem ser convertidos em polimorfos estáveis, com significativa alteração da solubilidade. Em função destes problemas é que se realça a importância da avaliação do uso do processo de compressão direta ou granulação via úmida onde, no caso da compressão direta geralmente se obtém comprimidos com tempo de desintegração bastante rápido e com boa dissolução (MORETTO, 1999).

Os três processos de fabricação de comprimidos mais comuns são:

**Granulação seca:** processo também designado por método da via seca ou da dupla compressão. Numa primeira fase, a partir dos pós constituintes não adicionados de lubrificantes, obtêm –se comprimidos sem a necessidade quaisquer cuidados especiais quanto a regularidade ou peso. Depois, os comprimidos imperfeitos assim preparados são fragmentados em moinhos, conseguindo – se assim um granulado, o qual irá comprimir em definitivo após

adição de lubrificantes. Já não é um processo tão utilizado em virtude aumento do emprego do processo por compressão direta.

**Granulação úmida:** Podemos dividir a operação nas seguintes fases:

- 1) Umedecimento dos pós
- 2) Granulação da massa úmida
- 3) Secagem do granulado obtido
- 4) Calibração do granulado seco em grânulos de tamanho uniforme.

As principais vantagens e desvantagens do processo de granulação úmida para a obtenção de comprimidos estão descritas na Tabela 2.

<b>Tabela 2 – Principais vantagens e desvantagens do processo de granulação úmida para a obtenção de comprimidos ( LIEBERMAN &amp; LACHMAN, 1990).</b>	
<b>VANTAGENS</b>	<b>DESVANTAGENS</b>
As características físicas do fármaco e dos excipientes não são tão importantes	Processo mais caro e complexo
Existe uma grande quantidade de materiais pulverulentos que podem ser processados	Muitas etapas de produção
Há um aumento do tamanho de partícula, melhor fluxo, compressibilidade e densidade.	Utilização de mais equipamentos, exigindo maior espaço, maior tempo de processo e maior custo energético
Redução da Segregação	Menor estabilidade de fármacos sensíveis a umidade ou calor
Dispersão de componentes em doses mínimas	Pode modificar a morfologia dos materiais de estrutura cristalina à amorfa devido a granulação.
	Formação de massas duras , que podem impedir a liberação do fármaco
	Podem aumentar o tempo de dissolução e a concentração na dissolução pode decrescer com o tempo.
	Alta probabilidade de contaminação cruzada
	Difícil validação de processo
	Custo de mão de obra e limpeza altos
	Perda durante o processo de pelo menos 5 %

**Compressão direta:** Consiste na compressão direta de pós sem modificação da natureza física do material. Particularmente, este processo é reservado para um grupo pequeno de substâncias químicas cristalinas, que reúnam os requisitos físico-mecânicos para a formação de comprimidos de qualidade. Estes materiais possuem propriedades de coesão e fluxo que o permitem ser de compressão direta. Os excipientes para compressão direta também devem possuir características de boa compressibilidade e fluidez. Estas propriedades são conferidas a eles através de reprocessamento tais

como uma granulação, “spray drying”, esferonização, cristalização, etc. As principais vantagens e desvantagens do processo de compressão direta para a obtenção de comprimidos estão descritas na Tabela 3.

<b>Tabela 3 – Principais vantagens e desvantagens do processo de compressão direta para a obtenção de comprimidos (RUDNIC &amp; SCHWARTZ, 2000).</b>	
<b>VANTAGENS</b>	<b>DESVANTAGENS</b>
Eliminação da sensibilidade ao calor e umidade	Devem ser conhecidas a granulometria e a forma cristalina dos fármacos e dos excipientes
Permite a desintegração dos comprimidos em partículas primárias do fármaco	Quando o fármaco se encontra em concentrações muito altas, as propriedades de fluxo, compactabilidade e densidade são diminuídas
Eliminação de solventes orgânicos	Quando o fármaco se encontra em dose muito baixa, se faz necessário realização de pré misturas.
Redução do número de operações	Por diferença de densidade pode ocorrer segregação dos pós.
Menos equipamentos, menor espaço e menor demanda energética	
Aumento na capacidade e flexibilidade de produção	
Aumenta a reprodutibilidade do processo permitindo Validação	
Redução dos tempos de limpeza	
Baixo risco de contaminação	
Redução de custos de mão de obra	
Menor perda de material durante o processo de fabricação (cerca de 1 %)	

Outro fator de grande significância em termos da biodisponibilidade de formulações se relaciona aos excipientes utilizados para sua fabricação. Estas substâncias são classificadas atualmente como sendo constituintes da formulação diferente do ativo, visto a possibilidade evidente de que estes influenciem de forma direta na atividade farmacológica dos ativos com eles veiculados, não mais sendo considerados como inertes, mas sim, como substâncias desprovidas de atividade farmacológica.

Tal qual se observa para uma substância farmacologicamente ativa no seu estudo de pré-formulação, deve-se estudar as propriedades físico-químicas e físico-mecânicas dos excipientes utilizados em uma formulação farmacêutica e a influência destas na *performance* da formulação final, verificando-se em cada caso a influência da solubilidade, distribuição granulométrica, cristalinidade e polimorfismo, higroscopia, densidade real e aparente e compactabilidade nas propriedades mecânicas e biodisponibilidade do produto fabricado, chamando-

se este processo de estudo de funcionalidade de excipiente (ARMSTRONG, 1997).

### 2.3- Excipientes e processo de fabricação

Pode se afirmar sem sombra de dúvidas, que a influência de um excipiente em uma formulação farmacêutica, especialmente numa formulação genérica, é determinante para sua efetividade farmacológica (JACKSON, YOUNG & PANT, 2000). No caso de comprimidos, em especial os preparados por compressão direta, estes excipientes e o estudo de sua funcionalidade, deve ser cuidadosamente avaliado, sendo os de maior importância os diluentes, absorventes, aglutinantes, molhantes, desintegrantes e lubrificantes. As principais funções e propriedades destes excipientes se encontram abaixo descritas.

**Diluentes:** são produtos ordinariamente inertes, que se adicionam aos pós ao comprimir com a finalidade de originarem comprimidos com peso conveniente. Podem ser solúveis (lactose, manitol) e insolúveis (amido, celulose microcristalina) .

**Absorventes:** são substâncias que se adicionam com a finalidade de absorver água. Outras vezes servem para incorporar princípios ativos higroscópicos, evitando que a umidade do ar ou residual dos pós provoque alteração dos mesmos (PRISTA, ALVES & MORGADO, 1995). O dióxido de silício vem sendo muito utilizado para aumentar as propriedades de escoamento de pós (FURLAN, 1999).

**Aglutinantes:** certas substâncias não podem aglomerar-se, solidamente, qualquer que seja a pressão sobre ela exercida. Procura – se empregar a mínima quantidade possível visto que se opõem à desintegração dos comprimidos. São em geral compostos de longa cadeia (sacarose, polivinilpirrolidona, goma de amido).

**Molhantes:** a maioria possui propriedades tensoativas e provoca um aumento da velocidade de desintegração, pois se embebem mais facilmente em água (laurilsulfato de sódio, polissorbato 80).

**Desintegrantes (desagregantes):** são utilizados para acelerar a dissolução ou desintegração dos comprimidos em água ou nos líquidos do organismo, pois para que se verifique adequada atividade terapêutica é necessário que os comprimidos se desagreguem rapidamente para se permitir a ação desejada. Assim os comprimidos devem apresentar um tempo limite para que se realize a sua total desintegração, tempo esse que pode variar em função dos princípios ativos ou com a velocidade de absorção que se pretende. Para não comprometimento da velocidade de desintegração a compressão exercida também não pode ser demasiada. A adição dos desintegrantes geralmente é feita após a etapa de granulação.

Os desintegrantes mais populares são o amido de milho e seus derivados tais como o amido pré-gelatinizado e o amido glicolato de sódio, porém um novo grupo chamado super-desintegrantes tem se revelado de grande importância. O nome veio do fato de se utilizar baixas concentrações nas formulações para se ter uma adequada desintegração. São exemplos: croscarmelose sódica e a crospovidona.

Possuem 3 mecanismos de desintegração propostos:

- Inchando em contato com a água, o que permite uma penetração rápida do líquido e favorece a separação dos grãos constituintes do comprimido.
- Reagindo com água ou com ácido clorídrico do estômago e libertando gases (para o caso de comprimidos efervescentes)
- Dissolvendo-se na água e, assim abrindo canalículos que facilitam a desintegração (PRISTA, ALVES & MORGADO, 1995).

O desenvolvimento dos super-desintegrantes provocou uma nova avaliação da teoria do mecanismo de desintegração. Apesar da croscarmelose ser o agente desintegrante mais eficiente, é postulado que a taxa, força e extensão de intumescimento tenha um papel importante na *performance* do mesmo. A crospovidona já teria outro mecanismo que seria por capilaridade (RUDNIC & SCHWARTZ, 2000).

**Lubrificante:** são substâncias capazes de assegurar um completo enchimento da matriz e de evitarem a aderência dos pós aos cunhos da máquina, durante a compressão. O mecanismo da ação lubrificante consiste

em introduzir, entre duas superfícies que se friccionam e onde haverá atrito, uma película que as separe. Qualquer que seja o tipo de lubrificante observa – se maior eficácia quando se mistura este com o granulado já seco e imediatamente antes da compressão. São insolúveis em água e dotados de propriedades hidrofóbicas, opondo-se, portanto, de certo modo, à penetração de água no comprimido (estearato de magnésio, talco) (PRISTA, ALVES & MORGADO, 1995).

### **2.3.1 - Excipientes incrementadores de dissolução**

Um dos desafios mais relevantes na rotina de desenvolvimento de formulações, sem dúvida alguma se concentra da otimização da dissolução do ativo nela contido. Maximizar a estrutura porosa da matriz de um comprimido ou incorporar agentes desintegrantes apropriados e/ou excipientes mais solúveis em água na sua fórmula são técnicas básicas usadas nas tecnologias atuais. A modificação na estrutura da formulação pode ser conseguida pela moldagem de comprimidos, liofilização e “spray-drying” de excipientes ou sublimação de ativos farmacêuticos (CORVELEYN & REMON, 1997; CHANG *et al.*, 2000). Sistemas de dispersões sólidas vem sendo utilizadas para aumentar a taxa de dissolução de fármacos de baixa solubilidade (OKONOGI, 1997; MOSHARRAF & NYSTROM, 1999; LEUNER & DRESSMAN, 2000; MOOTER *et al.*, 2001). O uso de técnicas de inclusão em ciclodextrinas e o uso de excipientes derivados do açúcar, também figuram entre as técnicas de promoção de dissolução (DÍAZ *et al.*, 1996; CHANG *et al.*, 2000 ).

### **2.4- Excipientes baseados em açúcares**

Dentre os excipientes desta classe mais utilizados na rotina de trabalho da indústria farmacêutica temos o sorbitol, manitol, dextrose, xilitol, frutose, maltose, isomalte, maltitol, lactitol, amido hidrolizado e polidextrose. Seu uso principal se direciona a processos de compressão direta, em especial, para a preparação de comprimidos sub-linguais e bucais e comprimidos mastigáveis. Devido a sua alta solubilidade aquosa e sabor agradável, quase todas as



formulações contendo estes derivados possuem dissolução rápida e tempo de desintegração reduzido. Apesar de nem todos estes derivados apresentarem compressibilidade e/ou compactabilidade adequados, estes podem ser modificados para serem utilizados em compressão direta (CHANG et al., 2000).

Uma breve explanação é apresentada abaixo em relação a alguns derivados de açúcares utilizados neste trabalho:

**Maltose:** é um dissacarídeo não higroscópico de alta compressibilidade, e os comprimidos obtidos tendem a não serem friáveis e terem uma excelente desintegração utilizando baixa força de compressão. A média do tempo de desintegração é reduzida pelo menos a 50 % sem o uso de super-desintegrantes. Por ser “spray dried” fornece uma morfologia esférica o que lhe dá ótima fluidez. Possui um sabor agradável e é 33 % tão doce quanto a sacarose (BOWE et al., 1997). Pode ser utilizada sozinha ou em conjunto com outros excipientes para melhorar a formação dos comprimidos (BOWE, 1998).

**Sorbitol:** é amplamente utilizado como excipiente em comprimidos tanto preparados por compressão direta, quanto por granulação úmida. Possui sabor agradável e sensação de resfriamento, tem 50 – 60 % do poder adoçante da sacarose. É um álcool isômero do manitol (WADE & WELLER, 2000).

**Xilitol:** suas principais propriedades são, proteção dental, baixa caloria e, além disso, é recomendado para diabéticos. Outras propriedades seriam o poder adoçante quase igual ao do açúcar, efeito de resfriamento (sabor refrescante), alta solubilidade, baixa viscosidade, baixa umidade, alta pureza microbiológica, alta estabilidade química e térmica, moderadamente higroscópico. É muito utilizado em balas e em produtos farmacêuticos de venda livre denominados “sugar free” (vitaminas e minerais, antiácidos, etc), em produtos de higiene oral e dental e em cosméticos (WADE & WELLER, 2000). Várias formas diretamente compressíveis de xilitol são comercializados já misturados com auxiliares de compressão, são exemplos: o “Xylitab”, o qual contém 3 % de sorbitol, “Xylitab” 100 que contém 3% de polidextrose e “Xylitab” 200 que contém 1,5 % de carboximetilcelulose (MORRIS, MOORE & SCHWARTZ, 1996; CIRUNAY & VERCAMMEN, 1997; CIRUNAY & VERCAMMEN & PLAIZER, 1997).

**Manitol:** Foi formalmente introduzido como excipiente para fabricação de comprimidos em 1958. Desde então sempre foi muito usado na preparação de comprimidos mastigáveis, devido ao seu sabor agradável (DAOUST & LYNCH, 1963). Tem muitas aplicações na fabricação de comprimidos convencionais, onde a ausência de higroscopicidade e inércia são desejadas. Os comprimidos obtidos têm ótimo aspecto e se dissolvem rapidamente. O manitol é um álcool isômero do sorbitol, é tão doce quanto a glicose e tem 50% da doçura da sacarose, dá também sensação refrescante na boca (WADE & WELLER, 2000).

**Isomalte:** é um substituto do açúcar constituído de álcoois dissacarídeos. O isomalte é um edulcorante e agente de corpo que pode substituir o açúcar na proporção 1:1. As particularidades nutricionais e fisiológicas do Isomalte o tornam o ingrediente ideal para uso em produtos isentos de açúcar, não é cariogênico, possui calorias reduzidas e é recomendado para diabéticos. Substância inodora, branca e cristalina, com aproximadamente 5 % de água de cristalização. Possui baixa higroscopicidade e boa resistência ao calor. Possui uma enorme variedade de aplicações como em gomas de mascar e balas duras. Neste último caso o estudo de seu perfil térmico por ACV é importante para que se mantenha a qualidade do processo (CAMMENG & ZIELASKO, 1996). A forma diretamente compressível é o Isomalte DC o qual tem boa compressibilidade, permite boa fluidez e dureza e dá excelente estabilidade aos comprimidos. Tem efeito refrescante menor do que os outros polióis (NDINDAYINO *et al.*, 1999; NDINDAYINO *et al* , 2002; NDINDAYINO *et al* , 2002a; NDINDAYINO *et al* , 2002b).

**Maltitol:** pó cristalino branco. É um dissacarídeo constituído de uma unidade de glicose e outra de sorbitol em ligação  $\alpha$  1-4. Usado na indústria farmacêutica em formulações para sólidos orais. É um adoçante não cariogênico, tão doce quanto a sacarose (WADE & WELLER, 2000).

## 2.5- Uso de super-desintegrantes

Um número de desintegrantes, conhecidos como superdesintegrantes, estão disponíveis no mercado. Estes superdesintegrantes (croscarmelose sódica, amido glicolato de sódio e crospovidona) diminuem o tempo de desintegração em concentrações bem baixas na formulação, mas sua eficiência depende do processo de fabricação e as características físico-químicas da formulação do comprimido (FERRERO *et al.*, 1997; YEN *et al.*, 1997). Os comprimidos com uma mesma concentração total de desintegrantes se dissolvem mais rápido do que quando o superdesintegrante é incluído intragranularmente. Portanto a sua utilização extragranular exhibe os melhores resultados de dissolução. Várias pesquisas vem sendo realizadas neste tema, dentre elas, o uso do dióxido de carbono, como um mecanismo de desintegração assim como a tecnologia “flashtab” que se baseia em um processo para produção de comprimidos multiparticulados. A técnica envolve o uso de multipartículas de substâncias ativas revestidas, um desintegrante, um agente de intumescimento e outros excipientes para formar comprimidos multiparticulados que se desintegram rapidamente (CHANG *et al.*, 2000).

Independente da alternativa tecnológica utilizada para se obter melhora da dissolução de uma forma farmacêutica qualquer, a ferramenta mais eficaz para se monitorar os resultados obtidos seria o teste de dissolução da mesma, associado preferencialmente, a testes de biodisponibilidade através das correlações *in vitro*–*in vivo* (CDER/FDA, 2002a; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002a).

## 2.6 - Estudos de dissolução

### 2.6.1 - Fatores físico-químicos que influenciam o ensaio de dissolução

O ensaio de dissolução mede a velocidade e a extensão da quantidade de fármaco que se dissolve, em um meio aquoso, na presença de um ou mais excipientes contidos na forma farmacêutica avaliada (CDER/FDA, 2002a). De fato, o teste ou ensaio determina a percentagem da quantidade de fármaco, em

relação ao declarado no rótulo do produto, liberado no meio de dissolução, dentro de um determinado período de tempo, e submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais definidas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988a; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002a).

A realização do ensaio de dissolução objetiva:

- Orientar o desenvolvimento e a otimização de formulações e processos.
- Monitorar os processos de fabricação, tanto durante a fase de desenvolvimento quanto após a aprovação do produto.
- Garantir contínua *performance* e qualidade do produto após algumas mudanças (formulação, processo de fabricação, local de produção, ampliação da escala de produção).
- Avaliar a qualidade lote-a-lote de um medicamento, minimizando o risco da falta de bioequivalência entre lotes.
- Obter a aprovação do órgão competente para as formas farmacêuticas sólidas de uso oral .

Em uma situação ideal, as condições nas quais o ensaio de dissolução deveria ser conduzido, seriam aquelas que mimetizassem as fisiológicas, favorecendo uma interpretação direta dos resultados *in vitro* com a *performance in vivo* do produto. Entretanto, no desenvolvimento do teste de dissolução, observou-se que não há necessidade de rigorosa identidade ao ambiente gastrintestinal, uma vez que as características físico-químicas do fármaco podem predominar na escolha das condições (CDER/FDA, 2002a).

Desta forma, os fatores que influenciam o ensaio de dissolução, como o meio dissolvente, a temperatura, a velocidade , o tipo de agitação e a verificação do equipamento, devem ser atenciosamente observados, com o intuito de que o mesmo possa ser considerado uma estimativa dos ensaios *in vivo* (SKOUG *et al.*, 1997).

#### **2.6.1.1. - Meio de dissolução**

A seleção de um meio apropriado para o ensaio de dissolução depende, grandemente, da solubilidade do fármaco, assim como de aspectos econômicos e práticos (ABDOU, 2000). Quando o meio de dissolução for uma solução tampão, o pH deve ser ajustado com uma precisão de  $\pm 0,05$  unidades de pH do valor especificado na monografia do produto, empregando-se potenciômetro calibrado (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988a; CONCHA, 1992 ; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002a).

#### **2.6.1.2. – Volume**

O volume do meio de dissolução depende, em grande parte, da solubilidade do fármaco no meio selecionado para o ensaio; quando a mesma é baixa e a quantidade do fármaco na forma farmacêutica é alta, necessita-se de um maior volume de meio, de modo a evitar o alcance da concentração de saturação. O volume utilizado do meio de dissolução é, geralmente, 500, 900 ou 1000 ml, porém volumes superiores podem ser requeridos (CDER/FDA, 2002a).

#### **2.6.1.3. - Adição de tensoativos**

Os tensoativos podem aumentar a dissolução e liberação de fármacos muito pouco solúveis, de suas formas farmacêuticas (SCHOTT, KWAN & FELDMAN, 1982; SHAH *et al.*, 1995; MASSIK, 1996; GALIA, HORTON & DRESSMAN, 1999). Sua pureza precisa ser adequada pois a presença de impurezas pode produzir mudanças significativas no perfil de dissolução (CRISON, WEINER & AMIDON, 1997). O laurilsulfato de sódio e o polissorbato 80 são os tensoativos mais freqüentemente utilizados para este fim. Na United States Pharmacopeia (2002a), baixos níveis dos mesmos são indicados para serem incluídos no meio de dissolução, de maneira a fornecer uma melhor correlação entre as condições *in vivo* e os dados *in vitro* (ABDOU, 2000).

#### **2.6.1.4. - Presença de gases dissolvidos**

A presença de gases ou ar dissolvidos no meio fornece, provavelmente, uma influência física, visto que as bolhas existentes no meio podem aderir às formas farmacêuticas antes da desintegração reduzindo a área superficial exposta ao solvente, alterando o modelo de fluxo. Existem várias formas de eliminar a presença de ar no meio de dissolução, como filtração a vácuo, borbulhamento de gás hélio e aquecimento da água sob vácuo com ou sem ultra-som (CONCHA, 1992; SKOUG *et al.*, 1997).

#### **2.6.1.5. - Temperatura**

A solubilidade de um fármaco é dependente da temperatura, geralmente de forma linear. Os efeitos das variações de temperatura estão relacionados com as curvas de solubilidade versus temperatura do fármaco e de seus excipientes. Assim, um cuidadoso controle da temperatura durante o processo de dissolução é muito importante e deve ser mantido dentro de limites de variação muito estreitos ( $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) (ABDOU, 2000). Toda a literatura pertinente especifica  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  como temperatura de trabalho durante o ensaio de dissolução (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988a ; CONCHA, 1992 ; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002a). A temperatura deve ser equilibrada antes do ensaio, monitorada durante este e verificada ao final do mesmo . Tampas adequadas devem ser utilizadas para retardar a evaporação do meio de dissolução durante a análise (CONCHA, 1992).

#### **2.6.1.6. - Sistema e velocidade de agitação**

A dissolução dos sólidos varia consideravelmente com o tipo e velocidade de agitação empregados. Idealmente, procura-se manter um fluxo laminar, evitando-se um fluxo turbulento, de modo a favorecer a reprodutibilidade nos ensaios. Em geral, condições suaves de agitação devem ser mantidas durante o teste de dissolução para permitir um máximo poder

discriminatório e detectar produtos que possam vir a apresentar baixa *performance in vivo*. Usando o aparato 1, a velocidade de agitação comum é 50-100 rpm; com o aparato 2, é 50-75 rpm (ABDOU, 2000; CDER/FDA, 2002a).

#### **2.6.1.7. – Verificação do equipamento**

Uma avaliação física do equipamento deve ser realizada regularmente, tais como excentricidade do agitador e alinhamento das hastes. A calibração deve ser feita com comprimidos calibradores certificados de prednisona e ácido salicílico. A variabilidade dos resultados de dissolução deve ainda ser acompanhada em estudos multilaboratoriais internacionais (QURESHI & MCGILVERAY, 1999; MACHERAS, DOKOUMET & ZIDIS, 2000; QURESHI & SHABNAM, 2001; SIEWERT *et al.*, 2002).

#### **2.6.2. - Correlações entre os ensaios *in vitro* e os estudos *in vivo***

Dados de dissolução *in vitro* são de limitado valor se não há alguma informação disponível sobre sua relevância quando em comparação com a *performance in vivo* da formulação especialmente sua biodisponibilidade. Assim, os testes *in vitro*, devem ser validados por uma correlação com o perfil de concentração plasmática do fármaco, para que estes possam ser considerados um instrumento significativo de controle de qualidade, e úteis como ferramenta para o desenvolvimento de formulações e um indicativo do perfil de biodisponibilidade do fármaco (DRESSAMAN *et al.*, 1998; LOBENBERG *et al.*, 2000; CDER/FDA, 2002b). Esta correlação *in vitro-in vivo* constitui ainda assunto de debate entre organismos regulamentadores governamentais, indústria farmacêutica e comunidade acadêmica, tanto na Europa como nos Estados Unidos (SKOUG *et al.*, 1997).

A correlação *in vitro-in vivo* refere-se ao estabelecimento de uma relação racional entre uma propriedade ou efeito biológico produzido por um fármaco, administrado em uma determinada forma farmacêutica, e uma propriedade ou característica físico-química dessa mesma formulação. As propriedades

biológicas mais comumente empregadas são um ou mais parâmetros farmacocinéticos, como  $C_{\text{máx}}$  (concentração máxima do fármaco atingida no plasma), ASC (área sob a curva de concentração plasmática do fármaco em função do tempo) ou  $t_{\text{máx}}$  (tempo no qual  $C_{\text{máx}}$  é alcançada), obtidos após a administração da forma farmacêutica aos indivíduos participantes do ensaio de biodisponibilidade. Por sua vez, a propriedade físico-química mais utilizada refere-se à cinética de dissolução *in vitro* da forma farmacêutica (percentagem de fármaco dissolvido em função do tempo) (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995 ; JUNG, 1997; SKOUG *et al.*, 1997; MODI *et al.*, 2000; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b).

Desta forma, busca-se obter uma relação entre as duas propriedades, biológica e físico-química, que possa ser expressa quantitativamente. Caso isto ocorra, os dados obtidos *in vitro* poderão ser empregados na previsão do comportamento do produto no organismo (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995).

#### **2.6.2.1- Níveis de correlação**

Os métodos mais empregados para o estabelecimento de correlação *in vitro-in vivo* são classificados em três níveis, de acordo com a habilidade do mesmo em refletir a curva de concentração plasmática do fármaco versus o tempo, resultante da administração da forma farmacêutica (CARDOT & BEYSSAC, 1993; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b).

##### **2.6.2.1.1- Correlação nível A**

Uma das principais vantagens da correlação nível A é que sendo uma relação ponto a ponto de dados de biodisponibilidade *in vivo* e dissolução *in vitro*, a curva desta última pode substituir a *performance in vivo* (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995; PEDERSEN *et al.*, 2000; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b) . Assim, alterações no local ou método de produção, nos fornecedores de matéria-prima e na formulação podem ser justificadas sem



a necessidade de estudos adicionais em humanos (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b)

#### **2.6.2.1.2- Correlação nível B**

Utiliza os princípios da análise de momentos estatísticos. Tal como ocorre com o nível A, o nível B utiliza todos os dados obtidos *in vivo* e *in vitro*, mas não há correlação ponto a ponto, pois o método não descreve de modo completo a curva de dissolução *in vivo*. Formulações com diferentes perfis de concentração plasmática podem ser caracterizadas por um mesmo tempo médio de dissolução *in vivo*. Por esta razão, ao contrário do caso de correlação nível A, não se pode confiar apenas na correlação nível B para justificar modificações na formulação, mudanças no local de produção, alterações na origem dos excipientes, etc (CDER/FDA, 2002b; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b).

#### **2.6.2.1.3- Correlação nível C**

Esta categoria relaciona um determinado tempo de dissolução ( $t_{50\%}$ ,  $t_{90\%}$ , etc.) a um determinado parâmetro farmacocinético (ASC,  $C_{\text{máx}}$  ou  $t_{\text{máx}}$ ) sendo considerada correlação de um simples ponto, não refletindo o perfil da curva de concentração plasmática do fármaco versus tempo (CDER/FDA, 2002b; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b). Várias correlações nível C foram descritas na literatura (CUTLER, BEYSSAC & AIACHE, 1997; LAKE, OLLING & BARENDT, 1999; BALAN *et al.*, 2000; BALAN *et al.*, 2001; ZERROUK *et al.*, 2001). Uma vez que este tipo de correlação não fornece uma previsão da *performance in vivo* do produto, geralmente é apenas útil como um guia no desenvolvimento de formulações ou como um procedimento de controle de qualidade da produção (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b).

A correlação nível C múltipla relaciona um ou mais parâmetros farmacocinéticos com a quantidade de fármaco dissolvido em vários pontos de

tempos do perfil de dissolução. Pode ser utilizada, assim como a correlação nível A, com o ponto de vista regulatório (UPPOOR, 2001; SPIEGELEER *et al.*, 2001).

### **2.6.3. - Possibilidade de correlação in vitro-in vivo e Classificação Biofarmacêutica**

Considerando-se a correlação biofarmacêutica proposta por Amidon *et al.* (1995), pode-se especular em que categorias de fármacos, de acordo com suas propriedades físico-químicas, poderia se estabelecer de maneira mais ou menos óbvia uma boa correlação in vitro-in vivo. Os fármacos da classe I são bem absorvidos e o passo limitante de sua absorção/distribuição pode ser a dissolução da forma farmacêutica ou, então, o tempo de esvaziamento gástrico, caso a dissolução seja muito rápida (AMIDON *et al.*, 1995). Os testes de dissolução para formas farmacêuticas de liberação imediata de fármacos desta classe são realizados apenas para verificar se o fármaco é, de fato, rapidamente liberado de sua forma farmacêutica sob condições aquosas suaves (DRESSMAN *et al.*, 1998). Para os fármacos da classe II, cujo perfil de dissolução deve ser claramente definido e reprodutível, a dissolução do fármaco *in vivo* pode ser o passo limitante de sua absorção oral e uma correlação in vitro-in vivo pode ser esperada mais facilmente (AMIDON *et al.*, 1995; CDER/FDA, 2002a). O estabelecimento de uma correlação in vitro-in vivo e a habilidade para discriminar formulações com diferentes biodisponibilidades, dependem da maneira como os testes *in vitro* são planejados, devendo reproduzir o máximo possível às condições existentes no TGI. A comparação adequada de formulações de fármacos desta classe requer testes de dissolução com múltiplos tempos de amostragem, de maneira a caracterizar o perfil de liberação, e, em alguns casos, toma-se necessário o uso de vários meios de dissolução (DRESSMAN *et al.*, 1998).

A permeabilidade é o passo limitante da absorção dos fármacos da classe III (AMIDON *et al.*, 1995; CDER/FDA, 2002a) e uma limitada correlação in vitro-in vivo pode ser alcançada, dependendo da relação entre dissolução e

trânsito intestinal (CDER/FDA, 2002a). Os fármacos desta classe são rapidamente dissolvidos e o critério do teste de dissolução deve ser tal que a formulação libere o fármaco, dentro de um tempo predeterminado, em meio aquoso de força iônica baixa. Rápida dissolução é particularmente desejável, maximizando o tempo de contato entre o fármaco dissolvido e a mucosa absorvente, e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade (DRESSMAN *et al.*, 1998).

Os fármacos da classe IV apresentam significantes problemas de absorção oral, devido às suas características de solubilidade e permeabilidade, tornando improvável o estabelecimento de uma correlação *in vitro-in vivo* (AMIDON *et al.*, 1995; CDER/FDA, 2002a).

## 2.7. – Cetoconazol

Desde que, em 1944, Wooley descobriu que o benzimidazol apresentava propriedades antimicóticas, foram realizadas pesquisas visando a obtenção de derivados azólicos com utilidade no tratamento das micoses. Dentre as substâncias obtidas destacaram-se o clotrimazol, miconazol, econazol, isoconazol, tioconazol, oxiconazol, fenticonazol, omoconazol e bifonazol, substâncias pertencentes ao grupo químico dos imidazóis (Figura 1).

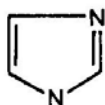


Figura 1 –Estrutura do anel imidazólico

Apesar da boa atividade antimicótica *in vitro* dos imidazóis, sua atividade *in vivo* permaneceu limitada ao tratamento de micoses superficiais, não apresentando perfil curativo em micoses profundas. Isto, deve-se a sua pequena absorção por via oral, elevada lipofilia e intensa metabolização hepática que resulta em baixos níveis sanguíneos e tissulares.

O cetoconazol (Figura 2) também um derivado imidazólico, representou um avanço na terapêutica das micoses sistêmicas, por apresentar atividade antimicótica ampla, ser absorvido por via oral, ser menos lipofílico e capaz de manter níveis sanguíneos mais elevados.

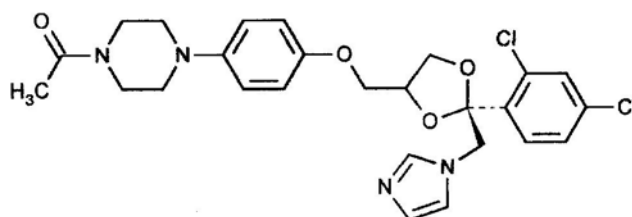


Figura 2 – Estrutura química do cetoconazol

A pesquisa visando à obtenção de novos agentes antifúngicos com amplo espectro de ação, absorção por via oral e parenteral, manutenção de níveis séricos e tissulares elevados e constantes e maior especificidade sobre o alvo de ação conduziu à descoberta de derivados triazólicos funcionalizados de uso clínico, como o terconazol, o fluconazol e o itraconazol (TAVARES,1996).

### 2.7.1 – Propriedades físico-químicas

- Nome químico do cetoconazol é cis-1- acetil-4-[4-[2-(2,4- diclorofenil) - 2 - (1H-imidazol - 1 - ilmetil) - 1,3 - dioxalan - 4 – il] metoxi fenil] – piperazina, de fórmula  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$  e peso molecular de 531,44g/mol (PARFITT, 2002; THE MERCK INDEX, 2001).
- O composto apresenta – se sob a forma de pó cristalino branco ou quase branco, possui faixa de temperatura de fusão de 148 - 152°C (THE MERCK INDEX, 2001).
- .O cetoconazol é uma base fraca dibásica com  $pK_a = 6,5$  e  $pK_a = 2,9$  (DRESSMAN&REPPAS, 2000; SKIBA *et al.*, 2000).
- $\log P = 4,3$  (GALIA *et al.*, 1998).

- É praticamente insolúvel em água (THE MERCK INDEX, 2001) com solubilidade intrínseca em água de 4,5 µg/ml (GALIA *et al.*, 1998). É solúvel 1:54 em etanol, 1:2 em clorofórmio, 1:9 em metanol e muito pouco solúvel em éter (THE MERCK INDEX, 2001).

O cetoconazol, senão estiver adequadamente formulado, sofre degradação incluindo oxidação e hidrólise especialmente em meio aquoso, onde, o controle de pH e a quantidade de antioxidante, são importantes (SKIBA *et al.*, 2000), assim como o controle de temperatura e presença de luz (ALLEN & ERICKSON, 1996).

### 2.7.2 – Propriedades farmacocinéticas

O cetoconazol é rapidamente absorvido por via oral. Após administração oral de doses de 200, 400, e 800 mg, o pico de concentração plasmática de cetoconazol foram de aproximadamente 4, 8, e 20 µg/ml, respectivamente, após 2 – 3 horas (BENNETT, 1996) variando a absorção com o estado da acidez gástrica, sendo maior em pH igual ou inferior a 2 (TAVARES, 1996). O pH influencia também os ensaios de dissolução e solubilidade *in vitro* de cetoconazol comprimidos (CARLSON, MANN & CANAFAX, 1983). A absorção pode ser diminuída em alguns pacientes pela acidez estomacal reduzida. Os fármacos alcalinos (antiácidos orais) e os bloqueadores de receptores H<sub>2</sub> diminuem a absorção do cetoconazol por aumentarem o pH do meio digestivo. Sendo assim, não devem ser administrados concomitantemente com o quimioterápico (DRESSMAN & REPPAS, 2000; DÍAZ *et al.*, 2001).

Devido a baixa solubilidade em água não se utiliza o cetoconazol sob a forma injetável, sendo assim, não se encontra descrita a biodisponibilidade absoluta do fármaco. A biodisponibilidade relativa de cetoconazol comprimidos e suspensão em relação a solução oral foi estudada em voluntários saudáveis por CLAE apresentando valores de 81,2 e 89,0% respectivamente em relação a solução (HUANG *et al.*, 1986).

Sua absorção é menor em indivíduos idosos, em pessoas submetidas à gastrectomia e em pacientes com SIDA, que têm deficiência de secreção gástrica ácida. Nestes casos, recomenda-se a administração do cetoconazol junto com suco de limão ou de laranja (LELAWONGS *et al.*, 1988) e até mesmo coca – cola (CHIN, LOEB & FONG, 1995). A ingestão de cetoconazol com suco de laranja produz um pico plasmático intermediário de 3,6 mg/ml.

Além disso, a absorção por via oral é prejudicada pela ingestão de alimentos ricos em carboidratos e aumenta com a alimentação rica em gorduras (LELAWONGS *et al.*, 1988).

Distribui-se de modo adequado pelos líquidos e tecidos orgânicos, mas não atinge concentrações terapêuticas no líquido cefalorraquidiano (TAVARES, 1996), por tal motivo é desprovida de valor no tratamento de meningites por fungos. Também não atinge concentrações ativas na saliva e na urina (TAVARES, 1996). Seu volume de distribuição é de  $2,4 \pm 1,6$  (l/Kg) (BENNETT, 1996).

No sangue 84% de cetoconazol está ligado a proteínas plasmáticas, principalmente albumina; 15% está ligado a eritrócitos, e 1% está livre. (BENNETT, 1996).

É metabolizado no fígado e tem ação hepatotóxica, ocorrendo alterações da função hepática em 2% a 5% dos pacientes utilizando doses terapêuticas convencionais. Eventualmente, quadros clínicos de hepatite tóxica têm sido registrados (TAVARES, 1996). No homem a importante etapa metabólica é a oxidação do anel imidazol, degradação do imidazol oxidado, dealquilação oxidativa, degradação oxidativa do anel piperazínico e hidroxilação do anel aromático. No entanto, nenhum dos metabólitos identificados, possui atividade antifúngica. Após administração oral o cetoconazol sofre o efeito de primeira passagem e é observado aumento desproporcional da ASC após doses orais de 100, 200 e 400 mg (DANESHMEND & WARNOCK, 1983).

É excretado sob a forma de metabólitos inativos na urina (excreção urinária: menor que 1%), bile e fezes, possui um clearance de  $8,4 \pm 4,1$  ml/min.Kg (BENNETT, 1996). O tempo de meia vida plasmática é de 6 – 10 horas (CLARKE'S, 1986).

Empregando o método de cromatografia gasosa monitorou-se concentrações de cetoconazol por 48 horas e pode-se descobrir que o mesmo possui uma fase de eliminação lenta seguida de uma meia vida terminal em voluntários sadios de 6,5; 8,1 e 9,6 horas após doses de 100, 200 e 400 mg, respectivamente. Isto mostra que a cinética do cetoconazol após administração oral segue o modelo bicompartimental. A fase de eliminação lenta também é dose dependente.

### 2.7.3 – Propriedades farmacodinâmicas e mecanismo de ação

O cetoconazol foi descoberto por pesquisadores da Indústria Janssen Farmacêutica, Bélgica, tendo recebido inicialmente o nome de código R 41.400 e sendo introduzido na terapêutica em 1978. É um fármaco de amplo espectro de ação contra fungos, mostrando-se ativo contra os dermatófitos. Tem ação leishmanicida *in vitro*, porém sua ação terapêutica na leishmaniose tegumentar americana é lenta e inconstante. A concentração inibitória sobre os fungos sensíveis situa-se entre 0,01 e 11 mcg/ml. É solúvel em ácidos e absorvível por via oral, sendo eficaz na terapia de micoses superficiais e profundas. Não é administrado por via parenteral por ser pouco solúvel em água (TAVARES, 1996).

Como os demais derivados imidazólicos antifúngicos, o cetoconazol exerce ação fungicida por alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática dos fungos sensíveis, que passam a perder cátions, proteínas e outros elementos vitais, ocorrendo, por fim, o rompimento da membrana. Esta ação decorre de sua interferência na síntese de esteróis da membrana, inibindo a formação do ergosterol a partir do seu precursor, o lanosterol. Esta atividade resulta da ação inibitória do cetoconazol (e dos demais derivados azólicos) sobre a enzima citocromo P-450, a qual é responsável pela síntese e degradação dos ácidos graxos e esteróides endógenos nas células animais, vegetais e seres unicelulares. Esta ação sobre a membrana é variável de acordo com o fungo e a dose do medicamento, agindo não só sobre as células fúngicas, mas, também, inibindo a síntese de estrogênios e testosterona no

homem. Além deste mecanismo de ação, o cetoconazol e demais derivados imidazólicos alteram a síntese de triglicerídeos e fosfolípidos e, em alta concentração, provocam a morte celular por causarem acúmulo de água oxigenada ao bloquearem enzimas peroxidativas.

O cetoconazol apresenta elevada eficácia após administração por via oral no tratamento da candidíase oral, esofagiana, cutânea e vulvovaginal, nas dermatofitoses e pitíriase versicolor. Sua eficácia na candidíase sistêmica no paciente imunocomprometido é irregular, mas o fármaco mostra-se útil na terapia da candidíase ocular e osteoarticular em pacientes viciados em drogas injetáveis e na candidíase esofagiana em pacientes com SIDA.

A dose adulta máxima recomendada para o cetoconazol é de 400 mg/dia (TAVARES, 1996). Em crianças 3,3-6,6 mg/Kg/dia (BENNETT, 1996). Como já referido, a absorção oral do cetoconazol é maior em meio ácido, recomendando-se sua ingestão junto com a alimentação e com sucos cítricos (TAVARES, 1996). O tratamento pode durar 5 dias para cândida vulvovaginal, 2 semanas para candidíase oral e esofágica e 6 – 12 meses em micoses profundas. A lenta resposta da terapia faz o fármaco ser inadequado para pacientes com severa e progressiva micose (BENNETT, 1996).

O cetoconazol é habitualmente bem tolerado. Em alguns pacientes pode provocar náuseas, vômitos, desconforto abdominal, tonteados, cefaléia, alopecia, diminuição da libido, prurido e diarreia.

O cetoconazol não é recomendado em gestantes e seu uso em nutrizes acompanha-se da excreção para o leite; por este motivo é aconselhável à mulher sob tratamento com o cetoconazol não amamentar (TAVARES, 1996).



#### **2.7.4 – Formas farmacêuticas e de apresentação**

O cetoconazol apresenta-se, no mercado brasileiro, sob a forma de comprimido de 200 mg caixa com 10 ou 30 comprimidos, creme a 2% em bisnaga de 30 g e xampu a 2% em frasco de 100 ml (DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS, 2001/02). Já existem também sendo comercializados 5 medicamentos genéricos no mercado nacional e dois processos com pedido de registro em andamento (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003).

---

---

***OBJETIVOS***

---

---

## 1-OBJETIVOS GERAIS

Tomou-se como objetivo principal deste trabalho, o estudo do desenvolvimento racional de formulações genéricas de comprimidos de cetoconazol de 200 mg, de forma a não só, se obter um novo medicamento de qualidade, como também, traçar um perfil preliminar dos prós e contras da atual legislação de medicamentos genéricos no Brasil, especificamente, no que tange aos seus parâmetros técnicos.

## 2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver novas formulações para comprimidos genéricos de cetoconazol 200 mg;
- Desenvolver alternativas tecnológicas para a melhoria do perfil de dissolução de comprimidos visando à obtenção de formas farmacêuticas sólidas orais.
- Avaliação do uso de excipientes incrementadores de dissolução para compressão direta;
- Avaliação comparativa do uso de superdesintegrantes em formulações genéricas de fármacos Tipo II, segundo a classificação biofarmacêutica de Amidon (1995);
- Estabelecer condições adequadas para o teste de dissolução de comprimidos de cetoconazol, através do estabelecimento de correlação in vitro-in vivo nível C, já que o fármaco modelo não possui metodologia analítica de dissolução descrita em compêndios oficiais;
- Traçar um perfil das características da matéria-prima cetoconazol, de forma a se estabelecer suas especificações, em quanto matéria prima farmacêutica, para produtos genéricos;
- Realizar o estudo de estabilidade da formulação eleita como ideal;
- Comparar sua *performance* com produtos genéricos de cetoconazol comercializados no mercado nacional.

---

---

## ***MATERIAIS E MÉTODOS***

---

---

## 1 - Materiais

### 1.1. - Equipamentos

- Agitador magnético multipontos (IKA – E0A9);
- Aparelho de análise calorimétrica diferencial de varredura (Perkin Elmer - DSC 7);
- Aparelho de análise calorimétrica diferencial de varredura (Shimadzu - DSC 60) ;
- Balança de infravermelho (Sartorius - LJ16) ;
- Balanças (Mettler Toledo – PB 303, PB602 e SB24001);
- Balança analítica (Sartorius – BP210s);
- Centrífuga (QUIMIS – Q222D);
- Coluna  $\mu$ Bondapak RP – 18 , 3,9 X 300 mm, 10  $\mu$ m, n ° série W02062DO23, Lote W02062 (WATERS);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência MERCK – bomba modelo L6000 – A, detector de UV - visível modelo L4250, auto amostrador modelo AS 2000A ;
- Cronômetro (Technos- TEC 426);
- Desintegrador (Erweka – ZT 61);
- Dissolutor (Distek - 2100 A);
- Durômetro automático (Erweka – TBH 30);
- Espectrofotômetro UV - visível (Varian - DMS 100 );
- Espectrofotômetro UV - visível (Varian – CARY 3 BIO);
- Equipamento de infravermelho (Perkin Elmer -FT-IR Spectrum 1000);
- Friabilômetro (Erweka – TAR 10) ;
- Foto-microscópio ótico (Olympus - BX50);
- Gral e pistilo de ágata

- Gral e pistilo de porcelana
- Máquina de compressão rotativa de 10 punções (Piccola) ;
- Misturador em V (Marconi);
- Misturador planetário (Amadio);
- Moinho oscilante (Erweka);
- Paquímetro digital (Mitutoyo);
- Peneiras manuais 5,0; 0,8 e 0,5 mm (Abrozinox);
- Pipetador automático (Drummond - Pipet – aid);
- Placa de aquecedora com agitação (IKA - RCT basic);
- Purificador de água por osmose reversa (Millipore - Rio's 5);
- Potenciômetro (INOLAB - WTW LEVEL2);
- Ultra-purificador de água (Millipore - Milli Q gradient);
- Ultra-som (Thornton – T50);
- Secador de Leito Fluidizado (Bukard);

## **1.2– Reagentes e insumos**

- Acetato de Amônio anidro P.A. (Merck);
- Acetato de sódio trihidratado P.A. (Merck);
- Ácido acético glacial P. A. (Merck);
- Ácido clorídrico 37 % (Synth);
- Ácido fosfórico P.A. (Merck)
- Álcool etílico P. A. (Isofar);
- Cellactose 80 (CELLACTOSE 80 - Meggle) ;
- Celulose microcristalina PH 200 (AVICEL - FMC);
- Cetoconazol - Fornecedor A (Espanha);
- Cetoconazol - Fornecedor B (Espanha);
- Cetoconazol - Fornecedor C (Espanha);
- Cetoconazol - Fornecedor D (México);
- Cetoconazol - Fornecedor E (Coreia);

- Cetoconazol padrão primário USP (Lote G3);
- Cetoconazol substância de referência (teor 99,89 %, lote KZL – 18/99);
- Cloreto de metileno para CLAE (Merck);
- Cloreto de sódio P.A. (Merck);
- Croscarmellose sódica (ACDISOL – FMC) ;
- Crospovidona (Kollidon CL – Basf);
- Diisopropilamina P.A. (Merck);
- Fosfato monobásico de potássio (Merck);
- Isomalt DC (Palatinit ) ;
- Lactitol Anidro pó ( moído) (Danisco Sweeteners) ;
- Lactose monohidratada “spray dried” e malha 200 (Wyndale);
- Laurilsulfato de sódio (Merck);
- Maltitol pó (AMALTY MR 50 - Towa Chemical Industry ) ;
- Maltose cristalina (Avantose 100 - SPI Polyols);
- Manitol (PARTECK M 200 - Merck );
- Metanol para CLAE (Tedia);
- Óleo mineral (NUJOL – Schering Plough)
- Polissorbato 80 (Merck);
- Soluções tampão pH 4,0 e 7,0 (QM Reagentes)
- Sorbitol (Merck);
- Xilitol pó (moído) (Xilitol CM - Danisco Sweeteners)

### **1.3– Produtos farmacêuticos**

- Formulação A: Medicamento referência - comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, adquiridos no mercado, acondicionados em blister incolor contendo 10 comprimidos, lote 001254, com data de fabricação de março de 2000 e validade de 36 meses.
- Formulação B: Medicamento referência - comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, adquiridos no mercado, acondicionados em blister incolor contendo 10

comprimidos, lote 013720, com data de fabricação de novembro de 2000 e validade de 36 meses.

- Formulação C: Medicamento referência - comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, adquiridos no mercado, acondicionados em blister incolor contendo 10 comprimidos, lote 202541, com data de fabricação de maio de 2002 e validade de 36 meses.
- Formulação D: Medicamento candidato a genérico - comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, acondicionados em blister incolor contendo 10 comprimidos, lote 0003001, com data de fabricação de março de 2000 e validade de 24 meses.
- Formulação E: Medicamento genérico – comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, adquiridos no mercado, acondicionados em blister incolor contendo 10 comprimidos, lote 021445, com data de fabricação de novembro de 2001 e validade de 24 meses.
- Formulação F: Medicamento genérico – comprimidos de cetoconazol de 200 mg cpr, adquiridos no mercado, acondicionados em blister incolor contendo 10 comprimidos, lote 00001, com data de fabricação de novembro de 2001 e validade de 24 meses.

#### **1.4 – Outros**

- Analisador de imagens Global Lab;
- Célula de cloreto de sódio 35 X 35 X 5 mm (Perkin Elmer);
- Cubeta de quartzo de 1 cm (Q-108CQ - QUIMIS)
- Pacote de análise estatístico denominado STATISTICA 4.3 da Software House Stasoft.
- Papel de filtro quantitativo de filtração rápida (faixa preta – FRAMEX)
- Unidade filtrante descartável, 0,45 µm de poro (Millipore)



## **2 - Métodos**

### **2.1 - Escolha do fármaco modelo**

O cetoconazol , apesar de reconhecida eficácia farmacológica, possui severos problemas em termos de biodisponibilidade (DÍAZ *et al*, 1996). Pertence a classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) da classificação biofarmacêutica , onde é provável o estabelecimento de uma correlação in vitro-in vivo (AMIDON *et al.*, 1995; GALIA *et al.*, 1998). Como a forma farmacêutica de comprimidos de 200 mg não possui o ensaio de dissolução descrito em compêndios farmacêuticos oficiais, tal fármaco torna-se um modelo representativo, pois ressalta a importância da parceria das áreas de desenvolvimento analítico e de formulação. Desta forma, é possível desenvolver ferramentas confiáveis para a avaliação e aprovação de novas formulações.

Outro motivo da escolha deste fármaco é o interesse do Laboratório Abbott do Brasil, que teve sua formulação de cetoconazol 200 mg candidata à genérico reprovada no teste de bioequivalência, sendo todo este estudo de grande valor para o redesenvolvimento da formulação e assim poder atender de forma mais adequada aos critérios de qualidade biofarmacêutica.

Tal fato retrata a dificuldade em que hoje várias empresas farmacêuticas vem convivendo para o desenvolvimento de formulações de medicamentos genéricos de qualidade.

### **2.2- Desenvolvimento da metodologia de dissolução**

#### **2.2.1 -Determinação do pH dos meios**

O pH dos meios para os testes de dissolução , foi determinado através do uso de potenciômetro (INOLAB - WTW LEVEL2) previamente calibrado com soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0, à temperatura ambiente de 25° C.

### **2.2.2- Metodologia de dissolução utilizada pelo fabricante do medicamento candidato a genérico (FORMULAÇÃO D)**

O medicamento candidato à genérico, reprovado no teste de bioequivalência, era inicialmente analisado por uma metodologia de dissolução utilizando espectrofotômetro de UV, a qual foi desenvolvida pelo próprio fabricante. A mesma encontra-se descrita a seguir.

#### **2.2.2.1- Solução padrão**

Pesar, exatamente, cerca de 40 mg de Cetoconazol padrão primário para balão volumétrico de 100 ml, dissolver com HCl 0,1N e, então, diluir até a marca com HCl 0,1N. Pipetar 2 ml para balão volumétrico de 100 ml e completar com HCl 0,1N.

#### **2.2.2.2- Solução amostra**

Pipetar 2 ml de cada amostra, filtrada e resfriada, para balão volumétrico de 100 ml e completar com HCl 0,1N até a marca.

#### **2.2.2.3- Meio de dissolução**

Dissolver 8,5 ml de Ácido Clorídrico 37% em água destilada até 1000 ml. Desgaseificar a solução, filtrando à vácuo e utilizando membrana filtrante de 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### **2.2.2.4- Condições do ensaio de dissolução**

Adicionar 500 ml de meio de dissolução em 6 cubas do dissolutor (Distek - 2100 A), montado com palhetas, e aquecê-lo até  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Ligar o aparelho na velocidade de 75 rpm e colocar um comprimido em cada cuba. Após 30

minutos, retirar com o auxílio de uma pipeta, aproximadamente 50 ml de cada cuba. Filtrar em papel de filtro e resfriar.

#### **2.2.2.5- Determinação espectrofotométrica**

As amostras e o padrão foram lidos em espectrofotômetro UV - visível (Varian - DMS 100), no comprimento de onda de 225 nm, usando cubeta de quartzo de 1 cm e o meio de dissolução puro como branco.

#### **2.2.2.6- Cálculo**

O cálculo do percentual dissolvido foi realizado conforme a equação:

$$\text{CTZ (\%)} = \frac{A_a \times 100}{A_p}$$

Onde:  $A_a$  = Absorvância da amostra

$A_p$  = Absorvância do padrão

#### **2.2.3- Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de cetoconazol (FORMULAÇÃO B)**

A cinética de dissolução do cetoconazol a partir dos comprimidos foi avaliada em dissolutor de cubas (Distek - 2100 A), sob diferentes condições experimentais, levando-se em conta os parâmetros que influenciam a dissolução.

##### **2.2.3.1 – Meio de dissolução**

Os meios testados foram: tampão pH 1,2<sup>1</sup> (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002c), tampão pH 3,0<sup>2</sup> (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2002a) e tampão pH 4,5<sup>3</sup> (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002c).

---

<sup>1</sup> **Tampão pH 1,2** : 10 g de cloreto de sódio em água purificada q.s.p. 500 ml . pH ajustado a 1,2 com ácido clorídrico P.A.

<sup>2</sup> **Tampão pH 3,0** : 13,6 g de fosfato monobásico de potássio em água purificada q.s.p. 100 ml . pH ajustado a 3,0 ± 0,05 com ácido fosfórico P.A.

<sup>3</sup> **Tampão pH 4,5** : 2,99 g de acetato de sódio trihidratado em água purificada q.s.p. 1000 ml. pH ajustado a 4,5 ± 0,05 com ácido acético 2 N .

A condição de dissolução que apresentou o melhor resultado de correlação in vitro-in vivo nível C também foi testada adicionando-se 0,5% de lauril sulfato de sódio (LSS) e de polissorbato 80, respectivamente. À exceção do meio contendo os tensoativos (devido à formação excessiva de espuma), os demais meios foram desgaseificados, e filtrados à vácuo através de membrana filtrante de 0,45 µm. Foram utilizados os volumes de 500 e 900 ml.

#### **2.2.3.2 – Tipo de agitador e velocidade de agitação**

Foi empregado o agitador tipo pá, comumente designado de aparato 2, nas velocidades de 50 e 75 rpm.

#### **2.2.3.3 – Tempo de ensaio e coleta das amostras**

A duração do ensaio foi de no máximo 2 horas, retirando-se alíquotas a intervalos de 10, 20, 30, 40, 60, 90 e 120 minutos para quantificação do CTZ dissolvido. Para o meio que apresentou o melhor resultado de correlação in vitro-in vivo nível C retirou-se alíquotas a intervalos de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, contemplando também o meio acrescido de 0,5% de tensoativo.

#### **2.2.3.4 – Procedimento do ensaio de dissolução**

O meio de dissolução foi adicionado a cada uma das cubas do dissolutor (Distek - 2100 A), aquecendo o mesmo até  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Foi então adicionado um comprimido em cada cuba ( $n = 6$ ), e imediatamente após, o equipamento foi ligado na velocidade adequada. A cada coleta, foram retirados aproximadamente 10,0 ml de cada cuba com auxílio de uma pipeta graduada e de um pipetador automático (Drummond - Pipet – aid). As alíquotas foram filtradas em papel de filtro de filtração rápida e resfriadas. Para leitura das absorvâncias as alíquotas foram diluídas com o respectivo meio de dissolução, conforme as razões de diluição descritas na Tabela 4. A reposição do meio de dissolução foi realizada

simultaneamente à coleta, através da adição de 10,0 ml de meio previamente aquecido à  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se o mesmo volume na cuba.

#### 2.2.3.5 – Quantificação do CTZ dissolvido

A quantificação do CTZ nos ensaios de dissolução foi realizada por espectrofotometria de absorção no UV, tomando como base as condições descritas por Carlson, Mann & Canafax (1983), Galia *et al.* (1998), Khashaba *et al.* (2000), e Karasulu *et al.* (2002) onde adaptações foram feitas, em função da diferente composição dos meios e forma farmacêutica empregados.

Para verificar o comprimento de onda de máxima absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), foram traçados espectros de absorção na região do UV de 190 – 360 nm de soluções padrões estoque diluídas conforme a Tabela 4, utilizando as respectivas soluções tampão puras como branco.

Tabela 4 – Concentração das soluções estoque e razões de diluição das mesmas para avaliação no espectro de UV dos respectivos meios de dissolução.			
Meio de dissolução	Volume do meio de dissolução na cuba	Concentração da solução estoque *	Razão de diluição utilizada
Tampão pH 1,2	500 ml	400 $\mu\text{g} / \text{ml}$	1:200
Tampão pH 1,2	900 ml	222 $\mu\text{g} / \text{ml}$	1:100
Tampão pH 3,0	500 ml	400 $\mu\text{g} / \text{ml}$	2:250
Tampão pH 3,0	900 ml	222 $\mu\text{g} / \text{ml}$	3:200
Tampão pH 4,5	500 ml	400 $\mu\text{g} / \text{ml}$ **	3:200
Tampão pH 4,5	900 ml	222 $\mu\text{g} / \text{ml}$ **	5:200

\* Submetidas ao ultra-som durante 20 minutos.

\*\* Faz-se necessária a adição de 1% de metanol para total solubilização do padrão no balão volumétrico.

##### 2.2.3.5.1– Determinação espectrofotométrica

As amostras e o padrão foram lidos em espectrofotômetro UV - visível (Varian - DMS 100), no comprimento de onda estabelecido no item 2.2.3.5.,

usando cubeta de quartzo de 1 cm e o respectivo meio de dissolução puro como branco.

#### 2.2.3.5.2– Cálculos

Após definição do comprimento de onda de trabalho, o cálculo do % de CTZ dissolvido se deu a partir da absorvância obtida de uma solução padrão de CTZ e a absorvância obtida da amostra, considerando-se também as diluições realizadas, conforme a equação:

$$\text{CTZ diss ( \% )} = \frac{Aa \cdot Cp \cdot Ap^{-1} \cdot fd \cdot Vm}{D \cdot 1000} \times 100$$

Onde:

Aa = absorvância média de 6 amostras no tempo t

Cp = concentração de CTZ no padrão ( µg/ml)

Ap = absorvância do padrão

Fd = fator de diluição das alíquotas das cubas

Vm = volume do meio de dissolução nas cubas ( 900 ou 500 ml)

D = quantidade declarada de CTZ nos comprimidos ( 200 mg)

Os gráficos foram construídos empregando-se o programa STATISTICA da Software House Stasoft .

### 2.3 - Teste de bioequivalência

O teste de bioequivalência realizado com os comprimidos de cetoconazol produzidos pelo Laboratório Abbott do Brasil foram realizados no Hospital do Rim e Hipertensão/ Fundação Oswaldo Ramos (UNIFESP, 2000), sob o número de protocolo 032/25-08-2000, sendo o investigador principal do estudo o Dr. Artur Beltrame Ribeiro.

O protocolo experimental seguiu um modelo aberto, aleatório, cruzado em dois períodos e duas seqüências por 24 dias. A posologia aplicada a cada voluntário consistiu em uma dose única de 200 mg de cetoconazol comprimido (referência e teste) com a ingestão de 100ml de água.

Os voluntários foram internados 7:30 h do primeiro dia de protocolo e liberados 24h após a última coleta. As amostras de sangue foram coletadas em tubos vacutainer perfazendo um total de 16 alíquotas após a administração do medicamento. Como anti-coagulante para obtenção de plasma se utilizou o EDTA e os tempos de coleta de amostra foram inicialmente de 0.5 a 3.0 h com intervalos de meia hora, e em seguida intervalos maiores de coleta em 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 e 72 h.

As amostras foram centrifugadas por 10min a 1800G e imediatamente após a coleta, o plasma foi separado e posteriormente congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , até o momento da análise.

Participaram do estudo 28 voluntários sadios, adultos, com idade entre 18 a 50 anos, 13 homens e 15 mulheres, todos com o peso corporal dentro do limite de 10% do valor normal em função de suas alturas e estrutura física.

Todos os voluntários foram clinicamente avaliados para constatar seu estado de saúde.

Os dados obtidos foram tratados em termos estatísticos com o programa GraphPad Prisma, versão 2.01 (graphPad software INC).

A análise da concentração plasmática de cetoconazol foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A quantificação do cetoconazol no plasma se baseou no processo de partição líquido/líquido utilizando-se éter etílico como líquido extrator. Como branco foi utilizada uma bolsa de plasma sem o fármaco em análise ou outro tipo de interferente. Inicialmente foi colocado 1,0 ml de plasma em um tubo de centrífuga de 15 ml sendo o material posteriormente alcalinizado com 200  $\mu\text{L}$  de NaOH 0.5N. Adicionou-se então 200  $\mu\text{L}$  de PI a 0,0001%. A solução resultante foi extraída com 4,0 ml de éter etílico agitando por 3,0min. Centrifugou-se a 4500 g por 2 min. Transferiu-se a fase orgânica para becher e evaporou-se até a secar a  $40^{\circ}\text{C}$  sob fluxo de  $\text{N}_2$ . Sob o resíduo,

adicionar 100 µL de fase móvel e injetar no cromatógrafo. As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: fosfato de potássio monobásico 25 mM 55%: acetonitrila 45% em condições isocráticas; detetor de UV a 260 nm, temperatura da coluna: 30° C; fluxo: 0,7 ml/min; tempo de retenção provável : 10 min (PASCUCCI *et al.*, 1983; YUEN & PEH 1998).

## **2.4 - Estabelecimento da melhor correlação entre os dados *in vivo* e *in vitro***

Para fins de desenvolvimento de formulação e desenvolvimento analítico da condição de dissolução mais adequada utilizou – se o nível C de correlação utilizando como referência o estudo de bioequivalência farmacêutica realizado pelo Laboratório Abbott do Brasil, aproveitando os resultados obtidos *in vivo* para o medicamento referência (UNIFESP, 2000). O parâmetro farmacocinético escolhido para o estabelecimento da correlação foi a concentração plasmática alcançada de cetoconazol nos tempos de 30, 60 e 90 min e como o parâmetro *in vitro* o percentual de fármaco dissolvido nos mesmos tempos e nos respectivos meios de dissolução (UPPOOR, 2001; SPIEGELEER *et al.* , 2001).

## **2.5- Caracterização da matéria prima cetoconazol**

### **2.5.1 - Avaliação do “habit” de cristal**

A geometria do cristal de um fármaco pode influenciar de forma significativa várias propriedades físico-mecânicas, e conseqüentemente, a *performance* das formas farmacêuticas derivadas. Entres estas propriedades, podemos ressaltar o fluxo, a compactabilidade, e a facilidade de mistura e segregação. Desta forma, a reprodutibilidade e adequabilidade do “habit” de cristal do cetoconazol deve ser considerada como uma das especificações a serem estabelecidas para esta matéria-prima (MOSHARRAF & NYSTROM, 1995; RADEBAUGH & RAVIN, 2000). Para determinar a estrutura microscópica do cristal de cetoconazol dos 5 fornecedores em estudo, utilizou-se foto-microscópio ótico (Olympus - BX50)



com aumento de 300 vezes, sendo utilizada uma dispersão do fármaco em análise a 1,0% em uma mistura de água:etanol 1:1.

### **2.5.2 – Determinação da distribuição de tamanho de partícula.**

A distribuição granulométrica de um fármaco, de forma similar ao que se observa em termos de seu “habit” de cristal, exerce uma influência definitiva no fluxo e na mistura do mesmo. Quanto mais estreita esta distribuição, mais reprodutível e uniforme serão os processos decorrentes desta propriedade, tais como o enchimento de matrizes durante a compressão e o escoamento do pó em um alimentador metálico, o que determina uniformidade de peso do comprimido ou cápsula com ele preparado (MOSHARRAF & NYSTROM, 1995; RADEBAUGH & RAVIN, 2000).

A distribuição granulométrica das amostras de cetoconazol dos 5 fornecedores foi também determinada pela análise microscópica dos cristais e através do tratamento de imagem das fotografias de pelo menos 10 campos diferentes da mesma lâmina através do programa analisador de imagens Global Lab. A partir daí pode-se calcular o tamanho médio da partícula de cada uma das amostras de cetoconazol dos fornecedores em estudo.

### **2.5.3 - Espectrometria no infravermelho**

A espectroscopia no infravermelho é um ensaio de identificação por excelência, onde pequenas quantidade de impurezas não afetam significativamente o espectro, mas alguns fatores como polimorfismo, variação no tamanho e orientação dos cristais, técnica de trituração e formação de hidratos, podem originar diferenças. A região de  $4000$  a  $200\text{ cm}^{-1}$  é a mais empregada para fins de identificação (SILVERSTEIN, BASSLER & MORRILL, 1994).

A amostra sólida foi dispersa com auxílio de pistilo e gral de ágata em óleo mineral e colocada entre duas células de cloreto de sódio  $35 \times 35 \times 5\text{ mm}$  sendo

estas, em seguida, presas em um suporte adequado e submetida à leitura em equipamento de infravermelho (Perkin Elmer -FT-IR Spectrum 1000) de 4000 a  $400\text{ cm}^{-1}$  para a avaliação das principais bandas.

#### 2.5.4 - Análise térmica

O objetivo principal do uso da análise térmica consiste na verificação da estrutura macroscópica do fármaco modelo em estudo, buscando-se determinar as suas características ótimas para se formular. Todas as termoanálises foram realizadas em aparelho de análise calorimétrica diferencial de varredura (Perkin Elmer- DSC 7 ou Shimadzu- DSC 60) com uma taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  e numa faixa de  $50 - 200^{\circ}\text{C}$  de temperatura.

Os termogramas mostram modificações no estado físico das moléculas com o aumento de temperatura gradual, sendo visto como eventos característicos de reações exotérmicas e endotérmicas. Algumas transições verificadas por ACV podem ser vistas na Tabela 5.

Tabela 5 - Transições mais usuais verificadas em ACV(análise calorimétrica de varredura).	
Endotérmicas	Exotérmicas
Fusão	Cristalização
Vaporização	Condensação
Sublimação	Solidificação
Desolvatação	Adsorção
Redução	Solvatação
Degradação	Decomposição
Transição vítrea	Oxidação
	Degradação

A ACV é útil no desenvolvimento tecnológico farmacêutico em muitos aspectos, pois através desta técnica pode-se ter um valor de ponto de fusão, ebulição e outros processos térmicos; pode-se mostrar a presença de polimorfismo em determinado material; pode-se mostrar pureza, degradação e decomposição e ainda, temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura na qual

um material amorfo passa a cristalino. Vale lembrar que a Tg é importantíssima para estudos de validade e estocagem de insumos farmacêuticos (CLAS, DALTON & HANCICK, 1999; PABÓN *et al.*, 1996).

Tal técnica também tem sido muito utilizada nos estudos de compatibilidade entre fármaco e excipiente (MURA *et al.*, 1995).

## 2.6- Preparo dos lotes pilotos

### 2.6.1 - Formulações

As formulações preparadas seguiram a fórmula base descrita na Tabela 6.

<b>Tabela 6: Fórmula base proposta para os comprimidos de cetoconazol.</b>		
<b>Componente</b>	<b>Quantidade (%)</b>	<b>Função</b>
Cetoconazol *	46,5	Principio ativo /Fármaco modelo
Aglutinante **	46,9	Aglutinante/diluyente
Metabissulfito de sódio	0,5	Antioxidante
Dióxido de silício	5,0	Promotor de fluxo
Desintegrante **	0,1	Desintegrante/ desagregante
Estearato de magnésio	1 ,0	Lubrificante
* A concentração unitária a ser utilizada é de 200 mg.		
** Os aglutinantes e desintegrantes utilizados estão descritos na Tabela 7.		

O tamanho dos lotes pilotos foi de 400g e o tamanho do lote da formulação com o melhor perfil de dissolução foi de 2Kg com o objetivo de checar a reprodutibilidade da formulação escolhida.

Os aglutinantes e os desintegrantes utilizados encontram-se descritos na Tabela 7, chegando a um número total de 20 combinações de formulações a serem testadas.

<b>Tabela 7 – Avaliação da combinação aglutinante x desintegrante para formulação de comprimidos de cetoconazol</b>	
<b>AGLUTINANTE</b>	<b>DESINTEGRANTE</b>
Celulose microcristalina	Croscarmelose sódica
Lactose	Crospovidona
Cellactose 80 *	
Maltose	
Manitol	
Sorbitol	
Maltitol	
Xilitol	
Lactitol pó	

Isomalte	
* Mistura de celulose em pó + lactose monohidratada na proporção 25:75	

## **2.6.2 - Processo de fabricação**

### **2.6.2.1 - Por compressão direta**

O processo de fabricação inicialmente avaliado foi o de compressão direta por possuir várias vantagens já anteriormente descritas.

O seguinte procedimento foi utilizado:

- 1 - Adicionar ao misturador em V (Marconi) peneirando previamente o princípio ativo, o aglutinante, o dióxido de silício e o desintegrante em peneira manual 0,8 mm. Misturar por 10 minutos.
- 2 - Adicionar ao misturador V (Marconi) peneirando previamente em peneira manual 0,5 mm o estearato de magnésio. Misturar por 3 minutos.
- 3 - Descarregar o misturador e comprimir em máquina de compressão rotativa (Piccola) em punção de 12 mm de diâmetro, bicôncavo com face inferior lisa e superior sulcada utilizando o peso médio de 430 mg com uma faixa de controle de peso de  $\pm 5,0 \%$  (409 – 451 mg).

### **2.6.2.2 - Por granulação úmida**

O processo de granulação via úmida foi empregado como forma alternativa no caso de não ser possível se utilizar o processo de compressão direta ou por comprometimento das propriedades físico-mecânicas dos comprimidos. O seguinte procedimento foi utilizado:

- 1 - Adicionar ao misturador planetário (Amadio) o princípio ativo, o aglutinante e o metabissulfito de sódio. Misturar durante 10 minutos. Adicionar a solução granulante (água / álcool etílico, 1:1) até que se obtenha o ponto de granulação. Passar a massa úmida por peneira manual 5 mm.
- 2 - Secar em leito fluidizado (Bukard) até se obtenha umidade final de 0,5 – 1,5%.
- 3 - Calibrar o granulado seco em moinho oscilante (Erweka) em peneira 1 mm.
- 4 – Adicionar ao granulado seco, o dióxido de silício e o desintegrante ao misturador em V (Marconi). Misturar por 5 minutos.

5 - Adicionar ao misturador, passando previamente por peneira 0,5 mm o estearato de magnésio. Misturar por 3 minutos.

6- Descarregar o misturador e comprimir em máquina de compressão rotativa (Piccola) em punção de 12 mm de diâmetro, bicôncavo com face inferior lisa e superior sulcada utilizando o peso médio de 430 mg com uma faixa de controle de peso de  $\pm 5,0 \%$  ( 409 – 451 mg).

## **2.7- Caracterização geral dos comprimidos de cetoconazol**

Os lotes pilotos e os produtos farmacêuticos adquiridos no comércio foram caracterizados quanto aos ensaios clássicos para comprimidos, sendo avaliados seu peso médio e uniformidade de peso, dureza, friabilidade, tempo de desintegração e determinação do teor de cetoconazol.

### **2.7.1 - Peso médio e uniformidade de peso**

Este ensaio foi conduzido de acordo com a metodologia geral descrita na Farmacopéia Brasileira (1988b) onde foram utilizados 20 comprimidos, sendo estes pesados individualmente e peso médio destes calculado. Admitiu-se uma variação de  $\pm 5,0 \%$  sobre o peso médio segundo a dosagem do comprimido de cetoconazol, no caso, de 200 mg.

### **2.7.2 - Dureza**

Este teste foi realizado em durômetro automático (Erweka – TBH 30) de acordo com a metodologia geral descrita na Farmacopéia Brasileira (1988c) , utilizando-se 10 comprimidos no teste. A partir dos resultados foi calculada sua dureza média .

### 2.7.3 - Friabilidade

Este teste foi conduzido em friabilômetro (Erweka – TAR 10) de acordo com a metodologia geral descrita na Farmacopéia Brasileira (1988c) e United States Pharmacopeia (2002d), utilizando-se 20 comprimidos. O peso dos 20 comprimidos foi inicialmente verificado em balança analítica e após o teste, o peso resultante foi novamente medido. A diferença de peso foi então registrada e este valor expresso na forma percentual.

### 2.7.4 – Tempo de desintegração

Este teste foi realizado utilizando-se 6 comprimidos em água como meio de desintegração, a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , e desintegrador (Erweka – ZT 61), de acordo com a metodologia geral descrita na Farmacopéia Brasileira (1988d) e na United States Pharmacopeia (2002e)

### 2.7.5 - Teor

A determinação do teor de CTZ nos comprimidos foi realizada por espectrofotometria de absorção no UV, tomando como o método desenvolvido pelo fabricante do medicamento candidato à genérico, onde adaptações foram feitas, no sentido de melhorar a metodologia analítica.

Para confirmação do comprimento de onda de máxima absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) sugerido na metodologia analítica do fabricante do candidato à genérico, foi traçado o espectro de absorção na região do UV de 190 – 360 nm da solução padrão de cetoconazol na concentração de 10  $\mu\text{g/ml}$ , utilizando solução de diluição pura como branco.

#### 2.7.5.1 – Solução diluição

Foram transferidos 50 ml de ácido clorídrico 1N para balão volumétrico de 500 ml e em seguida diluído até à marca com água destilada.

#### **2.7.5.2– Curva padrão para dosagem**

Preparou-se soluções padrões com concentrações de CTZ de 6,0, 5,0, 3,75, 2,5 e 1,25  $\mu\text{g/ml}$ . A absorvância (Abs) correspondente a cada diluição da curva padrão foi plotada em gráfico de A versus concentração ( $\mu\text{g/ml}$ ) e a equação da reta foi determinada através do programa STATISTICA da Software House Stasoft .

#### **2.7.5.3– Solução amostra**

Uma amostra de 30 comprimidos, de peso médio conhecido, foi triturada a pó fino em gral com pistilo. Foi pesado o equivalente a 1 (um) comprimido e a massa transferida para balão volumétrico de 100 ml. Adicionou-se então 50 ml de solução de diluição e o material permaneceu sob agitação durante 20 minutos com ajuda de agitador magnético. Diluiu-se até a marca com solução de diluição. Filtrou-se a solução do primeiro balão volumétrico, utilizando papel de filtro de filtração rápida, antes de prosseguir a diluição. Foi transferida a alíquota de 1 ml para balão volumétrico de 200 ml e o volume completado com solução de diluição, a qual foi feita em triplicata.

#### **2.7.5.4– Leitura em espectrofotômetro**

As leituras de absorvância das soluções padrão e amostra foram efetuadas em espectrofotômetro de UV (Varian - DMS 100 ou CARY 3 BIO), no comprimento de onda selecionado no item 2.5.5., usando cubeta de quartzo de 1 cm usando a solução de diluição como branco.

#### **2.7.5.5– Cálculos**



A absorvância (Abs) corresponde a cada diluição da curva padrão que foi plotada em gráfico de Abs versus concentração ( $\mu\text{g/ml}$ ) e a equação da reta foi determinada através de regressão linear utilizando o software Statistica, sendo então utilizada para a determinação da concentração de CTZ nas amostras.

## **2.8 - Análise quantitativa do cetoconazol ( CTZ) por CLAE**

Para determinação do teor do medicamento referência, para os estudos de estabilidade e para os estudos de interação fármaco- excipiente, foi utilizada a técnica de doseamento através de cromatografia líquida de alta eficiência, por se tratar de uma metodologia de maior precisão e exatidão que a técnica por espectrofotometria de UV. Tal metodologia encontra – se somente descrita na United States Pharmacopeia (2002f). A EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2000) e a BRITISH PHARMACOPOEIA (2002b) descrevem apenas as monografias da matéria prima, não contemplando o produto acabado.

### **2.8.1 - Solução de Acetato de Amônio**

Dissolver 2,5 g de acetato de amônio anidro em 300 ml de água ultrapura e transferir para um balão volumétrico de 500 ml. Avolumar com água ultrapura até a marca e misturar.

### **2.8.2 - Solução de diluição**

Misturar 500 ml de metanol para CLAE com 500 ml de cloreto de metileno para CLAE.

### **2.8.3 - Solução de diisopropilamina em metanol**

Transferir 2,0 ml de diisopropilamina P.A. para um balão de 1000 ml, completar com metanol e misturar.

#### 2.8.4 – Fase móvel

Misturar 700 ml de solução de diisopropilamina em metanol com 300 ml da solução de acetato de amônio e misturar bem. Filtrar à vácuo através de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### 2.8.5 – Solução padrão

Pesar 20 mg do padrão primário para um balão volumétrico de 50 ml. Adicionar cerca de 25 ml de solução de diluição. Dissolver em ultra-som por 5 minutos. Completar o volume com solução diluição e misturar bem.

#### 2.8.6 – Solução amostra

Fazer o peso médio de 20 comprimidos e pesar o equivalente a um peso médio para um balão volumétrico de 50 ml em triplicata. Adicionar solução de diluição até a marca. Dissolver em agitador magnético por 30 minutos. Centrifugar a 2000 rpm por 5 minutos e transferir 5 ml do sobrenadante para balão de 50 ml e avolumar com solução de diluição.

#### 2.8.7 – Condições cromatográficas

Utilizou-se o cromatógrafo líquido de alta eficiência MERCK – bomba modelo L6000 – A, detector de UV - visível modelo L4250, auto amostrador modelo AS 2000A nas seguintes condições:

Coluna	$\mu\text{Bondapack}$ , C 18, 125 Å, 10 $\mu\text{m}$ , 3,9 mm X 30 cm
Fluxo	2,0 ml/min
Volume de injeção	20 $\mu\text{l}$

Temperatura da coluna	25 °C
Comprimento de onda	225 nm
Pressão	Cerca de 160 bar
Método de cálculo	Padrão primário de cetoconazol USP (padrão externo)

### 2.8.8 – Cálculos

O teor de CTZ nos comprimidos (% sobre o declarado) foi calculado, como segue:

$$\text{Teor de CTZ (\%)} = \frac{A_a \times C_p \times f_{da}^{-1} \times p_m \times C_r}{A_p \times m_p \times 100}$$

A<sub>a</sub> = área da amostra

A<sub>p</sub> = área do padrão

C<sub>p</sub> = concentração do padrão ( µg/ml)

C<sub>r</sub> = concentração rotulada ( 200 mg)

p<sub>m</sub> = peso médio do comprimido ( mg)

m<sub>p</sub> = massa pesada ( mg)

f<sub>da</sub><sup>-1</sup> = inverso do fator de diluição da amostra

### 2.9- Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol obtidos a partir dos lotes pilotos e de produtos disponíveis no mercado

A partir da escolha da condição de dissolução que apresentou o melhor resultado de correlação in vitro-in vivo nível C obtida no item 2.2.4. construiu-se a curva padrão para a quantificação de cetoconazol dissolvido. Desta forma pode – se avaliar o poder discriminatório da metodologia de dissolução desenvolvida, frente aos diferentes lotes pilotos de cetoconazol 200 mg fabricados, empregando também, um lote do medicamento referência (Produto B) diferente do inicialmente utilizado, e comprimidos de medicamentos genéricos de outras duas empresas farmacêuticas (Produtos D e E), obtidos no comércio.

### **2.9.1 – Curva padrão para dissolução**

Preparou-se soluções padrões com concentrações de CTZ de 6,10; 5,55; 4,18; 2,78 e 1,40 µg/ml. A absorvância (Abs) correspondente a cada diluição da curva padrão foi plotada em gráfico de A versus concentração (µg/ml) e a equação da reta foi determinada através do programa STATISTICA da Software House Stasoft .

### **2.10- Estudo de estabilidade**

As amostras destinadas ao estudo de estabilidade foram acondicionadas em pote de polietileno (PE) azul contendo 100 comprimidos em cada. Para fins de comparação o medicamento referência (comprimidos de 200 mg) adquirido no mercado será também colocado em estabilidade nas mesmas condições, ou seja, à  $30 \pm 2^\circ \text{C}$  e  $60 \pm 5\% \text{UR}$ .

Os comprimidos, após o período de 12 meses de estocagem, foram novamente, caracterizados em termos de teor, propriedades físico-mecânicas. Após este período as prováveis incompatibilidades fármaco-excipientes foram acompanhadas por ACV.

---

---

## ***RESULTADOS E DISCUSSÃO***

---

---

## 1 - Desenvolvimento da metodologia de dissolução

Para um adequado desenvolvimento da condição de dissolução a ser empregada, avaliou-se inicialmente a metodologia desenvolvida pelo fabricante do candidato à genérico.

Avaliando os perfis de dissolução do candidato à genérico (Formulação D) e do medicamento referência (Formulação A) apresentados na Figura 3, pode-se observar que as curvas são estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ), e em menos de 15 minutos ambos os produtos haviam liberado mais de 90% de cetoconazol (CTZ) no meio.

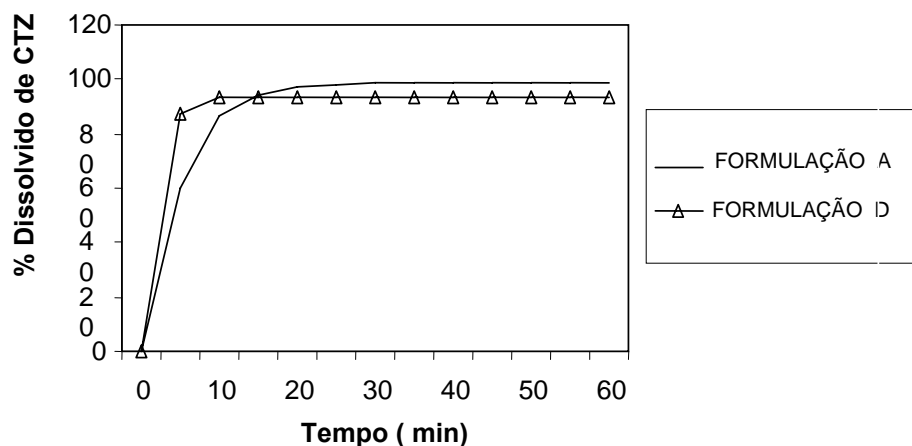


Figura 3 – Perfis de dissolução do medicamento referência (Formulação A) e do candidato à genérico (Formulação D) em 500 ml de HCl 0,1 N a 75 rpm (valores médios).

caso s *in vitro*, il *in vivo* do medicamento (AMIDON *et al.*, 1995). Porém o resultado *in vivo* obtido a partir do estudo de bioequivalência realizado envolvendo estes dois produtos (UNIFESP, 2000) não respondia da mesma forma. Com isso questionou - se a real validade das condições de dissolução utilizadas pelo fabricante como ferramenta confiável para o ajuste da formulação e seu registro.

Como a condição de 500 ml de HCl 0,1 N a 75 rpm mostrou-se pouco discriminante, já que buscava-se a qualidade biofarmacêutica do produto, partiu-se para o desenvolvimento de uma nova metodologia de dissolução utilizando o medicamento referência como padrão. Iniciou-se, então, um estudo do meio, volume de dissolução e da velocidade de agitação mais adequadas (CDER/FDA, 2002a; Brasil, RDC n° 135, 2003).

O material bibliográfico disponível com relação à metodologia de dissolução para cetoconazol comprimidos de 200 mg não era muito extenso e além disso, não consta em nenhum compêndio farmacêutico oficial tal metodologia. Carlson, Mann & Canafax (1983) testaram a dissolução em vários tampões (pH 2, 3, 4, 5 e 6) utilizando um volume de 900 ml e agitação através de agitador magnético na velocidade de 500 rpm (Figura 4), concluindo serem os valores de pH entre 4,0 e 5,0 mais discriminantes para a avaliação da dissolução deste fármaco.

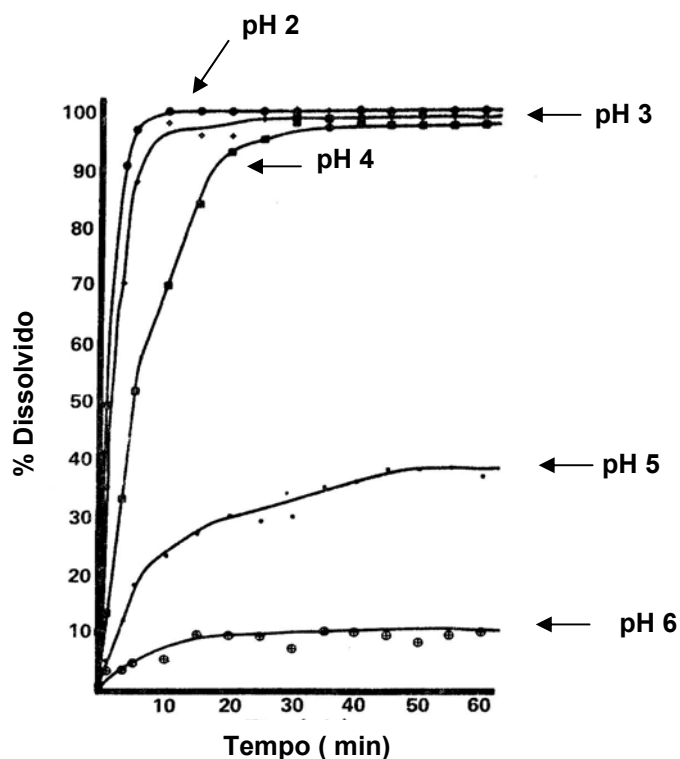


Figura 4 – Perfis de dissolução de cetoconazol 200 mg em 900 ml de diferentes tampões pH 2, 3, 4, 5 e 6.

com comprimidos de cetoconazol 200 mg e, uma vez este dissolvido, aumentou-se o pH do meio por adição gradual de uma base (Figura 5).

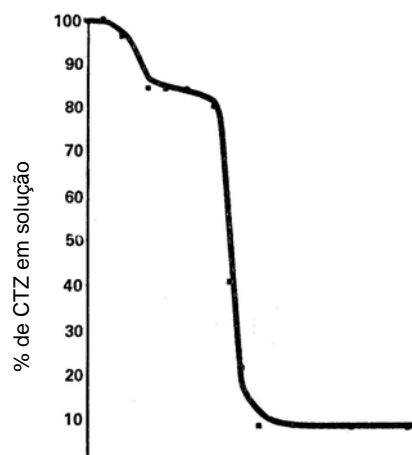
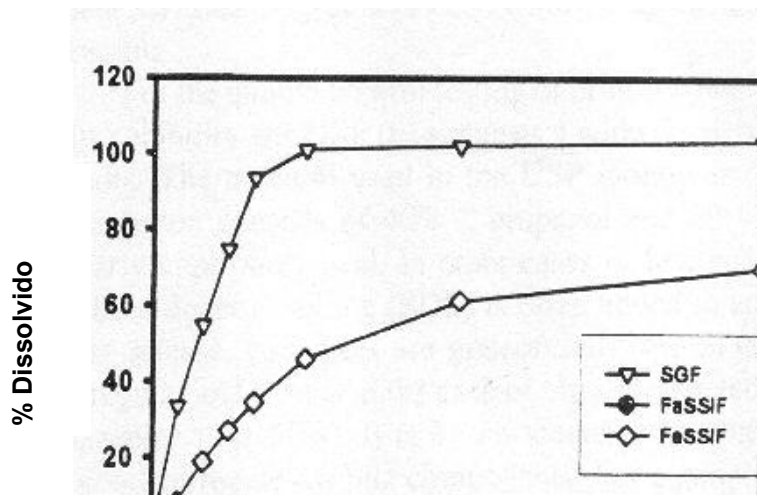


Figura 5 – Precipitação de cetoconazol a partir do aumento do pH de 3 até 10.

Em uma condição de pH entre 4 – 5,5 ainda pode-se observar uma boa solubilidade do cetoconazol. A partir destes estudos concluiu-se que a dissolução de comprimidos de cetoconazol é pH dependente, e tal fato já não vale para a desintegração do comprimido (CARLSON, MANN & CANAFAX, 1983).

Outros trabalhos contemplando meios de dissolução biorrelevantes foram realizados por Galia *et al.* (1998), demonstrando mais uma vez o quanto a solubilidade do cetoconazol pode ser influenciada pelas variações de pH do trato gastro intestinal. Em tal estudo foi utilizado o aparato 2 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002b) e 500 ml dos meios biorrelevantes de pH 1,2, 5 e 6,5 a 100 rpm (Figura 6).



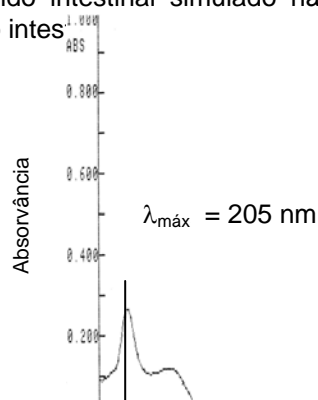


Os meios biorrelevantes tem como vantagem tornar o líquido de dissolução o mais semelhante possível ao fisiológico possuindo, normalmente, osmolaridade adequada e presença de tensoativos (GALIA *et al.*, 1998)

Karasulu *et al.* (2002) utilizou 600 ml de tampão pH 3 a 90 rpm e aparato 1 (cesta) associado a um cesto modificado para a dissolução de comprimidos vaginais efervescentes de cetoconazol. O pH 3 foi escolhido no trabalho deste autor pois este seria o pH do fluido vaginal. Observou-se que mais de 60% do fármaco já havia sido liberado em 15 minutos nestas condições.

Com base nestes dados optou – se em utilizar neste trabalho os tampões de pH 1,2, pH 3 e 4,5 para desenvolvimento do teste de dissolução. Carlson, Mann & Canafax (1983) e Karasulu *et al.* (2002) utilizaram para quantificação do percentual dissolvido de CTZ nos meios de dissolução o método por espectrofotometria no UV nos comprimentos de onda de 231nm e 269 nm, respectivamente. No presente trabalho também foi utilizada a quantificação por espectrofotometria no UV e houve a necessidade de verificar o comportamento espectroscópico do fármaco nos diferentes meios de dissolução, determinando seus espectros de absorção na região do UV, com intuito de selecionar o  $\lambda_{\text{máx}}$  em cada meio. A Figura 7 ilustra espectros de absorção no UV representativos para o

<sup>1</sup> SGF - “Simulated gastric fluid” = Fluido gástrico simulado <sup>2</sup> FaSSIF - Fasted state simulated intestinal fluid = Fluido intestinal simulado não alimentado <sup>3</sup> FeSSIF - Fed state simulated intestinal fluid = Fluido intestinal simulado alimentado



CTZ nos três diferentes meios avaliados.

Frente a estes resultados pode-se constatar que o solvente não exerce influência nas características absorptivas da molécula do fármaco e o  $\lambda_{\text{máx}}$  médio obtido foi de 204 nm. Já que este valor encontra-se muito próximo ao final da região do UV, utilizamos neste trabalho o comprimento de onda de 210 nm no sentido de se manter dentro da linearidade do equipamento sem perder, no entanto, a sensibilidade do método.

Como a forma farmacêutica envolvida neste trabalho é a de comprimido, optou-se em utilizar o método de pás (aparato 2) da USP 25 (2002). Uma vez já determinados os meios de dissolução e o comprimento de onda a serem utilizados na quantificação do % de CTZ dissolvido, traçou-se perfis de dissolução para avaliação do volume do meio de dissolução (500 e 900 ml) e a velocidade de agitação (50 e 75 rpm) mais adequados (CDER/FDA, 2002a) que podem ser observados nas Figuras 8 e 9.

Ainda foram realizados ensaios de dissolução utilizando-se 900 ml de tampão pH 4,5, maior volume de meio avaliado, adicionado de 0,5 % de lauril sulfato de sódio (LSS) a 50 rpm com o objetivo de aumentar a dissolução do fármaco no meio por efeito do tensoativo. O perfil de dissolução pode ser observado na Figura 8a. O polissorbato 80 não pode ser utilizado por apresentar forte absorção no mesmo comprimento de onda do cetoconazol no UV, interferindo na quantificação. Os perfis de dissolução observados apresentaram-se estatisticamente diferentes.

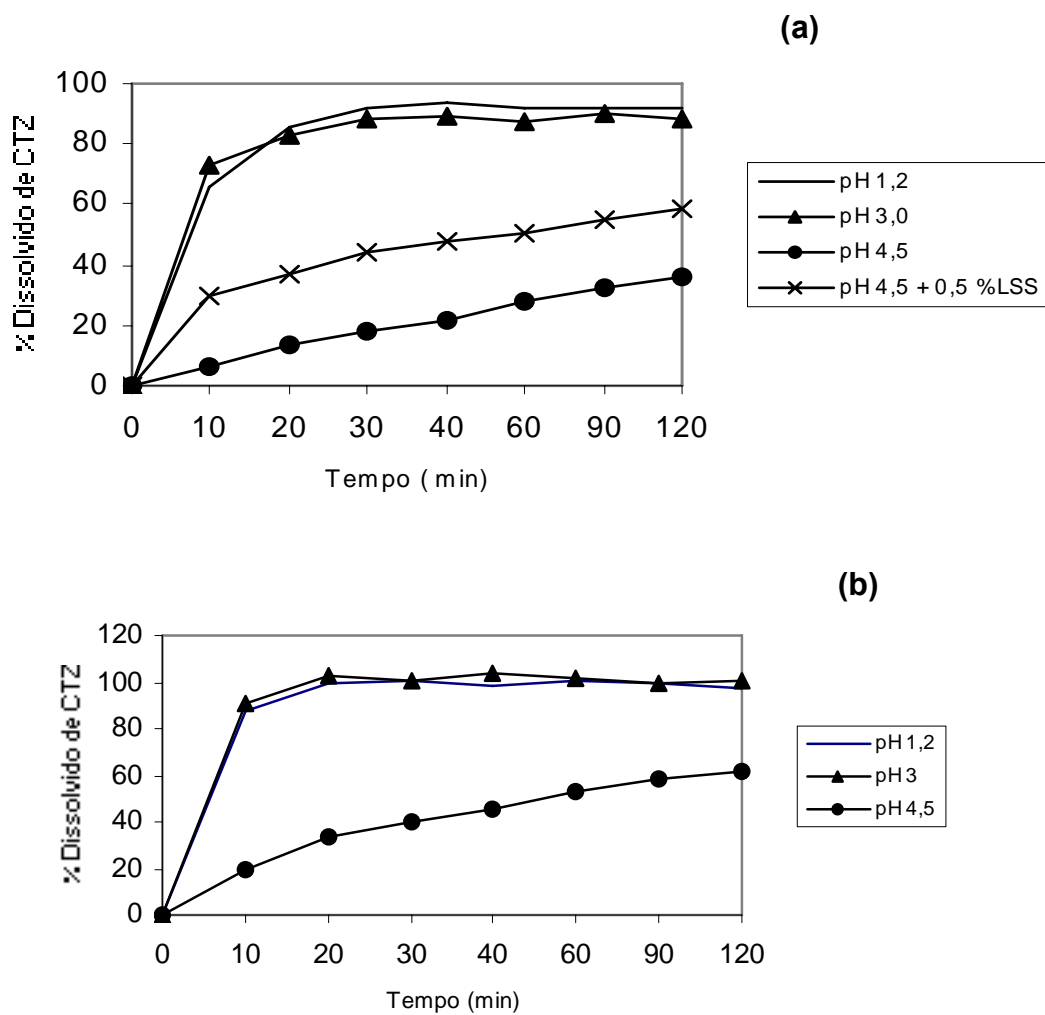


Figura 8 – Perfis de dissolução da Formulação B (valores médios) nos diferentes meio de dissolução (a) 900 ml de meio a 50 rpm (b) 900 ml de meio a 75 rpm.

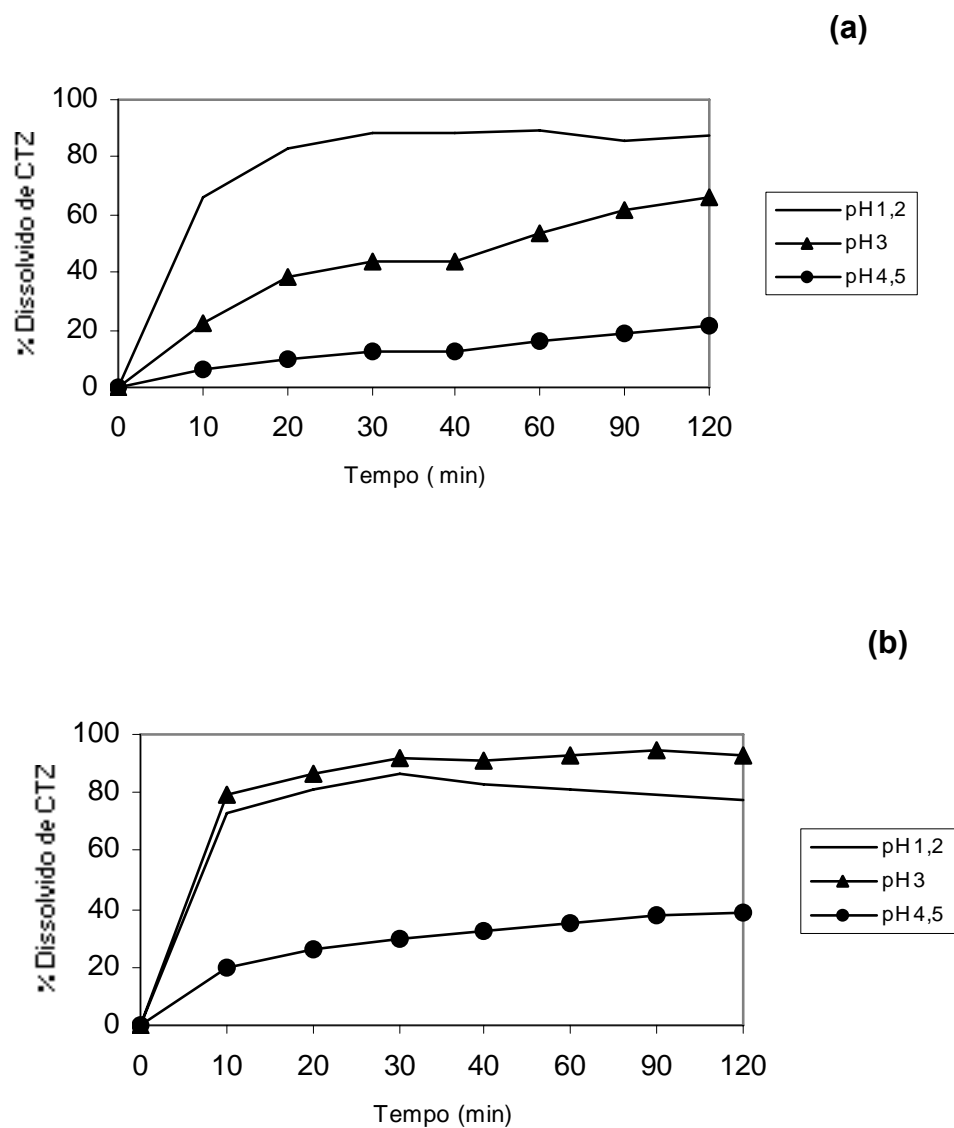


Figura 9 – Perfis de dissolução da Formulação B (valores médios) nos diferentes meio de dissolução (a) 500 ml de meio a 50 rpm (b) 500 ml de meio a 75 rpm.

## 2- Estudo de Bioequivalência

A Figura 10 representa os perfis plasmáticos obtidos a partir das amostras do candidato à genérico (Formulação D) e do medicamento referência (Formulação A) realizados em estudo de bioequivalência farmacêutica conduzido pelo Laboratório Abbott do Brasil (UNIFESP, 2000). Os parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir da curva de concentração plasmática de CTZ versus tempo estão descritos na Tabela 8 e 9.

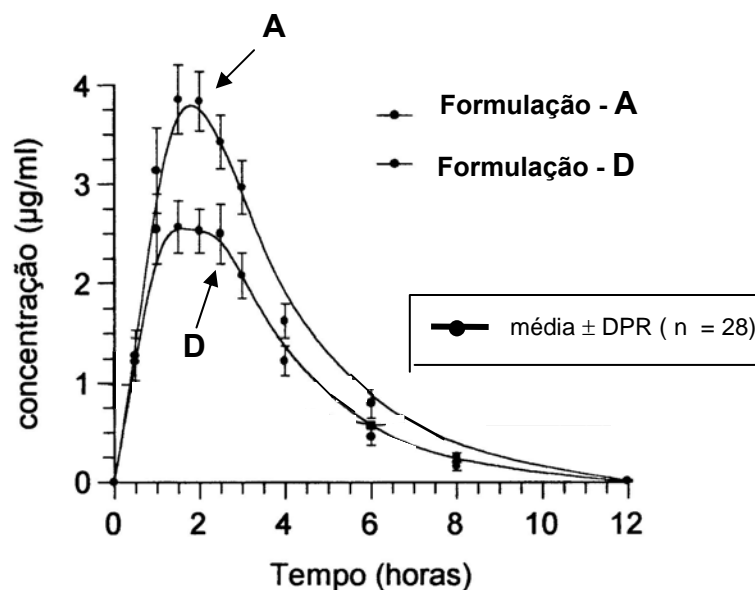


Figura 10 – Curva de concentração plasmática média do CTZ em função do tempo após administração de um comprimido em dose única.

<b>Tabela 8: Concentrações plasmáticas médias de CTZ nos tempos utilizados para os estudos de correlação in vitro-in vivo</b>	
<b>Tempo (min)</b>	<b>Concentração plasmática média (µg/ml)</b>
30	1,28
60	3,14
90	3,86

<b>Tabela 9: Parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir da curva de concentração plasmática de CTZ versus tempo</b>		
<b>Parâmetro</b>	<b>Formulação A (medicamento referência)</b>	<b>Formulação D (candidato a genérico)</b>
$C_{\text{máx}}$ (µg/ml)	4,62	3,59
$t_{\text{máx}}$ (h)	1,77	1,43
$ASC_{0-\infty}$ (h.µg/ml)	14,51	10,41

Observou – se que para comprimidos de CTZ do medicamento referência, tais valores estão de acordo com a literatura, como  $C_{\text{máx}} = 4 \mu\text{g/ml}$  e  $t_{\text{máx}} =$  aproximadamente 2 horas (BENNETT, 1996) . Já para o candidato a genérico observou – se valores um pouco menores, indicando não serem bioequivalentes.

### **3-Estabelecimento da melhor correlação in vitro-in vivo entre os perfis de dissolução**

De posse dos resultados obtidos nos estudos de biodisponibilidade e dos perfis de dissolução dos comprimidos do medicamento referência em diferentes meios, procurou–se estabelecer uma correlação entre os resultados in vitro-in vivo, para que esta subsidiasse a definição das condições do ensaio de dissolução a ser utilizado para o desenvolvimento das formulações a serem preparadas.

Tentou-se estabelecer uma correlação nível C entre a concentração plasmática alcançada de cetoconazol e o percentual de CTZ dissolvido em tempos conhecidos de acordo com o item 2.4 – Métodos.

A busca da melhor correlação foi realizada por regressão linear do gráfico de % dissolvido versus concentração plasmática, com os diferentes meios avaliados, através do programa Statistica 4.3.

Procurou-se selecionar as condições que fornecessem curvas com altos coeficientes de correlação (o mais próximo de 1,0). O maior coeficiente de correlação foi obtido com 900 ml de tampão pH 4,5 a 50 rpm. A figura 11 representa esta correlação.

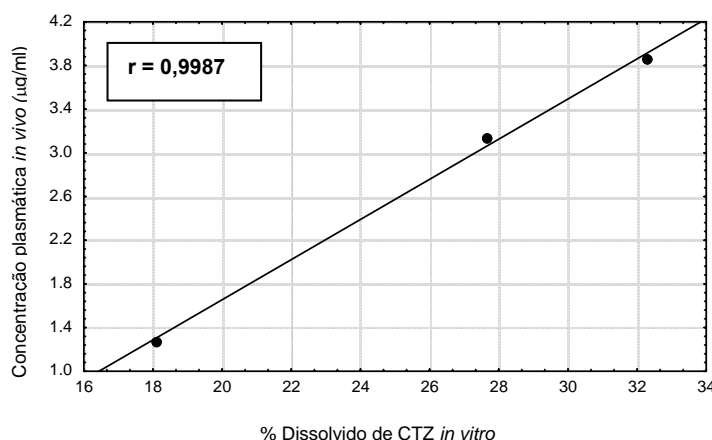


Figura 11 – Concentração plasmática ( $\mu\text{g/ml}$ ) versus % dissolvido de CTZ obtido a partir da dissolução em 900 ml de tampão pH 4,5 a 50 rpm ( $r$  = coeficiente de correlação).

Na tabela 10 estão listados os demais coeficientes de correlação obtidos nos diferentes meios estudados, cujas condições experimentais se mostraram menos adequadas.

Após seleção do meio de melhor correlação in vitro-in vivo, as especificações propostas para o ensaio de dissolução dos comprimidos de cetoconazol 200 mg de liberação imediata foram:

Meio: Tampão pH 4,5; 900 ml.

Aparato 2: 50 rpm

$Q_{15 \text{ min}}$  = 20 % do total declarado

$Q_{90 \text{ min}} = 50 \%$  do total declarado

<b>Tabela 10: Demais coeficientes de correlação obtidos nas diferentes condições de dissolução estudadas.</b>	
<b>Condição de dissolução</b>	<b>Coeficiente de correlação</b>
Tampão pH 4,5, 500 ml, 50 rpm	0.9835
Tampão pH 3,0, 500 ml, 50 rpm	0.9837
Tampão pH 1,2 , 500 ml, 50 rpm	0.3193
Tampão pH 4,5, 500 ml, 75 rpm	0.9955
Tampão pH 3,0, 500 ml, 75 rpm	0.8487
Tampão pH 1,2 , 500 ml, 75 rpm	*
Tampão pH 3,0, 900 ml, 50 rpm	0.7155
Tampão pH 1,2 , 900 ml, 50 rpm	0.9627
Tampão pH 4,5, 900 ml, 75 rpm	0.9986
Tampão pH 3,0, 900 ml, 75 rpm	*
Tampão pH 1,2 , 900 ml, 75 rpm	*
* Tais meios forneceram dissoluções muito rápidas, apresentando correlações com coeficiente de correlação extremamente baixos.	



O CDER/FDA (1997a) estabelece que, para fármacos de baixa hidrossolubilidade (classe II), o teste de dissolução deveria especificar pelo menos dois tempos para um melhor controle de qualidade do produto lote a lote.

A partir de tal ferramenta, torna-se viável o trabalho de desenvolvimento das novas formulações a serem investigadas, pois tornou-se possível compará-las com o uso de uma metodologia de dissolução mais representativa do comportamento *in vivo* do cetoconazol, e a partir daí chegar à formulação com o melhor perfil de dissolução. Uma vez estando o meio escolhido correlacionado com os resultados *in vivo*, fica possível prever o comportamento *in vivo* que tal formulação poderá exibir. Tal fato, no entanto, só poderia ser comprovado, se um ensaio de biodisponibilidade da formulação escolhida fosse realizado, o que infelizmente não foi contemplado neste trabalho.

#### **4 - Caracterização da matéria prima cetoconazol**

##### **4.1 - Avaliação do “habit” de cristal**

A seguir estão as fotos representativas obtidas por microscopia ótica (Figuras 12 e 13) das amostras de cetoconazol dos 5 fornecedores estudados .

Esta propriedade forneceu indícios do comportamento de fluxo e dissolução da amostra, e sendo a distribuição de geometria desse cristal, mais homogênea, mais homogêneo seria seu fluxo e perfil de dissolução.

Tais propriedades podem ser obviamente correlacionadas ao “habit” observado em um cristal de um fármaco qualquer (RADEBAUGH & RAVIN, 2000)

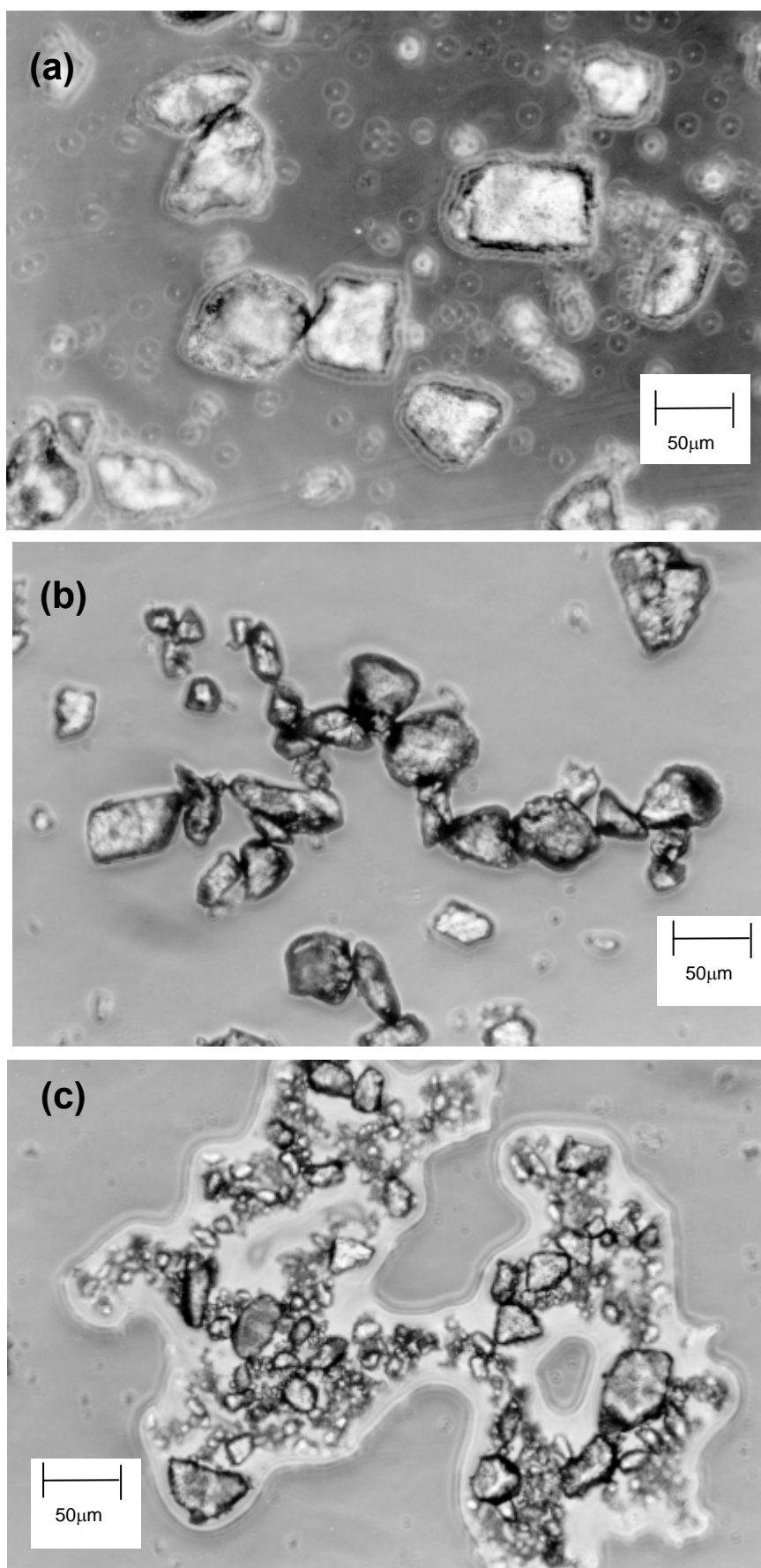


Figura 12 – Fotos representativas obtidas por microscopia ótica (x300) de diferentes amostras de cetoconazol : (a) Fornecedor A (b) Fornecedor B (c) Fornecedor C.

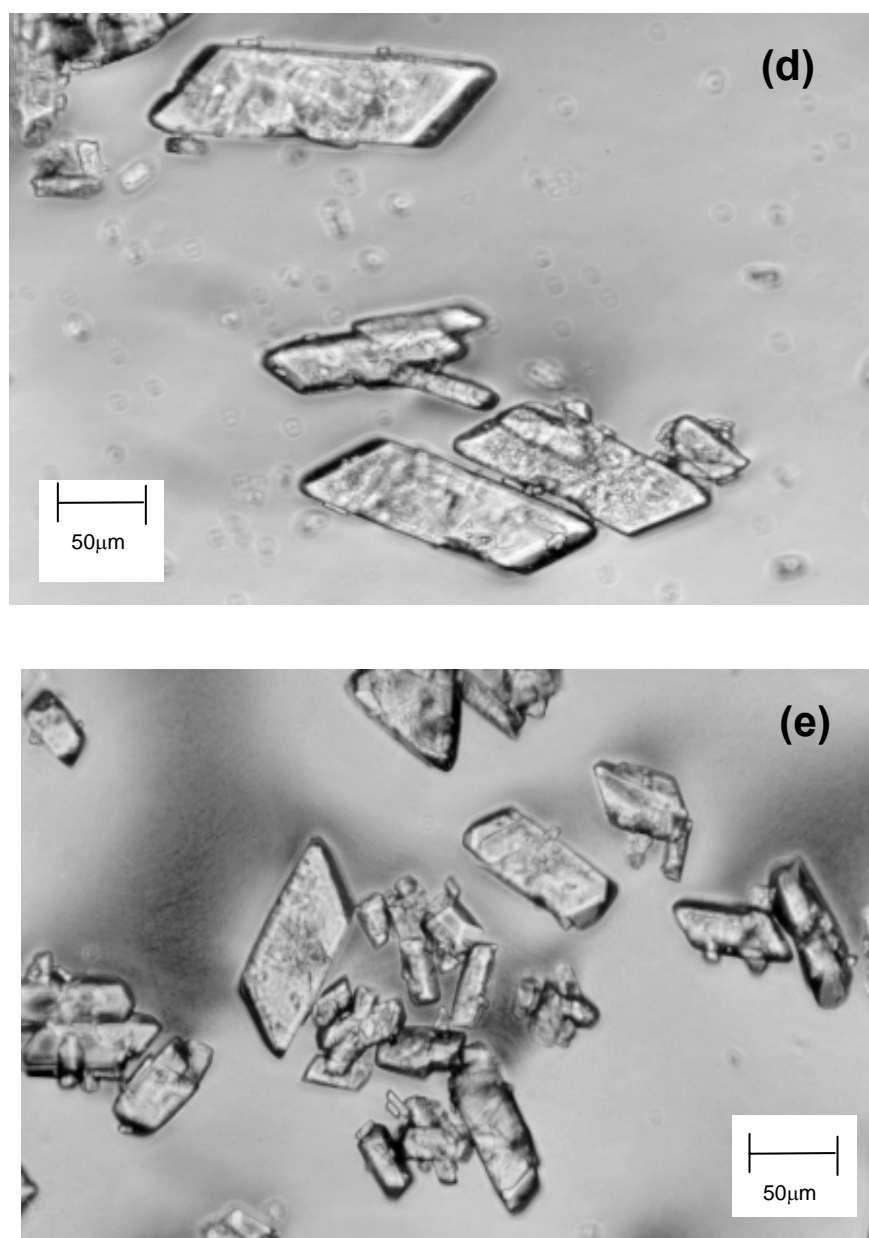


Figura 13 – Fotos representativas obtidas por microscopia ótica (x300) de diferentes amostras de cetoconazol : (d) Fornecedor D (e) Fornecedor E.

O cetoconazol dos fornecedores A, B e C de origem européia apresentam a mesma morfologia possuindo a forma arredondada. O cetoconazol do fornecedor D de origem mexicana, e o fornecedor E de origem coreana, apresentam a mesma morfologia trapezoidal. Para que fosse possível a escolha do fornecedor de cetoconazol mais adequado realizou-se também a determinação do tamanho de partícula de cada um.

#### 4.2 - Determinação do tamanho de partícula

A determinação do tamanho de partícula das amostras de cetoconazol dos 5 fornecedores estudados foi realizada conforme descrito no item 2.5.2 – Métodos. Os resultados obtidos a partir do tratamento das imagens microscópicas estão representados na Tabela 11.

<b>Tabela 11: Tamanho médio de partícula das amostras de cetoconazol.</b>	
<b>Fornecedor</b>	<b>Tamanho médio de partícula (µm)</b>
A	61
B	33
C	23
D	90
E	50

Esta propriedade indica o provável enchimento uniforme das matrizes durante a compressão e baixa variação de peso dos comprimidos preparados (RADEBAUGH & RAVIN, 2000).

No processo de compressão direta, o tamanho de partícula e a morfologia do fármaco são de extrema importância. Com isso, o cetoconazol do fornecedor D mostrou-se ser o mais adequado para o objetivo do trabalho já que seu maior tamanho de partícula em relação aos demais fornecedores facilitaria o fluxo, e sua forma cristalina bem definida favoreceria o processo de compressão.

Como o cetoconazol do fornecedor E, apesar de possuir um menor tamanho de partícula, apresentou a mesma morfologia de cristal do cetoconazol

do fornecedor D, foi utilizado na fabricação do lote piloto de maior tamanho de lote, na tentativa de comprovar a reprodutibilidade da formulação escolhida.

Com o objetivo de analisar a pureza química e a presença de polimorfismo nas amostras de cetoconazol dos diferentes fornecedores estudados realizou-se análise por infravermelho e análise térmica.

#### 4.3 - Espectrometria no infravermelho

De acordo com os certificados de análises, todas as amostras de cetoconazol dos fornecedores utilizados neste trabalho possuíam pureza acima de 99,0 %.

Os espectros de infravermelho das amostras de cetoconazol dos 5 fornecedores e do padrão primário USP estão representados nas Figuras 14, 15 e 16.

A Tabela 12 apresenta as principais bandas observadas no espectro de IV das amostras de cetoconazol, tais como bandas características do grupamento amida, éter e de anel aromático (CLARKE'S, 1986; SILVERSTEIN, BASSLER & MORRILL, 1994), demonstrando em todos os casos, a ausência de bandas referentes aos contaminantes de cetoconazol (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2002b; EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2000).

<b>Tabela 12: Principais bandas do espectro de IV das amostras de cetoconazol</b>	
<b>Comprimento de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Descrição</b>
3100-3000	Deformação axial de C-H aromático
1600 – 1585 e 1500 – 1400	Deformação axial de C-C de aromático
1640	Deformação axial de C=O de amida
1689 – 1471	Deformação axial de C=N
1275 – 1200	Deformação axial assimétrica de C-O-C
1096 – 1089	Cloro – benzeno
1075 – 1020	Deformação axial simétrica de C-O-C
440	Deformação angular fora do plano de C-C aromático

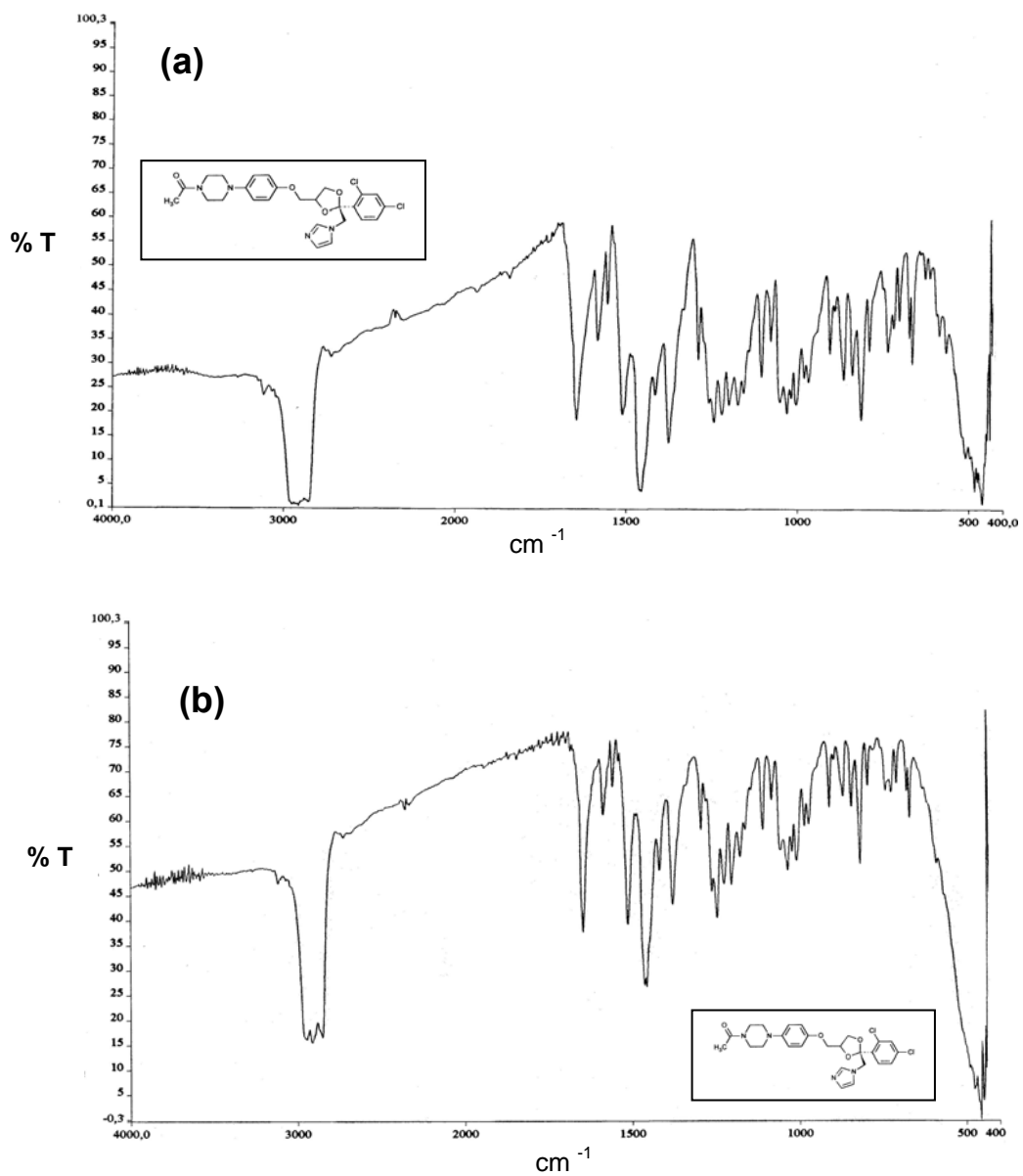


Figura 14 – Espectro de absorção no IV de diferentes amostras de ceftriaxone : (a) Padrão primário USP (b) Fornecedor A.

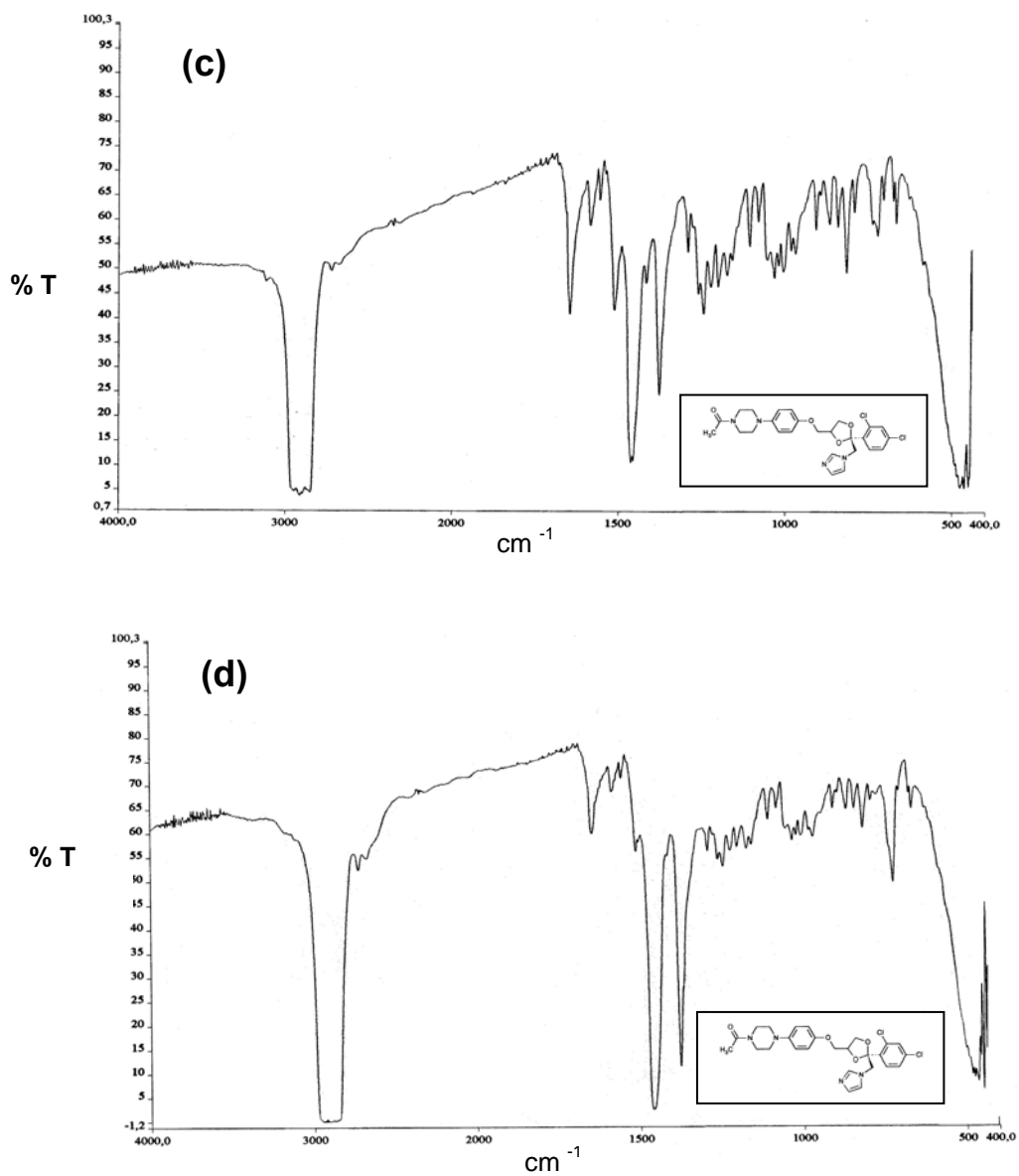


Figura 15 – Espectro de absorção no IV de diferentes fornecedores de cetoconazol : (c) Fornecedor B (d) Fornecedor C.

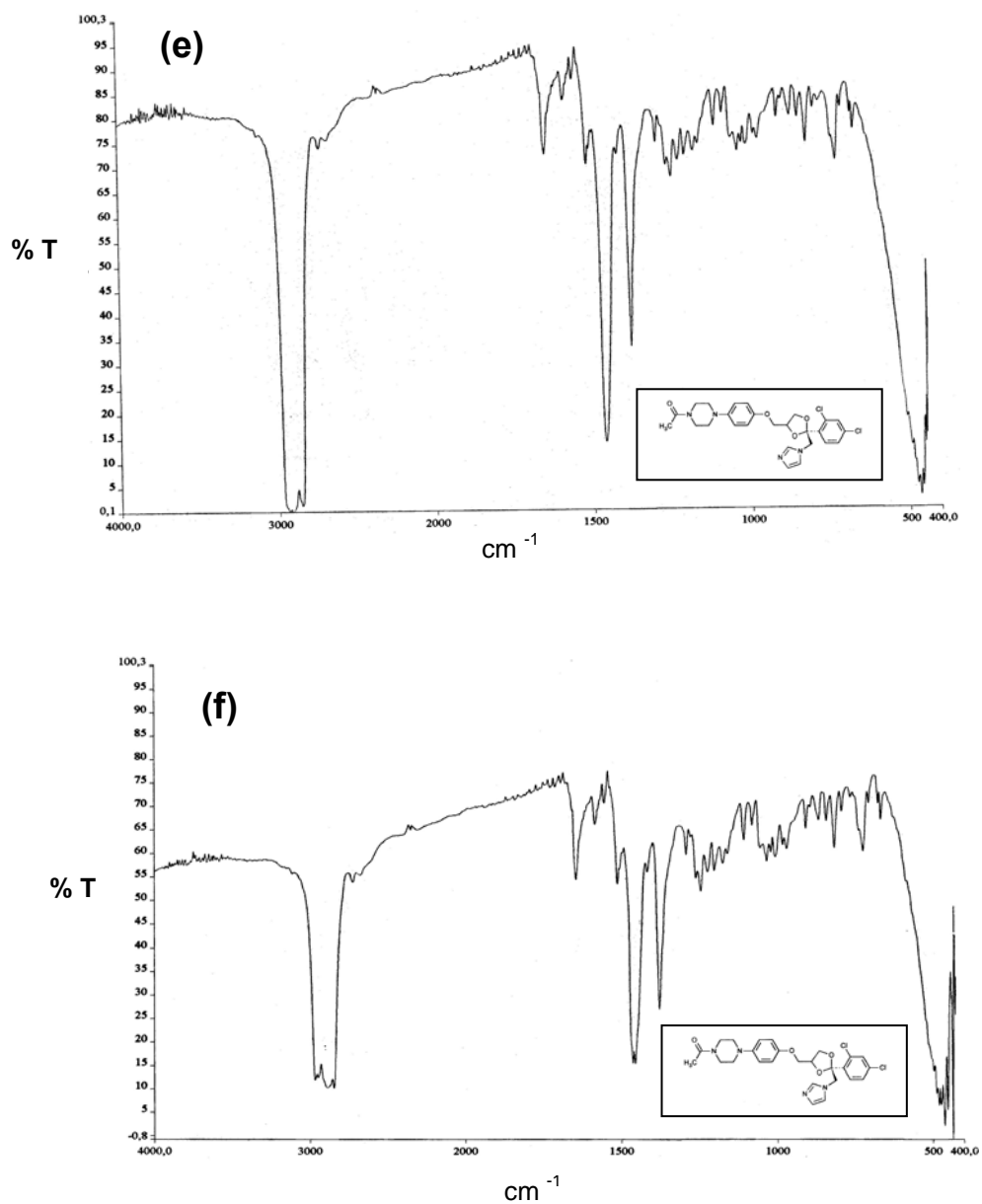


Figura 16 – Espectro de absorção no IV de diferentes amostras de cetoconazol : (e) Fornecedor D (f) Fornecedor E.



#### 4.4 - Análise térmica

Os termogramas das amostras de cetoconazol dos 5 fornecedores e do padrão primário USP estão representados nas Figuras 17 e 18.

Pode – se observar o intervalo de fusão de 148 - 152 ° C , conforme indica a literatura (THE MERCK INDEX, 2001) . De acordo com os termogramas obtidos, nenhuma amostra de cetoconazol dos fornecedores estudados apresenta polimorfismo, fato também observado para o padrão primário USP (VISERAS *et al.*, 1995). Isto aponta uma maior segurança no processamento deste ativo, em especial, em termos da reprodutibilidade do perfil de dissolução dos comprimidos a serem preparados.

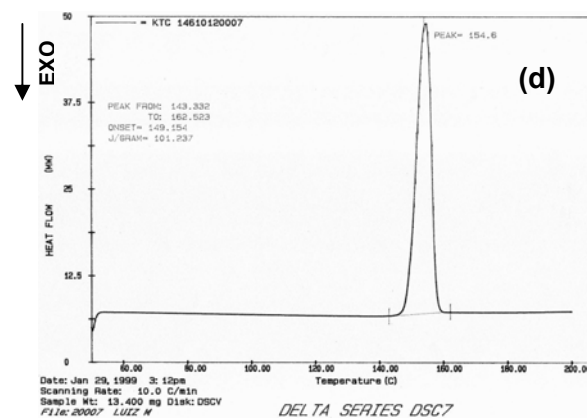
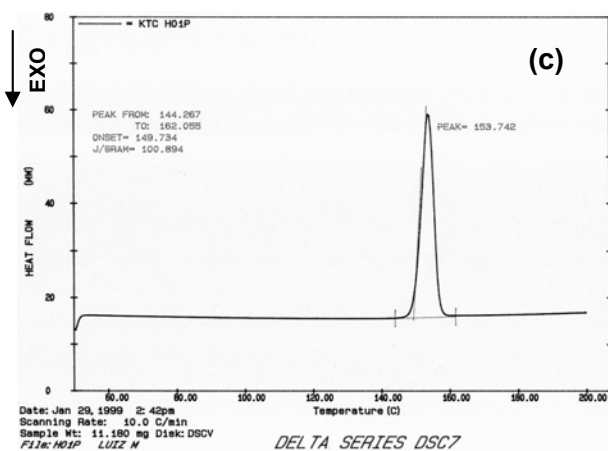
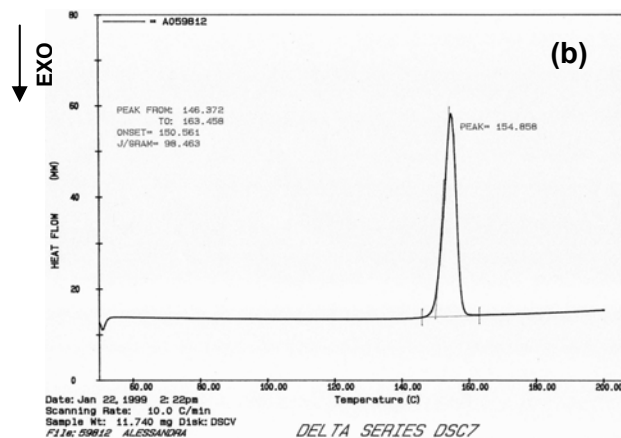
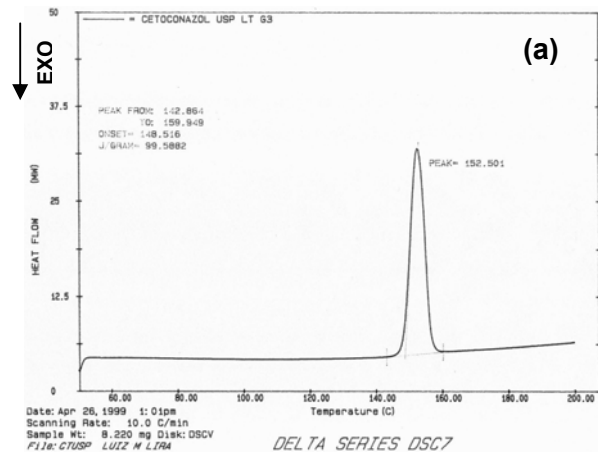


Figura 17 – Análises calorimétricas de varredura (ACV) de diferentes amostras de cetoconazol : (a) Padrão primário USP ; (b) Fornecedor A; (c) Fornecedor B; (d) Fornecedor C

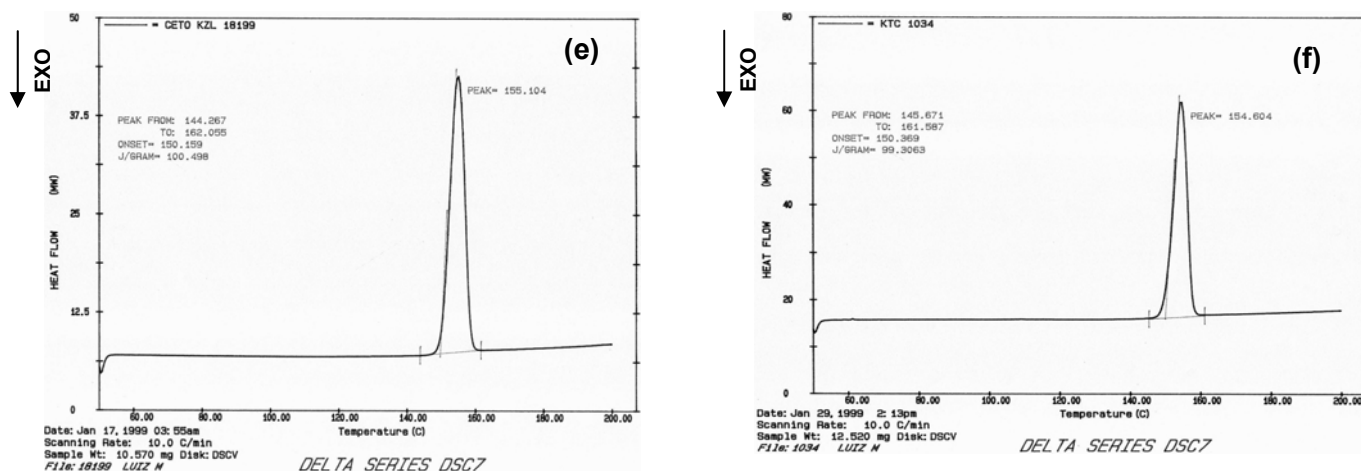


Figura 18 – Análises calorimétricas de varredura (ACV) de diferentes amostras de cetoconazol : (e) Fornecedor D; (f) Fornecedor E.

A caracterização dos comprimidos de CTZ fabricados no presente trabalho foi realizada conforme descrito no item 2.7–Métodos, com o intuito de verificar a conformidade dos mesmos frente às especificações estabelecidas nos compêndios oficiais e assim avaliar o desempenho da formulação no processo produtivo. Foi realizada também, a caracterização do medicamento referência (Formulação B) utilizado no desenvolvimento do método de dissolução.

O terceiro lote do medicamento referência (Formulação C) e dois medicamentos genéricos (Formulações E e F) do mercado, também foram caracterizados já que foram utilizados na avaliação do poder discriminatório do meio de dissolução selecionado em função dos resultados obtidos com o medicamento referência.

### 5.1 – Peso médio e uniformidade de peso

Todas as amostras foram aprovadas quanto a estes critérios, pois verificou-se que todas as 20 unidades individuais pesadas apresentaram peso dentro da faixa de  $\pm 5\%$  sobre o peso médio. Os resultados encontram-se nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13: Peso médio e valores mínimo e máximo encontrados nas amostras dos comprimidos	
Formulação	Resultado ( mg)
A*	Média= 311,0

B	Média= 314,4 Mín.= 309,0 Máx.= 320,0
C	Média= 311,4 Mín.= 307,0 Máx.= 316,0
D*	Média= 345,6
E	Média= 328,6 Mín.= 319,0 Máx.= 335,0
F	Média= 332,2 Mín.= 325,0 Máx.= 340,0
Celulose + Croscarmellose ( CTZ fornecedor D)	Média= 433,3 Mín.= 421,0 Máx.= 446,0
Celulose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	Média= 430,2 Mín.= 423,0 Máx.= 440,0
Cellactose + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 438,8 Mín.= 432,0 Máx.= 452,0
Cellactose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	Média= 436,4 Mín.= 427,0 Máx.= 445,0
Maltose + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 432,3 Mín.= 424,0 Máx.= 446,0
Maltitol + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 419,0 Mín.= 409,0 Máx.= 428,0
Isomalte + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 421,0 Mín.= 411,0 Máx.= 427,0
Manitol + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 425,0 Mín.= 415,0 Máx.= 431,0
Sorbitol + Croscarmellose (CTZ fornecedor D)	Média= 434,0 Mín.= 426,0 Máx.= 440,0
* Resultados obtidos a partir do laudo de equivalência farmacêutica realizado pelo CONFAR <sup>1</sup> ** Não foi possível realizar a análise nas formulações contendo lactose, lactitol e xilitol.	

1 – CONFAR – Laboratório de controle de medicamentos, cosméticos, domissanitários e produtos afins e as respectivas matérias primas – Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de farmácia.

**Tabela 14: Peso médio e valores mínimo e máximo encontrados para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetozonazol do fornecedor E**

Formulação	Resultado (mg)		
	INÍCIO	MEIO	FIM
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor E)	Média= 429,6	Média= 430,4	Média= 433,3
	Mín.= 422,0	Mín.= 419,0	Mín.= 423,0
	Máx.= 436,0	Máx.= 443,0	Máx.= 449,0
Obs: Início = liberação de máquina; Meio = após pelo menos 30 minutos de compressão; Fim = próximo à finalização da mistura de pós no funil alimentador da máquina de compressão.			

## 5.2 – Resistência mecânica: dureza e friabilidade

Os valores de dureza e friabilidade encontrados para os comprimidos das formulações testadas apresentaram-se de acordo com as especificações oficiais, as quais preconizam para comprimidos simples um valor mínimo dureza de 3 Kp e uma perda de peso no teste de friabilidade de até 1,5% (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988c). A formulação contendo lactose como diluente apresentou resultado de friabilidade maior que 1,5 %. Como a lactose é um excipiente clássico na produção de sólidos orais (WADE & WELLER, 2000), a mesma seria utilizada no estudo para a escolha do melhor desintegrante, não cabendo neste caso, o processo de granulação úmida para não comprometer o caráter comparativo do estudo. Como os resultados por compressão direta não foram satisfatórios a mesma foi excluída do estudo. As formulações contendo laticol e xilitol também foram excluídas do estudo, pois apresentaram aderência aos punções da máquina de compressão tanto pelo processo de compressão direta como por granulação úmida, não sendo possível a realização dos ensaios físico-mecânicos. Os valores das demais formulações estudadas são apresentados nas Tabelas 15 e 16.

<b>Tabela 15: Resultados dos ensaios de dureza e friabilidade</b>		
<b>Formulação</b>	<b>Dureza média ( Kp)</b>	<b>Friabilidade ( %)</b>
A	9,00	0,10
B	9,28	0,13
C	8,52	0,05
D	6,00	0,20
E	10,28	0,21
F	11,31	0,30
Celulose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	6,23	0,25
Celulose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	6,91	0,29
Cellactose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	6,86	0,23
Cellactose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	6,09	0,50
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	7,05	0,60
Maltitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	7,01	0,30
Isomalte + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	6,78	0,30
Manitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	6,49	0,46
Sorbitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	7,84	0,38

**Tabela 16: Resultados dos ensaios de dureza e friabilidade para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetoconazol do fornecedor E**

<b>Formulação</b>	<b>Resultados</b>					
	<b>INÍCIO</b>		<b>MEIO</b>		<b>FIM</b>	
	Dureza média ( Kp)	Friabilidade (%)	Dureza média ( Kp)	Friabilidade (%)	Dureza média ( Kp)	Friabilidade (%)
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor E)	11,01	0,51	11,85	0,43	13,31	0,43

*Obs: Início = liberação de máquina; Meio = após pelo menos 30 minutos de compressão; Fim = próximo à finalização da mistura de pós no funil alimentador da máquina de compressão.*

### 5.3 – Desintegração

Os tempos necessários para a desintegração total dos comprimidos de CTZ em água à 37°C ± 1°C são apresentados nas Tabelas 17 e 18 .

<b>Tabela 17: Resultados de desintegração</b>	
<b>Formulação</b>	<b>Desintegração (s)</b>
A	<b>206</b>
B	<b>144</b>
C	<b>146</b>
D	<b>166</b>
E	<b>587</b>
F	<b>508</b>
Celulose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>17</b>
Celulose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	<b>08</b>
Cellactose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>17</b>
Cellactose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	<b>11</b>
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>67</b>
Maltitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>101</b>
Isomalte + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>59</b>
Manitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>23</b>
Sorbitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	<b>85</b>
* Especificação de desintegração: Máx. 10 min (600 s)	

<b>Tabela 18: Resultados de desintegração para a formulação de maltose + croscarmelose com um maior tamanho de lote e utilizando o cetoconazol do fornecedor E</b>			
<b>Formulação</b>	<b>Desintegração (s)</b>		
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor E)	INÍCIO	MEIO	FIM
	98	94	102
Obs: Início = liberação de máquina; Meio = após pelo menos 30 minutos de compressão; Fim = próximo à finalização da mistura de pós no funil alimentador da máquina de compressão.			

Observou-se que todas as amostras encontram-se dentro da especificação de Máx. 10 min (600s) em água (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002f). Vale ressaltar que dentre as formulações testadas com os derivados de açúcar a que apresentou o menor tempo de desintegração foi a que utilizou manitol e a formulação

contendo maltitol apresentou o maior tempo de desintegração. Outro fato importante a se comentar é a grande diferença de tempo de desintegração entre as formulações E e F de medicamentos genéricos já comercializados em comparação aos lotes do medicamento referência ( formulações A, B e C).

Como é notório, a desintegração completa não implica necessariamente em dissolução do fármaco no meio. Conhecendo a baixa hidrossolubilidade do cetoconazol, faz – se necessário avaliar a dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica, o que será apresentado adiante.

#### **5.4 – Teor**

No presente trabalho foi utilizada a quantificação por espectrofotometria no UV. Houve a necessidade de verificar o comportamento espectroscópico do fármaco em HCl 0,1 N, determinando seu espectro de absorção na região do UV, com intuito de verificar se o  $\lambda_{\text{máx}}$  era realmente o de 225 nm como indicado pelo fabricante. A Figura 19 ilustra o espectro de absorção no UV para o CTZ em HCl 0,1 N.

O comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) obtido foi de 206 nm. Já que este valor encontra-se muito próximo ao final da região do UV, utilizamos na determinação do teor dos comprimidos o comprimento de onda de 210 nm, assim como na metodologia de dissolução. Tal procedimento visou manter os resultados dentro da linearidade do equipamento sem perder, no entanto, a sensibilidade do método.

A partir da equação da reta e das absorvâncias obtidas no comprimento de onda escolhido de cada amostra, foram determinados os teores percentuais de CTZ nos comprimidos sobre o valor declarado (200 mg). Os resultados estão apresentados na Tabela 19.



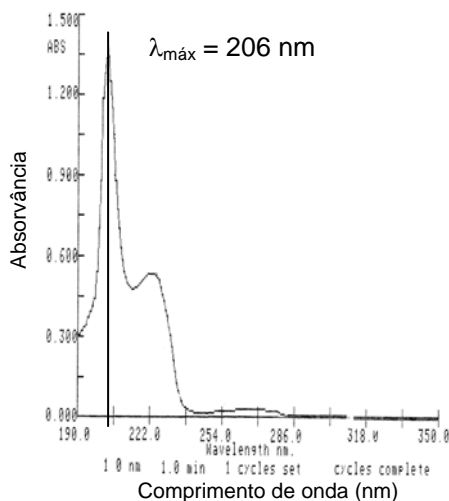


Figura 19 – Espectro de absorção do CTZ (10,0µg/ml) em HCl 0,1 N .

Tal	
Formulação	Teor (%)
A	99,97 (DPR = 2,00)
B	100,20 (DPR = 2,30)
C	98,06 (DPR = 2,22)
D	90,62 (DPR = 1,98)
E	93,21 (DPR = 2,00)
F	95,69 (DPR = 3,00)
Celulose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	96,82 (DPR = 3,09)
Celulose + Crospovidona (CTZ fornecedor D)	92,87 (DPR = 3,10)
Cellactose + Croscarmelose CTZ fornecedor D)	98,62 (DPR = 2,85)
Cellactose + Crospovidona ( CTZ fornecedor D)	97,72 (DPR = 2,50)
Maltose + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	96,37 (DPR = 2,33)
Maltitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	96,93 (DPR = 2,02)
Isomalte + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	95,13 (DPR = 2,10)
Manitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	98,51 (DPR = 3,05)
Sorbitol + Croscarmelose (CTZ fornecedor D)	99,64 (DPR = 3,00)
* Especificação de teor: 90 – 110 %	
** Não foi realizada análise de teor na formulação maltose + croscarmelose com maior tamanho de lote.	

## 5.5 – Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol obtidos a partir dos lotes pilotos

A partir da equação da reta obtida no item 2.9.1 – Métodos - e das absorvâncias obtidas de cada amostra, foram determinados os percentuais dissolvidos de CTZ .

Para a escolha do desintegrante ideal para a formulação utilizou-se excipientes classicamente conhecidos, tais como celulose microcristalina e cellactose (mistura de celulose pó + lactose monohidratada na proporção de 25:75) e os perfis de dissolução dos comprimidos fabricados com o CTZ do fornecedor D foram traçados e estão representados na Figura 20.

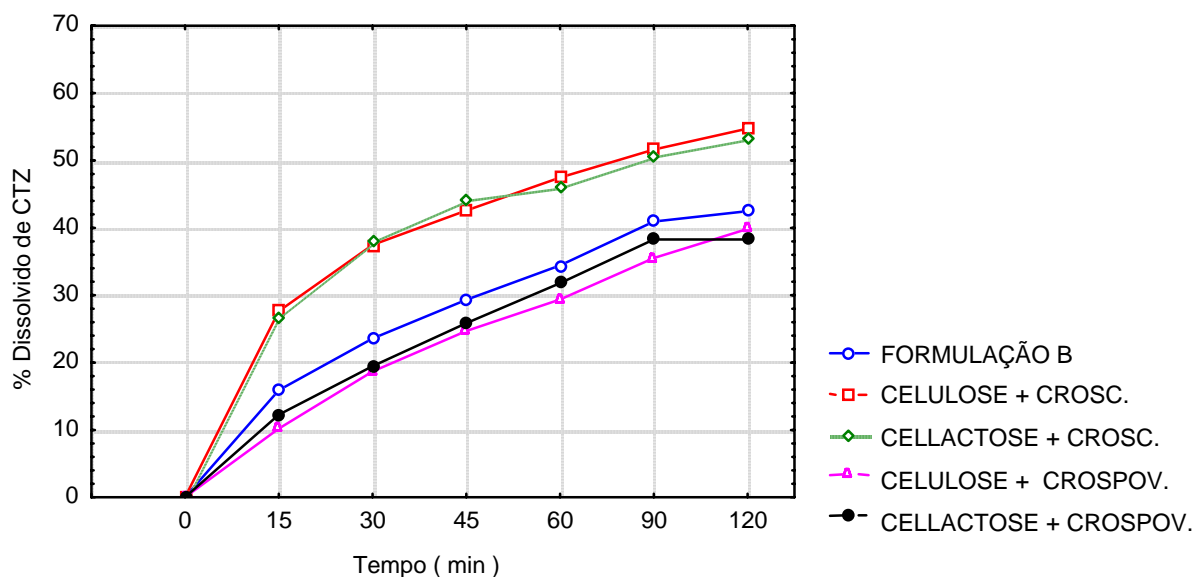


Figura 20 – Efeito do desintegrante no perfil de dissolução de comprimidos de cetoconazol 200 mg (valores médios). Os demais conjuntos se mostraram estatisticamente diferentes.

Observou-se então que o desintegrante que apresentou o melhor perfil de dissolução foi a croscarmelose sódica e foi este desintegrante o escolhido para ser utilizado no desenvolvimento da nova formulação de cetoconazol 200 mg comprimidos proposta neste trabalho (FERRERO *et al.*, 1997).

Uma vez escolhido o desintegrante, determinou-se os perfis de dissolução das demais formulações contendo como diluente diferentes derivados de açúcares (Figura 21), os quais devido sua alta solubilidade em água favoreceriam a dissolução do fármaco pouco solúvel cetoconazol (CHANG *et al.*, 2000).

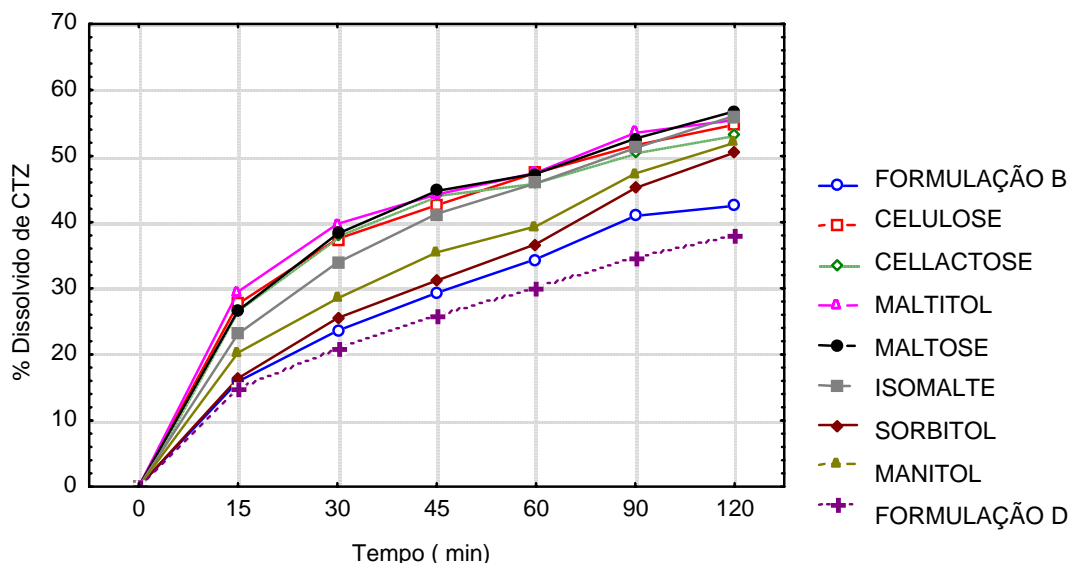


Figura 21 – Efeito do excipiente no perfil de dissolução de comprimidos de CTZ 200 mg. O desintegrante utilizado foi a croscarmellose sódica (valores médios). Apenas as formulações contendo celulose e cellactose ( $p = 0.40816$ ) e as contendo maltose e maltitol ( $p = 0.0958$ ) apresentaram-se estatisticamente semelhantes. Os demais conjuntos se mostraram estatisticamente diferentes.

Observou-se que as formulações contendo como diluentes a maltose e o maltitol apresentaram o melhor perfil de dissolução. O diluente escolhido para ser usado na nova formulação foi a maltose uma vez que, além de apresentar um perfil de dissolução melhor, apresentou também menor tempo de desintegração.

A sugestão da nova formulação para o produto cetoconazol 200 mg comprimidos está descrita na Tabela 20.

Um lote de maior tamanho foi fabricado com a mesma formulação descrita na Tabela 20 no intuito de verificar se os resultados de desempenho de compressão iriam se repetir. Conforme já apresentado no item 5 – Resultados e Discussões – os

resultados foram satisfatórios, comprovando-se ser o processo de fabricação de tal formulação reprodutível.

<b>Tabela 20: Proposta de nova formulação para cetoconazol 200 mg comprimidos e função de cada insumo</b>		
<b>Matéria primas</b>	<b>%</b>	<b>Função</b>
Cetoconazol	46,5	Fármaco
Maltose	46,9	Diluente
Dióxido de silício	0,5	Promotor de fluxo
Croscarmelose sódica	5,0	Desintegrante
Metabissulfito de sódio	0,1	Antioxidante
Estearato de magnésio	1 ,0	Lubrificante

Segundo informações do fabricante a formulação D (candidato à genérico) possui a seguinte fórmula qualitativa: cetoconazol , lactose, celulose microcristalina, amido de milho, polivinilpirrolidona, talco e estearato de magnésio e tal produto é obtido através do processo de granulação úmida. É importante ressaltar o fato que a formulação D continha excipientes insolúveis tais como celulose microcristalina e um desintegrante tecnologicamente ultrapassado como o amido de milho. Já a formulação sugerida na Tabela 20 mostra-se tecnologicamente mais moderna pelo uso de novos desintegrantes e pelo fato de ser fabricada por compressão direta, processo este muito mais vantajoso que o de granulação úmida, conforme já citado no item 2.2 - Introdução.

## **5.6 – Estudos de estabilidade**

No intuito de se verificar se a formulação sugerida na Tabela 20 era estável, os comprimidos foram estocados em condições já anteriormente descritas no item 2.10 – Métodos. Os resultados físico-mecânicos e o teor (por espectrofotometria no UV) após 12 meses estão apresentados na Tabela 21. A Figura 22 apresenta o perfil de dissolução da formulação após o período de estocagem de 12 meses, comparados ao perfil de dissolução inicial da mesma formulação e ainda com as

formulações B (medicamento referência) e D (candidato à genérico). Nenhuma alteração de aspecto foi observada e nem de teor .

**Tabela 21:** Resultados físico-mecânicos e de teor ( por espectrofotometria no UV) após 12 meses dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose

Período	Dureza ( Kp)	Desintegração ( s)	Friabilidade (%)	Dosagem por UV (%)
Inicial	7,05	67	0,60	96,37 (DPR = 2,33)
Após 12 meses	8,92	60	0,17	98,62 (DPR = 2,99)

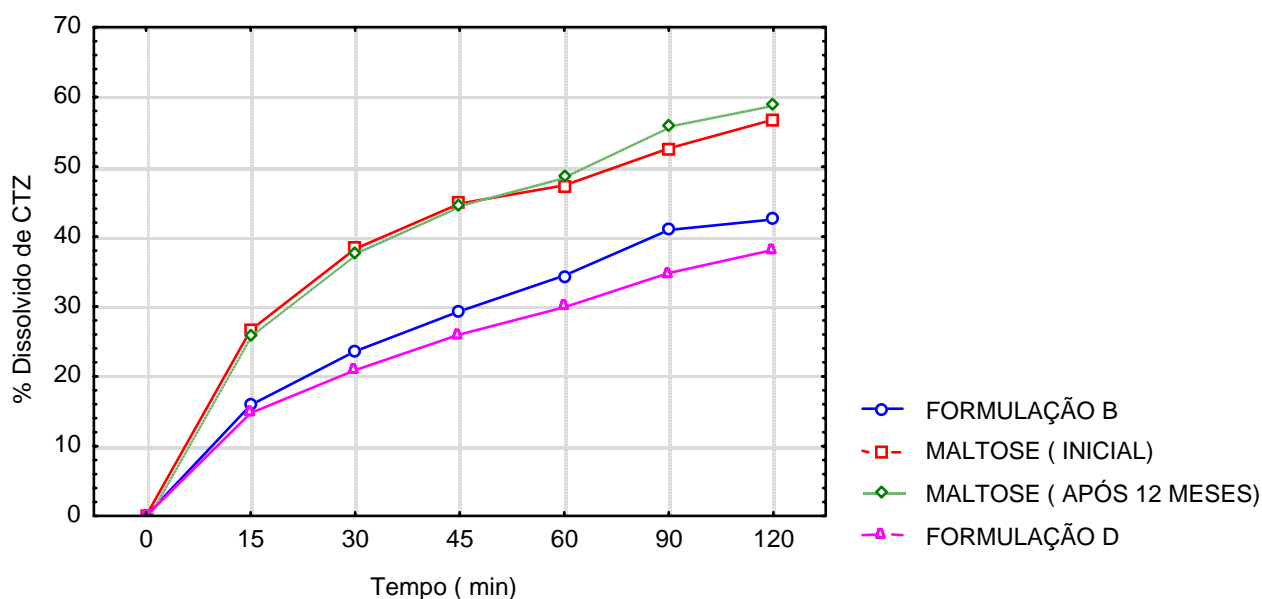


Figura 22 – Perfis de dissolução da formulação contendo maltose antes e após o período de estocagem de 12 meses, comparados às formulações B (medicamento referência) e D (candidato a genérico) (valores médios). A formulação inicial e após 12 meses contendo maltose (  $p = 0,03912$ ) apresentaram-se estatisticamente semelhantes. Os demais conjuntos se mostraram estatisticamente diferentes.

Um estudo de interação fármaco - excipiente foi realizado por análise térmica. Para melhor ilustrar o trabalho analisou-se inicialmente uma mistura física 1:1 de maltose + cetoconazol e também um triturado dos comprimidos da formulação descrita na tabela 20 após estocagem de 12 meses. Em ambos termogramas(Figura 23) pode – se observar o intervalo de fusão do cetoconazol (148 - 152 °C) e da maltose (102 – 103°C) , conforme indica a literatura (THE MERCK INDEX, 2001; WADE & WELLER, 2000). Pode-se verificar que os termogramas são idênticos,

comprovando que não houve interações na formulação durante o período de estocagem.

Para confirmar se alguma alteração significativa aconteceu durante o período de estocagem também foi realizada análise de teor por CLAE segundo a metodologia descrita na UNITED STATES PHARMACOPEIA (2002f) e já descrita anteriormente no item 2.8–Métodos. Os principais cromatogramas são apresentados na Figura 24 e os resultados de teor obtidos por CLAE estão apresentados na Tabela 22.

A formulação apresentada na Tabela 20 se manteve estável durante o período de estocagem, podendo ser uma forte sugestão de fórmula para ser utilizada no lugar da formulação D (candidata à genérica) de forma a conferir qualidade biofarmacêutica e poder assim obter uma provável aprovação nos ensaios de bioequivalência exigidos pela ANVISA.

<b>Tabela 22: Resultados de teor obtidos por CLAE dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose.</b>	
<b>Período</b>	<b>Teor(%)</b>
Inicial	109,25 (DPR = 2,58)
Após 12 meses	107,80 (DPR = 2,85)
* Especificação de teor: 90 – 110 %	

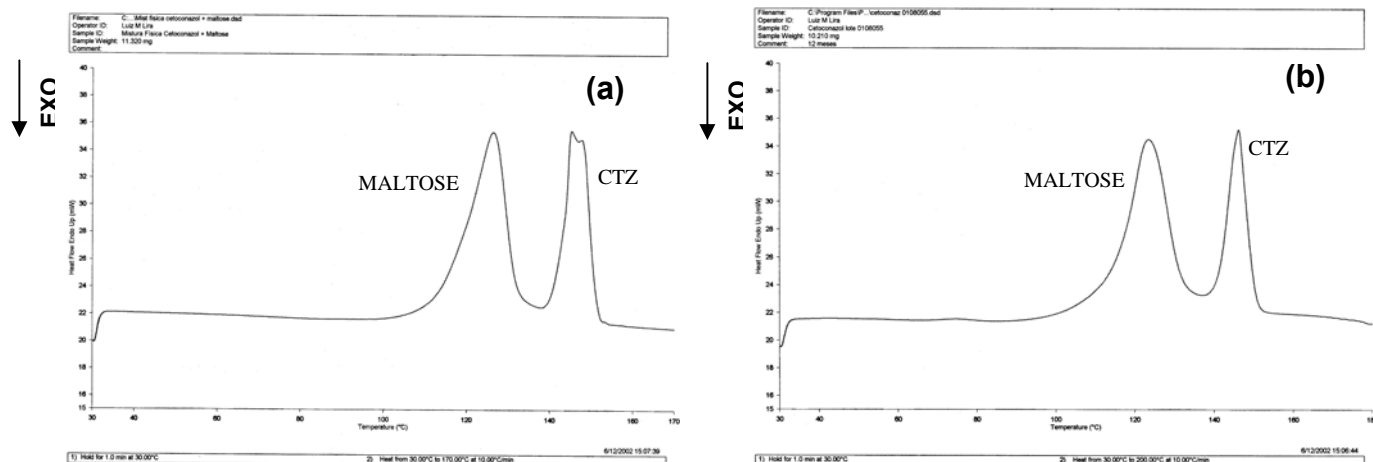


Figura 23 – Estudo de interação fármaco – excipiente por ACV: (a) mistura física maltose + cetoconazol, 1:1 (b) comprimidos formulados com maltose após estocagem de 12 meses

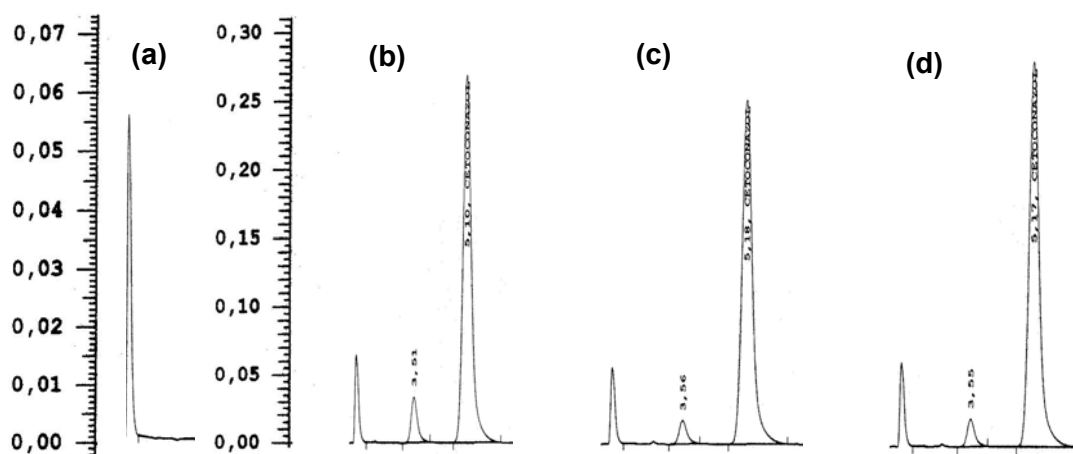


Figura 24 – Análise por CLAE dos comprimidos de cetoconazol formulados com maltose início e após 12 meses de estocagem: (a) branco; (b) padrão primário USP (c) Formulação contendo maltose inicial (d) Formulação contendo maltose após 12 meses.

## 5.7 – Determinação do perfil de dissolução comprimidos de cetoconazol de 200 mg disponíveis no mercado

Para avaliar o poder discriminatório da metodologia de dissolução selecionada avaliou-se o perfil de dissolução com outros produtos disponíveis no mercado. Os perfis de dissolução obtidos são apresentados na figura 25.

Pode-se observar estatisticamente que os perfis de dissolução dos variados produtos do mercado são diferentes ( $p < 0,00001$ ). Os medicamentos genéricos (formulações E e F) apresentaram um perfil de dissolução preocupantes em relação as demais amostras o que coloca em dúvida a qualidade dos mesmos. Tal fato porém demonstra que o poder discriminatório da metodologia de dissolução selecionada está bastante adequado para servir como ferramenta confiável para o desenvolvimento de formulações.

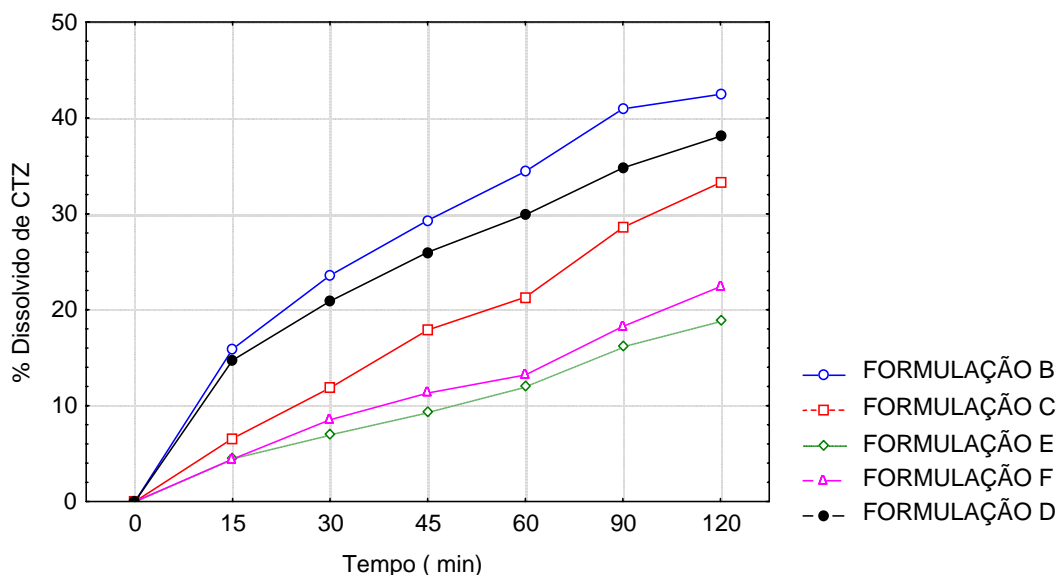


Figura 25 – Perfis de dissolução de medicamentos do mercado comparados ao medicamento referência (B) e ao candidato à genérico (D) (valores médios)



---

---

**CONCLUSÃO**

---

---

## CONCLUSÃO

- Com este trabalho, tornou – se possível evidenciar a utilidade prática do uso de excipientes a base de açúcares como excipientes para compressão direta, dotados da capacidade de promover um aumento da dissolução dos fármacos com eles veiculados.
- A respeito da possibilidade destes derivados comprometerem a compressão da mistura de pós com eles preparados, em especial pelo aumento de sua higroscopia e perda de fluxo com adesão aos punções, comprovou-se o uso promissor da maltose como um novo e eficiente excipiente de compressão direta, fornecendo formulações de *performance* de compressão e estabilidade adequadas.
- A qualificação da matéria prima ativa tem sido um desafio enfrentado por várias empresas farmacêuticas fabricantes de medicamentos genéricos, devido a grande variabilidade de fornecedores no mercado. Este trabalho ressaltou a importância do estudo de preformulação como ferramenta para tal qualificação, de forma a permitir o uso de um material de custo adequado, sem comprometimento de sua qualidade e consequentemente do produto acabado.
- Em termos do desenvolvimento de medicamentos genéricos, este trabalho apontou o quanto um resultado não bioequivalente de uma formulação pode ser importante, e servir de subsídio para a reavaliação das condições de dissolução através da correlação in vitro-in vivo e a partir daí poder sugerir outras alternativas de formulação de qualidade biofarmacêutica superior, evitando perdas desnecessárias de tempo e dinheiro.
- Ao mesmo tempo, a grande variabilidade dos perfis de dissolução apresentada pelos medicamentos genéricos de mercado analisados, apontaram para a baixa qualidade dos mesmos, indicando a necessidade de um monitoramento mais efetivo destes produtos por parte da ANVISA.

---

---

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H.M. Dissolution. In: Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 654-666.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Lista de medicamentos genéricos registrados por ordem de medicamento referência. Disponível em : <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/registrados.htm>. Acesso em 12 de maio de 2003.

ALLEN, L.V., ERICKSON , M.A., Stability of ketoconazole, metolazone, metronidazole, procainamide hydrochloride, and spironolactone in extemporaneously compounded oral liquids, *American Journal of Helth-System Pharmacists*, 53(1), setembro, 2073 –2078, 1996.

AMIDON, G. L., LENNERNÄS, H., SHAH, V. P., CRISON, J. R. A theoretical basic for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12(3), 413-420, 1995.

ARMSTRONG, N. A. Funcionalidade related test for excipients. *International Journal of Pharmaceutics*, 155, 1-5, 1997.

BALAN, G., TIMMINS, P., GREENE D.S., MARATHE, P.H., In – vitro in – vivo correlation models for glibenclamide after administration of metformin / glibenclamide tablets to healthy human volunteers, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52, 831 – 838, 2000.

BALAN, G., TIMMINS, P., GREENE, D.S., MARATHE, P.H., In vitro –in vivo correlation (IVIVC) models for metformin after administration of modified – released (MR) oral dosage forms to healthy human volunteers, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90 (8), agosto, 1176 – 1185, 2001.

BENNETT, J.E. Antimicrobial agents( antifungal agents). In: HARDMAN, J.G., GILMAN, A .G., LIMBIRD, L.E. Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 9 ° ed , USA , McGraw-Hill , 1996, p. 1175.

BOWE,K.E. Recent advances in sugar-based excipients, *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 4(1), julho, 166 – 173, 1998.

BOWE,K.E., BILLING, J.L., SCHWARTZ, J.B., MOORE, J.C., WANG,A.E. Crystalline maltose: a direct compression pharmaceutical excipient, *Tableting and Granulation Yearbook, Pharmaceutical Technology*, suplemento, outubro, 44 – 50, 1997.

BRASIL. Lei n ° 9787 de 10 de fevereiro de 1999. Estabelece o medicamento genérico . Disponível em : <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/leis/9787.htm>. Acesso em 12 de maio de 2003.

BRASIL. Resolução RDC n ° 135 de 29 de maio de 2003. Regulamento técnico para medicamentos genéricos. Disponível em : [http:// www. anvisa.gov.br / hotsite/ genericos/ legis.htm](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis.htm). Acesso em 15 de maio de 2003.

BRASIL. Resolução RDC n ° 478 de 19 de março de 2002. Guia para provas de bioequivalência de medicamentos genéricos. Disponível em : [http:// www. anvisa.gov.br / hotsite/ genericos/ legis.htm](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis.htm). Acesso em 15 de maio de 2003.

BRITISH PHARMACOPOEIA . London. The Stationery Office, 2002a. v.II. Appendix I D A – 123 Buffer Solutions.

BRITISH PHARMACOPOEIA . London. The Stationery Office, 2002b. v.I. p. 1001 - 1002 Ketoconazole.

CAMENGA, H.K., ZIELASKO, B., Thermal behaviour of isomalt, *Thermochimica acta*, 271, 149 – 153, 1996.

CARDOT, J.M., BEYSSAC, E., Scientific implications and standardisation, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 18(1), 113 – 120, 1993.

CARLSON, J.A ., MANN, J., CANAFAX, D.M., Effect of pH on disintegration and dissolution of ketoconazole tablets, *American Journal of Hospital Pharmacy*, 40, agosto, 1334 –1336, 1983.

CDER/FDA. Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release of solid oral dosage forms. Disponível na INTERNET via <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Arquivo consultado em 15 de maio de 2002a , p.14 .

CDER/FDA. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro-in vivo correlations. Disponível na INTERNET via <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Arquivo consultado em 15 de maio de 2002b , p.24.

CHANG, R.K ., GUO, X., BURNSIDE, B.A., COUCH, R.A. Comprimidos de dissolução rápida. *Pharmaceutical Technology*, outubro,11 – 14, 2000.

CHIN, T.W.F., LOEB, M., FONG, I.W., Effects of an acidic beverage (coca – cola) on absorption of ketoconazole, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(8), agosto, 1671 – 1675, 1995.

CIRUNAY, J. J.N., PLAIZIER – VERCAMMEN, A., Optimization of a new filler /binder for direct compression using central composite design, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(10), 945 – 950, 1997.

CIRUNAY, J.J.N., VERCAMMEN, J.A.P. Evaluation of Xylitab 200: a new filler/binder for direct compression using factorial design. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(4), 363-368, 1997.

CLARKE'S . Isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and postmortem material, 2 ° edição, The Pharmaceutical Press, 1986, p. 696 – 697.

CLAS, S. D., DALTON C. R., HANCOCK, C. B. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 2, 311-320, 1999.

CONCHA, A.M. Las pruebas oficiales de dissolución *in vitro* . In: ARANCIBIA, A., PEZOA, R. *Biodisponibilidad de medicamentos*. Santiago de Chile: Editorial Universitaria San Francisco, 1992, v.1, p. 171-178.

CORVELEYN, S., REMON, J.P., Formulation and production of rapidly disintegrating tablets by lyophilisation using hydrochlorothiazide as model drug, *International Journal of Pharmaceutics*, 152, 215 – 225, 1997.

CRISON, J.R., WEINER, N.D., AMIDON, G.L., Dissolution media for *in vitro* testing of water – insoluble drugs: Effect of surfactant purity and electrolyte on *in vitro* dissolution of carbamazepine in aqueous solutions of sodium lauryl sulfate, *Journal of pharmaceutical sciences*, 86(3), março, 384 – 388, 1997.

CUTLER, D.J., BEYSSAC, E., AIACHE, J.M., Level B and C *in vitro* correlations: statistical considerations, *International Journal of Pharmaceutics*, 158, 185 - 193, 1997.

DANESHMEND, T.K.; WARNOCK, D.W.; Clinical pharmacokinetics of systemic antifungal drugs, *Clinical Pharmacokinetics*, 8, 17-42, 1983.

DAOUST, R.G., LYNCH, M., Mannitol in chewable tablets, *Drug and Cosmetic Industry*, 93(1), julho, 26 – 28, 88, 92, 128 – 129, 1963.

DÍAZ, D.C., DÍAZ, M. C., AWAD, S., BORREGO, M.C., Effect of pharmacotechnical design on the *in vitro* interaction of ketoconazole tablets with non- systemic antacids, *International Journal of Pharmaceutics*, 226, 61- 68, 2001.

DÍAZ, M.T.E., MÉNDEZ, M. G., MARCOS, M. B. P., JATO, J.L.V., LABANDEIRA, J. J. T. Characterization and *in vitro* dissolution behaviour of ketoconazole/ $\beta$ - and 2 – hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion compounds, *International Journal of Pharmaceutics*, 143, 203-210, 1996.

DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS : DEF 2001/02. 30.ed. Rio de Janeiro: Publicações científicas, 2001, p. 737.

DRESSMAN, J.B., AMIDON, G.L., REPPAS, C., SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research*, 15(1), 11-22, 1998.

DRESSMAN, J.B., REPPAS, C., In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water –soluble drugs, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11 suplemento 2, S73 b- S80, 2000.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 3 ed. 2000, p. 871 – 873, Ketoconazole.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988a. parte.1. V.1.5. Determinação do tempo de dissolução para comprimidos e cápsulas.



FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988b. parte.1. V.1.1. Determinação de peso em formas farmacêuticas.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988c. parte.1. V.1.3. Determinação de resistência mecânica em comprimidos.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988d. parte.1. V.1.4. Testes de desintegração.

FERRERO, C., MUNOZ, N., VELASCO, M.V., RUIZ, A.M., CASTELLANOS, R.J. Disintegrating efficiency of croscarmellose sodium in a direct compression formulation. *International Journal of Pharmaceutics* , 147, 11-21, 1997.

FURLAN, F., Benefícios do aerosil em processos farmacêuticos, *Fármacos & Medicamentos*, 1, novembro/ dezembro, 22 – 29, 1999.

FURTADO, C. , Genéricos, o que são?, Rio de Janeiro, disponível em <http://www.genericos.com.br>. Acesso em 10 de julho de 2001.

GALIA, E., HORTON, J., DRESSMAN, J.B., Albendazole generics – A comparative *in vitro* study, *Pharmaceutical Research*, 16(12), 1871 – 1874, 1999.

GALIA, E., NICOLAIDES, E., HORTER, D. LOBENBERG, R., REPPAS, C., DRESSAMAN, J.B. Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. *Pharmaceutical Research*, 15(5), 698-705, 1998.

HERVÁS, M.J. F. , HOLGADO, M.A., RABASCO, A.M. El colon como lugar de administración de fármacos. *Ciencia Pharmaceutica*, 7(4), 161-169, 1997.

HO, N. F. H., MERKLE, H. P., HIGUCHI, W. I. Mechanistic and physiologically realistic approach to the biopharmaceutical desing of oral drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 9, 1111-1184, 1983.

HOOGDALEM, E. J. V. , BOER, A. G. , BREIMER, D. D. Intestinal drug absorption enhancement - an overview. *Pharmacology and Therapeutics*, 44, 407-443, 1989.

HÖRTER, D., DRESSMAN, J.B., Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 75 – 87, 2001.

HUANG, Y.C., COLAIZZI, J.L., BIERMAN, R.H., WOESTENBORGH, R., HEYKANTS, J. Pharmacokinetics and dose proportionality of ketoconazole in normal volunteers, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30(2), agosto, 206 – 210, 1986.

JACKSON, K., YOUNG, D., PANT, S., Drug – excipient interaction and their affect on absorption, *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 3(10), outubro, 336 – 345, 2000.

JUNG, H., MILÁN, R.C., GIRARD, M.E., LÉON, F., MONTOYA, M.A., Bioequivalence study of carbamazepine tablets: in vitro-in vivo correlation, *International Journal of Pharmaceutics*, 152, 37 – 44, 1997.

KARASULU, H.Y., TANERI, F., SANAL, E., GUNERI, T, ERTAN, G. Sustained release bioadhesive effervescent ketoconazole microcapsules tableted for vaginal delivery. *Journal of Microencapsulation*, 19(3), 357 – 362, 2002.

KHASHABA, P.Y., SHABOURI, S.R.E., EMARA K.M., MOHAMED,A.M., Analysis of some antifungal drugs by spectrophotometric and spectrofluorimetric methods in different pharmaceutical dosage forms, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 22, 363 – 376, 2000.

LAKE, O.A., OLLING, M., BARENDs, D.M., In vitro-in vivo correlation of dissolution data of carbamazepine immediate release tablets with pharmacokinetic data obtained in healthy volunteers, *European Journal of Pharmaceutics*, 48, 13 – 19, 1999.

LEE , V. H. L.; YAMAMOTO, A. Penetration and enzymatic barriers to peptide and protein absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews* , 4, 171-207, 1990.

LELAWONGS, P. , BARONE,J.A., COLAIZZI, J.L., HSUAN, A.T., MECHLINSKI, W., LEGENDRE, R., GUARNIERI, J. Effect of food and gastric acidity on absorption of orally administered ketoconazole, *Clinical Pharmacy*, 7 , março, 228-235, 1988.

LEUNER, C., DRESSMAN, J., Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 47 – 60, 2000.

LIEBERMAN, H. A., LACHMAN, L. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, New York, USA, Marcel Dekker, INC, 1990, v. 2, p. 269-450.

LÖBENBERG, R., KRÄMER, J., SHAH, V.P., AMIDON, G.L., DRESSMAN, J.B., Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: dissolution behavior of glibenclamide, *Pharmaceutical Research* ,17(4), 439 – 444, 2000.

MACHERAS, P., DOKOUMETZIDIS, A., On the heterogeneity of drug dissolution and release, *Pharmaceutical research*, 17(2), 108 – 112, 2000.

MASSIK, M.A.E., DARWISH, I.A., HASSAN, E.E., KHORDAGUI, L.K.E., Development of a dissolution medium for glibenclamide, *International Journal of Pharmaceutics*, 140, 69 – 76, 1996.

MENTRÉ, F. , ESCOLANO, S. , DIQUET, B. , GOLDMARD, J. L. , MALLET, A. Clinical pharmacokinetics of zidovudine: inter and intraindividual variability and relationship to long term efficacy and toxicity. *European Journal of Clinical Pharmacology* , 45, 397 - 398, 1993.

MODI, N.B., LAM, A., LINDEMULDER, E., WANG, B., GUPTA, S.K., Application of in vitro-in vivo correlations (IVIVC) in setting formulation release specifications, *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 21, 321 – 326 , 2000.

MOOTER, G.V., WUYTS, M., BLATON, N., BUZÓN, R., GROBET, P., AUGUSTIJNS, P., KINGET, R., Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12, 261 – 269, 2001.

MORETTO, L.D. Fatores que influem na biodisponibilidade de fármacos e medicamentos, *Pharmaceutical Technology*, abril, 46–48, 1999.

MORRIS, L.E., MOORE, J.C., SCHWARTZ, J.B., Characterization and performance of a new direct compression excipient for chewable tablets: Xylitab, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22(10), 925 – 932, 1996.

MOSHARRAF, M., NYSTRÖM, C., The effect of particle size shape on the surface specific dissolution rate of micro-sized practically insoluble drugs, *International Journal of Pharmaceutics*, 122, 35 – 47, 1995.

MOSHARRAF, M., NYSTRÖM, C., The effect of dry mixing on the apparent solubility of hydrophobic, sparingly soluble drugs, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9, 145 – 156, 1999.

MURA, P., MANDEROLI, A., BRAMANTI, G., FURLANETTO, S., PINZAUTI, S., Utilization of differential scanning calorimetry as a screening technique to determine the compatibility of ketoprofen with excipients. *International Journal of Pharmaceutics*, 119, 71-79, 1995.

NDINDAYINO, F., HENRIST, D., KIEKENS, F., VERVAET, C., REMON, J.P. Characterization and evaluation of isomalt performance in direct compression. *International Journal of Pharmaceutics*, 189, 113-124, 1999.

NDINDAYINO, F., HENRIST, D., KIEKENS, F., VAN DER MOOTER, G., VERVAET, C., REMON, J.P, Direct compression properties of melt-extruded isomalt, *International journal of pharmaceutics*, 253, 149 – 157, 2002.

NDINDAYINO, F.,VERVAET, C., VAN DER MOOTER, G., REMON, J.P, Direct compression and moulding properties of co – extruded isomalt / drug mixtures, *International Journal of Pharmaceutics*, 235, 159 –168, 2002a.

NDINDAYINO, F.,VERVAET, C., VAN DER MOOTER, G., REMON, J.P, Bioavailability of hydrochlorothiazide from isomalt – based moulded tablets, *International Journal of Pharmaceutics*, 246, 199 –202, 2002b.

OKONOGI, S., OGUCHI, T., YONEMOCHI, E., PUTTIPIATKHACHORN, S., YAMAMOTO, K., Improved dissolution of ofloxacin via solid dispersion, *International Journal Pharmaceutics*, 156, 175 – 180, 1997.

PABÓN, C.V., FRUTOS, P., LASTRES, J. L., FRUTOS, G. Application of diferencial scanning calorimetry and X-ray powder diffraction to the solid-state study metoclopramide. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 15, 131-138 , 1996 .

PANCHAGNULA, R., THOMAS, N.S., Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug reserch, *International Journal of Pharmaceutics*, 201, 131 – 150, 2000.

PARFITT, K.(Ed.). *MARTINDALE: the complete drug reference*. 33 ed. London: Pharmaceutical Press, 2002, p. 389-390.

PASCUCCI, V., L. , BENNET, J., NARANG, P. K., CHATTERJI, D. C. Quantitation of Ketoconazole in biological fluids using high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12, 1467-1469, 1983.

PEDERSEN, P.V., GOBBURU, J.V.S, MEYERS, M.C., STRAUGHN, A.B., Carbamazepine level – A In vitro-in vivo correlation (IVIVC): A scaled convolution based predictive approach, *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 21, 1 – 6, 2000.

PRISTA,L.N., ALVES, A . C.,MORGADO, R. *Tecnologia Farmacêutica*. 5 ° edição, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1995, v. 1, p. 325 – 340.

QURESHI, A., SAEED, SHABNAM, JAVAD, Cause of high variability in drug dissolution testing and its impact on setting tolerances.*European Journal of Pharmaceutical Sciences*,12, 271-276, 2001.

QURESHI, S.A., McGILVERAY, I.J., Typical variability in drug dissolution testing: study with USP and FDA calibrator tablets and a marketed drug (glibenclamide) product, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 249 – 258, 1999.

RADEBAUGH, G.W., ANDO, H.Y. Preformulation. In: Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 700 – 720.

RUDNIC, E. M., SCHWARTZ, J.D. Oral solid dosage forms. In: Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 858 – 893.

SCHOTT, H., KWAN, L.C., FELDMAN, S. The role of surfactants in release of very slightly soluble drugs from tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(9), setembro, 1038 – 1045, 1982.

SHAH, V.P., NOORY, A., NOORY, C., McCULLOUGH, B., CLARKE, S., EVERETT, R., NAVIASKY, H., SRINIVASAN, B.N., FORTMAN, D., SKELLY, J.P., *In vitro* dissolution of sparingly water – soluble drug dosage forms, *International Journal of Pharmaceutics*, 125, 99 – 106, 1995.

SIEWERT, M., WEINANDY, L., WHITEMAN, D., JUDKINS, C., Typical variability and evaluation of sources of variability in drug dissolution testing, *European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53, 9 – 14, 2002.

SILVERSTEIN, R.M., BASSLER , G.C., MORRILL, T.C. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 5. Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1994, p. 85 – 119.

SINKO, P.J., LEESMAN G. D., AMIDON G. L. Predicting fraction dose absorbed in humans using a macroscopic mass balance approach. *Pharmaceutical Research*, 8, 979-988, 1991.

SKIBA, M., LAHIANI, M.S., MARCHAIS, H., DUCLOS, R., ARNAUD, P., Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations, *International Journal of Pharmaceutics*, 198, 1– 6, 2000.

SKOUG, J.W., HALSTEAD, G.W., THEIS, D.L., FREEMAN, J.E., FAGAM, D.T., ROHRS, B.R. Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de dissolução em formas farmacêuticas sólidas para uso oral. *Pharmaceutical Technology*, abril, 34-43, 1997.

SPIEGELEER , B.D., VOOREN, L.V. , VOORSPOELS, J., THONÉ, D., ROSIER, J., Dissolution stability and IVIVC investigation of buccal tablet, *Analytica Chimica Acta*, 446, 345 – 351, 2001.

STORPIRTIS, S., CONSIGLIERI, V.O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, 31(2), julho/dezembro, 63-70, 1995.

TAVARES, W., *Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos*, 2<sup>o</sup> edição, São Paulo: Editora Atheneu, 1996, p. 601–603 .

THE MERCK INDEX: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13 ed. New Jersey: MERCK & CO, 2001, p. 948-949.

UNIFESP, Fundação Oswaldo Ramos, Hospital do Rim e Hipertensão, Relatório de Bioequivalência de duas formulações de Cetoconazol 200 mg (relatório final), 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002a. Cap. 711. Dissolution.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002b. Cap. 1088. In vitro-in vivo evaluation of dosage forms.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002c. Buffer solutions, p. 2340 – 2341.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002d. Cap. 1216. Tablet friability.



UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002e. Cap. 701. Disintegration.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2002f. Ketoconazole tablets, p. 976 – 977.

UPPOOR, V.R.S., Regulatory perspectives on *in vitro* (dissolution)/ *in vivo* (bioavailability) correlations. *Journal of Controlled Release*, 72, 127 – 132, 2001.

VISERAS, C., SALEM, I.I., GALAN, I.C.R., GALAN, A., GALINDO, A.L., The effect of recrystallization on the crystal growth, melting point and solubility of ketoconazole, *Thermochimica acta*, 268, 143 – 151, 1995.

WADE, A., WELLER, P.J. ed. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 3. ed. London: The Pharmaceutical Press, 2000, p. 102-106, 143-145, 160-162, 274-285, 305-308, 313-314, 322-328, 515-518, 602-605.

WATTS, P. J. , ILLUM , L. Colon drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(9), 893-913, 1997.

YEN, S.Y., CHEN, C.R., LEE, M;T., CHEN, L.C., Investigation of dissolution enhancement of Nifedipine by deposition on superdisintegrants, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23 (3), 313 – 317, 1997.

YUEN, K.H., PEH, K.K., Simple high - performance liquid chromatographic method for determination of ketoconazole in human plasma, *Journal of chromatography B*, 715, 436 – 440, 1998.

ZERROUK, N., CHEMTOB, C., ARNAUD, P., TOSCANI, S., DUGUE, J., *In vitro* and *in vivo* evaluation of carbamazepine – PEG 6000 solid dispersions, *International Journal of Pharmaceutics*, 225, 49 – 62, 2001.