

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

**ESTUDO DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE EFAVIRENZ COMO FERRAMENTA  
PARA ANTECIPAÇÃO DE SUA BIODISPONIBILIDADE**

**Eduardo Costa Pinto**

Rio de Janeiro

2012

EDUARDO COSTA PINTO

**ESTUDO DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE EFAVIRENZ COMO FERRAMENTA  
PARA ANTECIPAÇÃO DE SUA BIODISPONIBILIDADE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Pereira de Sousa

Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral

RIO DE JANEIRO

2012

EDUARDO COSTA PINTO

**ESTUDO DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE EFAVIRENZ COMO FERRAMENTA  
PARA ANTECIPAÇÃO DE SUA BIODISPONIBILIDADE**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 26 de abril de 2012

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Pereira de Sousa – Orientadora

Departamento de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, RJ

---

Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral – Orientador

Departamento de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, RJ

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Marcelo de Pádula

Departamento de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, RJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia Elias Estrela Marins

Departamento de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal  
do Rio de Janeiro, RJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nádia Maria Volpato

Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS

Aos meus pais, Josefa e Júlio,  
e à minha avó, Maria Odila.



“A persistência é o caminho do êxito.”

*Charles Chaplin*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida, saúde e proteção.

Aos meus pais, Josefa e Júlio, minha avó Maria Odila, minha irmã Juliana, meu irmão João Pedro, meu padrasto Éder, minha madrastra Silvana, e toda minha família pelo carinho, incentivo, e torcida para esta realização.

A professora Valéria Pereira de Sousa pela credibilidade no meu trabalho, pelos ensinamentos, revisões e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao professor Lúcio Mendes Cabral por todas as oportunidades, confiança e orientação.

Aos funcionários de Farmanguinhos Helvécio Vinícius Antunes Rocha e Valéria Dantas Esteves pela colaboração e pelo suporte técnico para a realização deste trabalho.

A professora Flávia Almada do Carmo pela revisão voluntária deste trabalho e auxílio em diversas situações.

Aos amigos Alice Simon e Vinícius Borges pela convivência diária, companheirismo e ensinamentos.

Ao amigo Thiago Honório pela parceria no trabalho e extensas discussões sobre a dissolução do efavirenz.

A equipe do LabCQ/UFRJ: Ana, Eliane, Gisele, Luís, Maria, Mayre e Taylane, pelo convívio e colaborações ao longo do trabalho.

A equipe do LabTIF/UFRJ: Arídio, Carolina, Jaqueline, Letícia, Lilian, Luísa, Lula, Maíra e Túlio, pela amizade e auxílio em diversas situações.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

## RESUMO

PINTO, E.C. Estudo de dissolução intrínseca de efavirenz como ferramenta para antecipação de sua biodisponibilidade. Rio de Janeiro, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

Os estudos de dissolução intrínseca permitem a avaliação de propriedades do fármaco sem a interferência dos excipientes ou do seu processamento para conversão em medicamento. O efavirenz é um fármaco antirretroviral, classe II de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), e cuja baixa solubilidade em água limita a dissolução de suas formas farmacêuticas. Neste trabalho, foram analisadas as propriedades físico-químicas de diferentes lotes do fármaco efavirenz e foi verificado o impacto destas características na dissolução de comprimidos, dissolução por dispersão e dissolução intrínseca. Na caracterização dos lotes de efavirenz, foi confirmada a presença apenas do polimorfo I em todos os lotes avaliados. A análise de distribuição de tamanho de partícula demonstrou variabilidade nos tamanhos médios entre os lotes na faixa de 2,037 a 5,779  $\mu\text{m}$ . Os lotes A e D apresentaram os menores valores de tamanho médio de partícula, na ordem de 2,5  $\mu\text{m}$ , enquanto que os lotes B e E apresentaram os maiores tamanhos médios de partícula, na ordem de 5,2  $\mu\text{m}$ . Diferenças entre estes lotes também foram observadas nos valores de área superficial e na microscopia eletrônica por varredura (MEV). A metodologia da Farmacopeia Americana (FA) não foi capaz de discriminar entre comprimidos produzidos com os lotes A e B do fármaco, que possuem diferentes resultados de biodisponibilidade, enquanto que as metodologias da Farmacopeia Brasileira (FB) e a metodologia de Farmanguinhos (Far) foram discriminativas, com destaque para a metodologia de Far. A dissolução por dispersão proporcionou diferenças estatísticas no percentual de fármaco dissolvido

por dispersão entre os lotes A e B nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% de LSS. No desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca foi verificado que a força de compressão não exerceu efeito na velocidade de dissolução intrínseca (VDI) e a velocidade de rotação ideal foi de 100 rpm. A VDI foi menor no suco gástrico comparativamente aos meios água, tampão acetato e suco entérico. A dissolução intrínseca foi capaz de demonstrar diferenças entre os lotes A e B nas concentrações de LSS 0,5% e 1,0% a 100 rpm. Este trabalho, portanto, desenvolveu metodologia de dissolução intrínseca, baseado nas características físico-químicas do fármaco, e avaliou a condição mais discriminativa entre os lotes na dissolução de comprimidos, dissolução por dispersão, e dissolução intrínseca. As três metodologias discriminativas indicadas podem ser utilizadas na pré-formulação de efavirenz, no sentido de obter formas farmacêuticas com biodisponibilidade adequadas, assim como no controle de qualidade deste fármaco.

Palavras-chave: EFAVIRENZ, DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA, BIODISPONIBILIDADE, DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA.

## ABSTRACT

PINTO, E.C. Intrinsic dissolution studies of efavirenz as a tool for forecasting drug bioavailability. Rio de Janeiro, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

Intrinsic dissolution studies can be used to evaluate raw materials properties without excipients or drug production. Efavirenz is an antiretroviral and a class II drug according to the Biopharmaceutics Classification System, therefore its low water solubility limits its dosage forms dissolution. In this study, physical-chemical properties of efavirenz from different suppliers and lots were analyzed and the impact of these characteristics on tablets dissolution, powder dissolution and intrinsic dissolution were studied. Among the twelve lots evaluated, lot A and B are lots which its tablets dosage form prepared with this raw materials were submitted to bioavailability testing and only lot A was approved. The presence of only the polymorph I, in all the lots evaluated, were confirmed by solid-state characterization of efavirenz. Particle size distribution revealed variability of lots mean particle size in the range of 2,037  $\mu\text{m}$  to 5,779  $\mu\text{m}$ . Lot A and D demonstrated mean particle size about 2,5  $\mu\text{m}$ , whereas lots B and E, shown mean particle size about 5,2  $\mu\text{m}$ . The differences observed in the specific superficial area value and scanning electron microscopy corresponded to the particle size of lots. The United States Pharmacopoeia dissolution method for efavirenz tables were not able to discriminate between lots A and B, although Brazilian Pharmacopoeia method and Farmanguinhos method were discriminate, mainly the Farmanguinhos method. Lot A and B provided statistically differences in powder dissolution using the media containing sodium lauril sulfate as a surfactant in the concentration of 0,5%, 1,0% and 2,0% and 50 rpm. Thus, this study has developed an intrinsic dissolution method

based on physical-chemical properties of the efavirenz, and evaluated the most discriminating condition in tablet dosage form dissolution, powder dissolution and intrinsic dissolution. The three methods indicated can be used in efavirenz preformulation studies in order to attain dosage forms with appropriate bioavailability, as well as a quality control tool.

Keywords: EFAVIRENZ, INTRINSIC DISSOLUTION, BIOAVAILABILITY, PARTICLE SIZE DISTRIBUTION.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
CIVIV	Correlação <i>in vitro/in vivo</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
FA	Farmacopeia Americana
Far	Farmanguinhos
FB	Farmacopeia Brasileira
FDA	Food and Drug Administration
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IV-TF	Infravermelho por transformada de Fourier
LSS	Lauril sulfato de sódio
MEV	Microscopia eletrônica por varredura
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SQR	Substância química de referência
TGA	Análise termogravimétrica
UV-VIS	Ultravioleta-visível
VDI	Velocidade de dissolução intrínseca
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Representação do modelo de difusão em camada	25
Figura 2. Aparato rotatório de dissolução intrínseca	29
Figura 3. Aparato estacionário de dissolução intrínseca	29
Figura 4. Estrutura química do efavirenz	37
Figura 5. Ionização e estabilização de cargas na molécula do efavirenz	39
Figura 6. Aparato rotatório de dissolução intrínseca	57
Figura 7. Aparato rotatório de dissolução intrínseca	57
Figura 8. Espectro de infravermelho dos lotes do efavirenz	63
Figura 9. Espectro de infravermelho do padrão do efavirenz	63
Figura 10. Difratoograma dos lotes de efavirenz	65
Figura 11. Difratoograma do Polimorfo 1 do efavirenz	65
Figura 12. Gráfico de calorimetria exploratória diferencial dos lotes do efavirenz	66
Figura 13. Gráfico de análise termogravimétrica dos lotes do efavirenz	67
Figura 14. Análise de tamanho de partícula dos lotes A a F	68
Figura 15. Análise de tamanho de partícula dos lotes G a L	69
Figura 16. Microscopia Eletrônica por Varredura dos lotes A, B, C e D	72



Figura 17. Microscopia Eletrônica por Varredura do lotes E, F, G e H	73
Figura 18. Microscopia Eletrônica por Varredura dos lotes I, J, K e L	74
Figura 20. Curvas-padrão para a quantificação de efavirenz	77
Figura 21. Espectro UV-Vis de Efavirenz e Impureza 1	79
Figura 22. Espectro UV-Vis em diferentes tempos do pico de efavirenz	79
Figura 23. Espectro em fotodiodos para pesquisa por substâncias relacionadas no teste de solubilidade	80
Figura 24. Solubilidade de efavirenz em diferentes meios	81
Figura 25. Solubilidade comparativa entre lotes do efavirenz nos meios suco gástrico, água e suco entérico	83
Figura 26. Perfil de dissolução de comprimidos produzidos com o lote A	85
Figura 27. Perfil de dissolução de comprimidos produzidos com o lote B	85
Figura 28. Comparativo entre os lotes A e B nas metodologias da Farmacopeia Americana, Farmacopeia Brasileira e Farmanguinhos	86
Figura 29. Perfil de dissolução por dispersão dos lotes de efavirenz	91
Figura 30. Perfil de dissolução por dispersão comparativo entre lotes de efavirenz com LSS 0,5%, 1,0% e 2,0%	98
Figura 31. Perfil de dissolução por dispersão dos lotes A, B, C e D em função da concentração do tensoativo	100

Figura 32. Perfil de dissolução por dispersão do lote D em diferentes meios	101
Figura 33. Avaliação do aspecto das pastilhas com efavirenz	105
Figura 34. Gráfico de DRX de efavirenz submetido a diferentes forças de compressão durante 1 minuto	108
Figura 35. Gráfico de DRX de efavirenz submetido a diferentes forças de compressão durante 30 segundos	109
Figura 36. Perfil de Dissolução Intrínseca do efavirenz nas forças de compressão de 100 a 1200 psi	111
Figura 37. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre forças de compressão	112
Figura 38. Perfil de dissolução intrínseca do efavirenz nas velocidades de rotação de 100 rpm com pressão de 200 psi, 600 psi e 1000 psi, 150 rpm com pressão de 200 psi, 600 psi e 1000 psi, e 200 rpm com pressão de 200 psi, 600 psi e 1000 psi	115
Figura 39. Perfil de dissolução intrínseca de efavirenz em diferentes velocidades de rotação	116
Figura 40. Perfil de dissolução intrínseca de efavirenz nos meios suco gástrico simulado pH 1,2, água e suco entérico simulado pH 6,8 nas concentrações do tensoativo LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0%	119
Figura 42. Resíduo da dissolução intrínseca do Lote D	124
Figura 43. Espectro em fotodiodos na pesquisa por substâncias relacionadas no perfil de dissolução intrínseca	125

Figura 44. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 0,5%	128
Figura 45. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 1,0%	129
Figura 46. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 2,0%	130
Figura 47. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre os lotes A e B a 100 RPM nas concentrações de LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0%	133
Figura 48. Resíduo da dissolução intrínseca dos lotes de efavirenz	135
Figura 49. Comparativo entre metodologias de dissolução com os lotes A e B	137

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Classificação Biofarmacêutica proposta por Amidon e colaboradores (1995)	26
Tabela 2. Comparativo entre Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Velocidade de Dissolução Intrínseca	36
Tabela 3. Propriedades físico-químicas do efavirenz	37
Tabela 4. Solubilidade do efavirenz descrita na literatura	39
Tabela 5. Condições cromatográficas do teste de teor do efavirenz de acordo com a farmacopeia americana	52
Tabela 6. Condições cromatográficas do teste de substâncias relacionadas do efavirenz de acordo com a farmacopeia americana	53
Tabela 7. Condições cromatográficas do teste de teor do efavirenz de acordo com o fórum da farmacopeia americana	54
Tabela 8. Parâmetros da dissolução de comprimidos de efavirenz	55
Tabela 10. Faixa de fusão dos lotes do efavirenz	62
Tabela 11. Distribuição granulométrica das partículas dos lotes do IFA efavirenz	70
Tabela 12. Área superficial dos lotes do IFA efavirenz	71
Tabela 13. Umidade por Karl Fisher do lotes do efavirenz	75
Tabela 14. Teor dos lotes do IFA Efavirenz	76

Tabela 15. Comparativo da concentração do efavirenz no teste de solubilidade	78
Tabela 16. pH do efavirenz em diferentes meios	82
Tabela 18. Fatores de Diferença (F1) e Semelhança (F2) no teste de dissolução de comprimidos do efavirenz	87
Tabela 19. Análise de Variância dos comprimidos produzidos com os lotes A e B	87
Tabela 20. Percentual dissolvido por dispersão dos lotes de efavirenz	91
Tabela 21. Análise estatística entre os lotes de efavirenz no teste de dissolução por dispersão	92
Tabela 22. Comparativo entre percentual de fármaco dissolvido por dispersão com características físico-químicas dos lotes de efavirenz	93
Tabela 23. Classificação dos lotes do fármaco efavirenz de acordo com o percentual dissolvido por dispersão	96
Tabela 24. Análise de variância entre os lotes do efavirenz avaliados na dissolução por dispersão	99
Tabela 25. Fatores de diferença (F1) e semelhança (F2) entre os lotes do efavirenz avaliados na dissolução por dispersão	99
Tabela 26. Percentual dissolvido por dispersão do Lote D em diferentes meios	102
Tabela 27. Dureza média das pastilhas de acordo com força de compressão	106

Tabela 28. Velocidade de dissolução intrínseca nas forças de compressão de 100 a 1200 psi.	112
Tabela 29. Velocidade de dissolução intrínseca nas velocidades de rotação de 50 a 200 rpm.	117
Tabela 30. Massa liberada do lote D nos meios suco gástrico e tampão acetato nas concentrações de LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0%.	120
Tabela 31. Massa liberada do lote D nos meios água e suco entérico nas concentrações de LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0%.	120
Tabela 32. Análise de variância entre meios de dissolução intrínseca de efavirenz.	122
Tabela 33. Velocidade de dissolução intrínseca em diferentes meios de dissolução.	122
Tabela 34. Percentual liberado dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 0,5% 100 rpm.	128
Tabela 35. Percentual liberado dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 1,0% 100 rpm.	129
Tabela 36. Percentual liberado dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 2,0% 100 rpm.	130
Tabela 37. Análise de variância dos lotes de efavirenz.	131
Tabela 38. Comparativo entre lotes das velocidades de dissolução intrínseca ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ).	132
Tabela 39. Classificação dos lotes do fármaco efavirenz de acordo com o perfil de dissolução intrínseca e valores de VDI.	134

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	22
<b>1.1. Dissolução</b>	23
1.1.1. Estudos de Dissolução	24
1.1.2. Teoria da Dissolução	26
1.1.3. Sistema de Classificação Biofarmacêutica	26
1.1.4. Desenvolvimento de Método de Dissolução	26
<b>1.2. Dissolução Intrínseca</b>	28
1.2.1. Conceito e Aparatos de Dissolução Intrínseca	28
1.2.2. Caracterização do Estado Sólido	29
1.2.3. Pré-formulação	31
1.2.4. Avaliação da Qualidade de Matérias-Primas	33
1.2.5. Classificação Biofarmacêutica de Fármacos	35
1.2.6. Novas Perspectivas para os Estudos de Dissolução Intrínseca	36
<b>1.3. Efavirenz</b>	37
1.3.1. Farmacodinâmica e Farmacocinética	37
1.3.2. Solubilidade	38
1.3.3. Dissolução de Formas Farmacêuticas	40
1.3.4. Metodologias de Análise	42
<b>1.4. Justificativa</b>	42
<b>2. OBJETIVOS</b>	44
2.1. Objetivos Gerais	45
2.2. Objetivos Específicos	45
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	46
<b>3.1. Material</b>	46
3.1.1. Equipamentos e Acessórios	47
3.1.2. Reagentes	48
3.1.3. Padrões Analíticos, Matérias-Primas e Produtos Farmacêuticos	49
<b>3.2. Métodos</b>	49
<b>3.2.1. Caracterização das Matérias-Primas</b>	49

3.2.1.1. Faixa de Fusão	49
3.2.1.2. Infravermelho por transformada de Fourier	50
3.2.1.3. Difração de Raios-X	50
3.2.1.4. Análise Calorimétrica de Varredura Diferencial	50
3.2.1.5. Análise Termogravimétrica	51
3.2.1.6. Análise de Tamanho de Partícula	51
3.2.1.7. Avaliação da Área Superficial	51
3.2.1.8. Microscopia Eletrônica por Varredura	51
3.2.1.9. Teste de Karl Fisher	52
3.2.1.10. Doseamento	52
3.2.1.11. Substâncias Relacionadas	52
<b>3.2.2. Solubilidade</b>	<b>53</b>
3.2.2.1. Metodologia de Quantificação de Efavirenz	53
3.2.2.2. Determinação da Solubilidade	54
<b>3.2.3. Dissolução de Comprimidos</b>	<b>54</b>
<b>3.2.4. Dissolução por Dispersão</b>	<b>55</b>
<b>3.2.5. Desenvolvimento de Metodologia de Dissolução Intrínseca</b>	<b>56</b>
3.2.5.1. Metodologia de Quantificação de Efavirenz	56
3.2.5.2. Aparato Rotatório de Dissolução Intrínseca	56
3.2.5.3. Preparo da Pastilha	58
3.2.5.4. Parâmetros do Teste de Dissolução Intrínseca	58
3.2.5.5. Avaliação da Velocidade de Dissolução Intrínseca	59
3.2.5.6. Análise do Resíduo de Dissolução Intrínseca	59
3.2.5.7. Pesquisa por Substâncias Relacionadas	59
<b>3.2.6. Perfil de Dissolução Intrínseca de Lotes de Efavirenz</b>	<b>60</b>
<b>3.2.7. Análises Estatísticas</b>	<b>60</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>61</b>
4.1. Caracterização das Matérias-Primas	62



4.1.1.	Faixa de Fusão	62
4.1.2.	Infravermelho por Transformado de Fourier	62
4.1.3.	Difração de Raios-X	64
4.1.4.	Análise Calorimétrica de Varredura Diferencial	66
4.1.5.	Análise Termogravimétrica	67
4.1.6.	Análise de Tamanho de Partícula	67
4.1.7.	Avaliação da Área Superficial	70
4.1.8.	Microscopia Eletrônica por Varredura	71
4.1.9.	Teste de Karl Fisher	75
4.1.10.	Doseamento	76
<b>4.2.</b>	<b>Solubilidade</b>	<b>76</b>
4.2.1.	Metodologia de Quantificação	76
4.2.2.	Determinação da Solubilidade	81
<b>4.3.</b>	<b>Dissolução de Comprimidos</b>	<b>84</b>
<b>4.4.</b>	<b>Dissolução por Dispersão</b>	<b>90</b>
4.4.1.	Comparativo entre lotes	90
4.4.2.	Avaliação do uso do tensoativo	97
4.4.3.	Avaliação do meio de dissolução	101
<b>4.5.</b>	<b>Desenvolvimento de Metodologia de Dissolução Intrínseca</b>	<b>103</b>
4.5.1.	Metodologia de Quantificação de Efavirenz	103
4.5.2.	Parâmetros do Teste de Dissolução Intrínseca	103
4.5.3.	Preparo da Pastilha	103
4.5.4.	Avaliação do Aspecto	104
4.5.5.	Avaliação da Dureza	104
4.5.6.	Difração por Raios-X	106
4.5.7.	Força de Compressão	110
4.5.8.	Método de Preparado de Pastilhas Selecionado	113
4.5.9.	Parâmetros do Teste de Dissolução Intrínseca	113
4.5.10.	Velocidade de Rotação	114
4.5.11.	Meio de Dissolução	118

4.5.12.	Análise do Resíduo de Dissolução Intrínseca	124
4.5.13.	Pesquisa por Substâncias Relacionadas	124
<b>4.6.</b>	<b>Perfil de Dissolução Intrínseca de Lotes de Efavirenz</b>	<b>126</b>
4.6.1.	Lotes do Fármaco Efavirenz	126
4.6.2.	Classificação dos Lotes em Grupo 1 e 2	133
4.6.3.	Análise do Resíduo de Dissolução	135
<b>4.7.</b>	<b>Avaliação Comparativa entre Metodologias de Dissolução</b>	<b>136</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>139</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>143</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. DISSOLUÇÃO

#### 1.1.1. Estudos de Dissolução

O teste de dissolução possui importância significativa no ramo das ciências farmacêuticas, com aplicação na rotina de controle de qualidade de fármacos e medicamentos, e na pesquisa e desenvolvimento de formas farmacêuticas (ZHANG & YU, 2004; DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006; AZARMI *et al.*, 2007). No controle de qualidade, o objetivo principal do teste de dissolução é avaliar a produção farmacêutica, ou seja, analisar a consistência da produção de forma a verificar possíveis desvios da qualidade, e aprovar ou reprovar lotes de acordo com as especificações estabelecidas (ZHANG & YU, 2004; DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006; AZARMI *et al.*, 2007; GRAY *et al.*, 2009).

A dissolução é uma ferramenta poderosa na pesquisa e desenvolvimento, uma vez que a velocidade de dissolução pode ser alterada pela presença e concentração de excipientes e, ainda, por variáveis do processo de produção, como o processo de granulação, a força utilizada na compressão de comprimidos, e a composição da formulação (DRESSMAN *et al.*, 1998; ZHANG & YU, 2004; GRAY *et al.*, 2009). O impacto das propriedades físico-químicas do fármaco, como polimorfismo, cristalinidade e hidratação também podem ser avaliados através dos estudos de dissolução (ZHANG *et al.*, 2004; GRAY *et al.*, 2009). Além disso, os ensaios de dissolução orientam a seleção da formulação adequada entre diversas formulações para o mesmo fármaco e, também, permitem a avaliação da estabilidade acelerada e de longa duração (ZHANG & YU, 2004; BRASIL, 2005; GRAY *et al.*, 2009).

Os estudos de dissolução apresentam caráter regulatório e perfis de dissolução comparativos são essenciais para a avaliação de equivalência farmacêutica (ZHANG & YU, 2004; GRAY *et al.*, 2009; BRASIL, 2010). Os testes de dissolução têm sido utilizados para o estabelecimento de correlação *in vitro/in vivo* (CIVIV) entre a dissolução do fármaco da forma farmacêutica e a absorção sistêmica, com objetivo de prever a biodisponibilidade de medicamentos e assessorar os estudos de bioequivalência (DRESSMAN *et al.*, 1998; ZHANG & YU,

2004; DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006; GRAY *et al.*, 2009). Nesse sentido, a dissolução pode ser utilizada na avaliação de algumas modificações pós-registro de medicamentos, na análise de *scale up* de produção, e em pedidos de isenção do teste de bioequivalência para formas farmacêuticas sólidas orais de alta solubilidade e permeabilidade (LÖBENBERG & AMIDON, 2000).

### 1.1.2. Teoria da Dissolução

Em 1897, os pesquisadores Noyes e Whitney descreveram que a velocidade de dissolução é proporcional a diferença de concentração num determinado tempo e a solubilidade máxima no meio de dissolução em análise (NOYES & WHITNEY, 1897 *apud* DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006), como pode ser observado na Equação 1:

$$\frac{dC}{dt} = K (C_s - C_t) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde,

$dC/dt$  = gradiente de dissolução do fármaco em função do tempo (velocidade de dissolução);

$K$  = constante de dissolução;

$C_s$  = concentração de saturação do fármaco na solução (solubilidade máxima);

$C_t$  = concentração do fármaco em solução no tempo  $t$ ;

$C_s - C_t$  = gradiente de concentração.

Os autores atribuíram ao fenômeno da dissolução a formação de uma camada fina de difusão ao redor da partícula sólida em contato com o meio de dissolução, através da qual as moléculas do fármaco se difundem e são dissolvidas (NOYES & WHITNEY *apud* DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006). A Figura 1 é uma representação esquemática desse modelo proposto de difusão em camada, através do qual há inicialmente uma reação interfacial e liberação de moléculas do soluto para o solvente, formando a camada de difusão, e, posteriormente então ocorre a difusão do soluto dissolvido para o volume total do líquido (MANADAS *et al.*, 2002; AULTON, 2005; DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006)

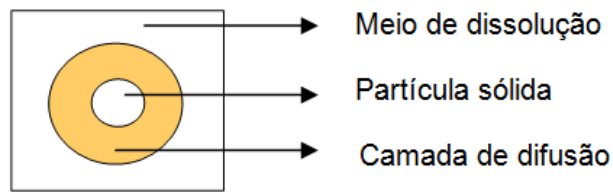


Figura 1. Representação do modelo de difusão em camada.

Posteriormente, a equação de Noyes e Whitney foi modificada pelos pesquisadores Nerst e Brunner, que consideraram os parâmetros: coeficiente de difusão ( $D$ ), área superficial ( $S$ ), espessura da camada de difusão ( $h$ ) e volume do meio de dissolução ( $V$ ), como pode ser observado na Equação 2:

$$\frac{dC}{dt} = K \times \frac{D \times S}{V \times h} \times (C_s - C_t) \quad (\text{Equação 2})$$

Esta teoria da dissolução é a mais aceita, pois demonstra os principais parâmetros que influenciam no teste de dissolução (MANADAS *et al.*, 2002). A velocidade de dissolução de formas farmacêuticas pode ser afetada por fatores relacionados às propriedades físico-químicas do fármaco ou à própria forma farmacêutica (GRAY *et al.*, 2009; USP 33, 2010). Em relação ao fármaco, a solubilidade é o fator determinante (VON ORELLI & LEUENBERGER, 2004; AULTON, 2005), além do tamanho de partícula, área superficial, estado cristalino e hidratação (AULTON, 2005; POUTON, 2006; ALSENZ & KANSY, 2007; USP 33, 2010).

No caso de formas farmacêuticas sólidas, notoriamente em comprimidos, fatores relacionados à formulação incluem a quantidade utilizada de diluentes, desintegrantes e lubrificantes, assim como as etapas de produção, como o processo de granulação e a força de compressão (DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006; ANSARI & STEPANEK, 2008). A velocidade de dissolução também é influenciada por fatores hidrodinâmicos do teste como, o aparato, a velocidade de rotação e fluxo do fluido, assim como pelas condições em que o teste é realizado, como o meio de dissolução, temperatura, viscosidade do fluido, pH e força iônica, no caso de substâncias ionizáveis, osmolaridade do tampão e presença de surfactantes (DOKOUMETZIDIS & MACHERAS, 2006; USP 33, 2010).

### 1.1.3. Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)

A Classificação Biofarmacêutica de Fármacos proposta por Amidon e colaboradores (1995) divide os fármacos em quatro classes de acordo com valores de solubilidade e permeabilidade (Tabela 1), e fornece as bases teóricas para a correlação dos testes de dissolução *in vitro* com a biodisponibilidade *in vivo*.

Tabela 1. Classificação Biofarmacêutica proposta por Amidon e colaboradores (1995).

Classe	Solubilidade	Permeabilidade
I	Alta	Alta
II	Baixa	Alta
III	Alta	Baixa
IV	Baixa	Baixa

Os fármacos classe II, por exemplo, podem apresentar CIVIV se a velocidade de dissolução *in vitro* for similar à velocidade de dissolução *in vivo*, uma vez que a dissolução do fármaco é a etapa limitante para a absorção (AMIDON *et al.*, 1995). O grande desafio destes testes de dissolução *in vitro* é a biorrelevância, ou seja, o desenvolvimento de métodos de dissolução que correspondam ao desempenho *in vivo* do medicamento (AMIDON *et al.*, 1995; DRESSMAN *et al.*, 1998; GALIA *et al.*, 1998; GRAY *et al.*, 2009).

Nesse sentido, é importante selecionar características *in vitro* que possam refletir a performance *in vivo*, como a presença de surfactantes, pH, capacidade tamponante do meio, força iônica e volume adequado do meio (GALIA *et al.*, 1998). Caso o teste não seja realizado sob as condições apropriadas, a previsão do comportamento *in vivo* para o fármaco ou forma farmacêutica será errônea e, com isso, estudos clínicos adicionais podem ser necessários para avaliar a biodisponibilidade e acarretar num processo de desenvolvimento mais custoso (DRESSMAN *et al.*, 1998).

### 1.1.4. Desenvolvimento de Método de Dissolução

O objetivo de um teste de dissolução varia durante o ciclo de vida de uma forma farmacêutica (BROWN *et al.*, 2004). Durante as fases iniciais, o objetivo é

estabelecer mecanismos de liberação do fármaco em formulações e sua solubilização; posteriormente, o objetivo é realizar a identificação de um método biorrelevante e capaz de estabelecer a CIVIV; a partir do momento do registro, busca-se um teste de controle de qualidade capaz de avaliar a consistência do processo de produção e do produto (BROWN *et al.*, 2004).

O desenvolvimento de uma metodologia de dissolução biorrelevante, capaz de mimetizar o trato gastrointestinal e discriminativa entre os fatores relacionados as propriedades físico-químicas do fármaco e dos excipientes, pode auxiliar no desenvolvimento de formulações e no estabelecimento de CIVIV (ROHRS, 2001; BROWN *et al.*, 2004; SINGLA *et al.*, 2009). Nesse sentido, o conhecimento de propriedades físico-químicas relevantes de um insumo farmacêutico ativo (IFA), e da forma farmacêutica do fármaco em questão, orienta o desenvolvimento de um teste de dissolução adequado (BROWN *et al.*, 2004).

No sentido de verificar o impacto das propriedades físico-químicas de um fármaco na dissolução, a caracterização de seu estado sólido é fundamental (AZARMI *et al.*, 2007). Dentre as metodologias oficiais preconizadas para avaliação de sólidos na forma de pós, e, com isso, analisar o impacto das propriedades do fármaco na dissolução, destaca-se a dissolução intrínseca (AZARMI *et al.*, 2007; USP 34, 2011). A avaliação da dissolução intrínseca pode auxiliar no desenvolvimento de formas farmacêuticas e na determinação de condições biorrelevantes de dissolução (AYRES *et al.*, 2007).

Outra técnica que pode ser utilizada na avaliação de pós, porém não descrita oficialmente pelas farmacopeias, é a técnica da dissolução por dispersão, que consiste na inserção de determinada quantidade do fármaco diretamente na cuba do dissolutor e, através do uso do Aparato 2, é avaliada a quantidade de fármaco dissolvida ao longo do tempo (KOBAYASHI *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2004; AZARMI *et al.*, 2007). Estudos relatam com sucesso o uso de ambas as técnicas na caracterização de matérias-primas e avaliação de formulações farmacêuticas (ITO *et al.*, 1997; KOBAYASHI *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2004; KIM *et al.*, 2008).



## 1.2. DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

### 1.2.1. Conceito e Aparatos de Dissolução Intrínseca

Os estudos de dissolução intrínseca, ao contrário dos estudos de dissolução tradicionais, permitem a avaliação de propriedades de determinado fármaco em diferentes condições sem a interferência dos excipientes ou do seu processamento para conversão em medicamento (USP 34, 2011). A Farmacopeia Americana descreve dois aparatos para avaliação da velocidade de dissolução intrínseca, o disco rotatório (Figura 2) e disco estacionário (Figura 3). Em ambos os métodos, uma pastilha compacta do material a ser analisado é exposta, através de uma área superficial constante, ao meio de dissolução, no qual as condições como temperatura, velocidade de agitação, pH e força iônica também são mantidas constantes ao longo do experimento (USP 34, 2011).

O aparato tradicionalmente utilizado no teste de dissolução intrínseca é o disco rotatório proposto por Wood e colaboradores (1965), no qual a pastilha compacta com o fármaco a ser analisado permanece fixa a uma haste imersa no meio de dissolução, como pode ser observado na Figura 2 (USP 34, 2011). No aparato estacionário de dissolução intrínseca, por sua vez, o disco com a pastilha compacta do fármaco é colocado ao fundo da cuba de dissolução e a rotação do teste é realizada através do Aparato 2 (Pá), como pode ser observado na Figura 3 (USP 34, 2011).

Os estudos de dissolução intrínseca possuem diversas aplicações, com destaque na caracterização de fármacos e excipientes, e podem ser realizados durante o desenvolvimento de novas moléculas, assim como no desenvolvimento de novas formulações (AYRES *et al.*, 2007; USP 34, 2011). Além disso, a avaliação da velocidade de dissolução intrínseca (VDI) pode, por exemplo, revelar diferenças em relação a polimorfismo e estado cristalino do fármaco (BARTOLOMEI *et al.*, 2006; TSUTSUMI *et al.*, 2011; GILCHRIST *et al.*, 2012), indicar variabilidade entre matérias-primas de diferentes fornecedores (AGRAWAL *et al.*, 2004; CARINI *et al.*, 2009; SEHIC *et al.*, 2010) e ser utilizada na classificação biofarmacêutica de fármacos (Yu *et al.*, 2004; ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009; ISSA & FERRAZ, 2011).

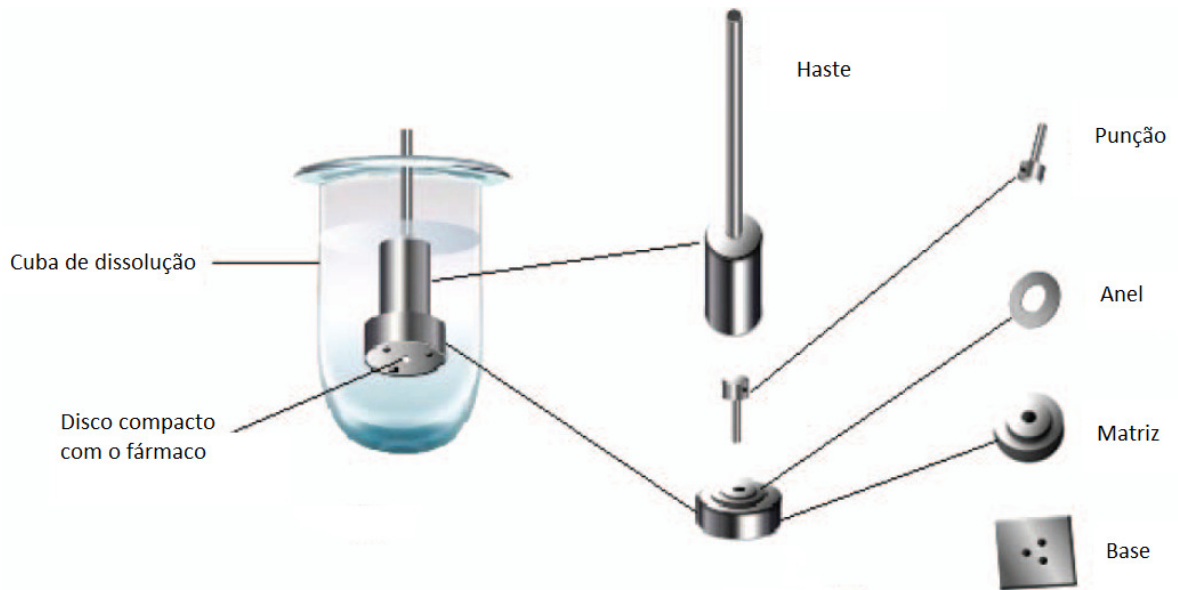


Figura 2. Aparato Rotatório de Dissolução Intrínseca  
(Adaptado de ISSA & FERRAZ, 2011).

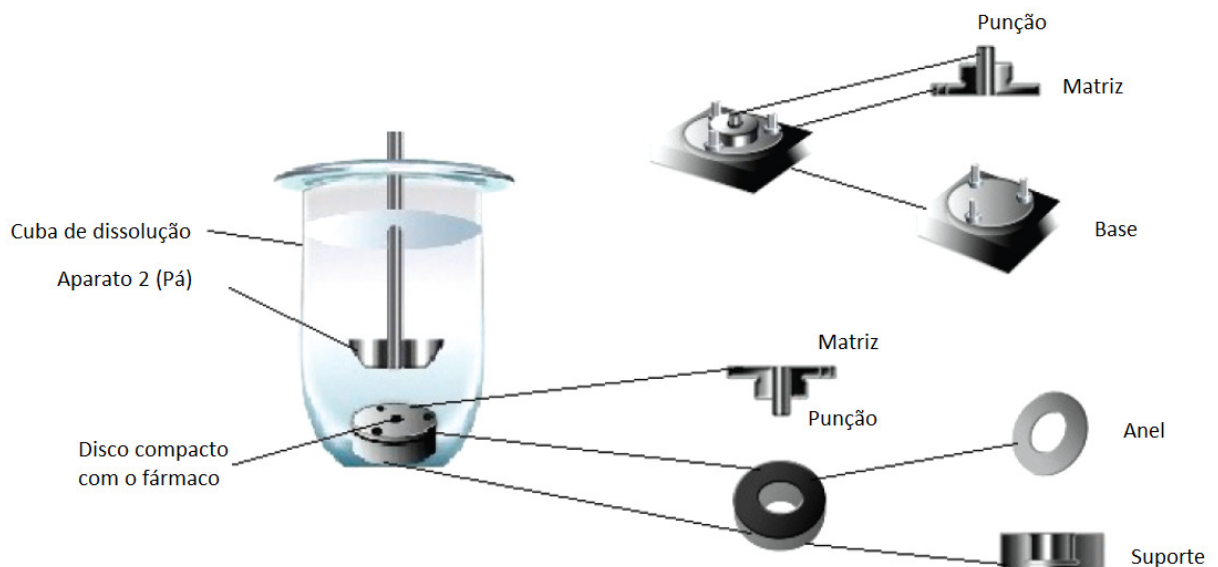


Figura 3. Aparato Estacionário de Dissolução Intrínseca  
(Adaptado de ISSA & FERRAZ, 2011).

### 1.2.2. Caracterização do estado sólido

Estudos de dissolução intrínseca são estudos de caracterização e a velocidade de dissolução intrínseca é influenciada por propriedades do estado sólido como habito cristalino e polimorfismo (USP 34, 2011). O grau de hidratação e os

diferentes sais, cristais e cocristsais de um fármaco também podem alterar a VDI (USP 34, 2011). Diversos estudos de dissolução intrínseca descritos na literatura relatam trabalhos de caracterização, que utilizaram a técnica da dissolução intrínseca (PARK *et al.*, 2010; SHETE *et al.*, 2010; TSUTSUMI *et al.*, 2011; GILCHRIST *et al.*, 2012).

Dentre estes estudos, diferentes amostras comerciais de atorvastatina, tanto formas cristalinas quanto amorfas, foram analisadas em relação ao tamanho de partícula, difração de raios-X e análise térmica, assim como o perfil de dissolução intrínseca das amostras (SHETE *et al.*, 2010). A VDI foi semelhante entre as amostras cristalinas ( $0,1120 - 0,1240 \text{ mg/min/cm}^2$ ), e os valores de VDI para as amostras amorfas ( $0,1830 - 0,2520 \text{ mg/min/cm}^2$ ) foi praticamente o dobro das amostras cristalinas (SHETE *et al.*, 2010). Este estudo enfatiza a importancia da caracterização física de fármacos e medicamentos, e demonstra o impacto das diferenças no estado sólido, notoriamente cristalinidade e amorfismo, na VDI (SHETE *et al.*, 2010).

Outro exemplo que demonstra a capacidade dos ensaios de dissolução intrínseca em avaliarem diferentes polimorfos foi observado no caso do antibiótico não esteroide ácido fusídico (GILCHRIST *et al.*, 2012). Este fármaco apresenta polimorfismo e seus polimorfos I, II, III e IV foram caracterizados em relação às propriedades do estado sólido. A VDI foi avaliada para cada isoforma, assim como para o material amorfo, e foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre o material amorfo ( $0,1250 \text{ mg/min/cm}^2$ ) e a isoforma IV ( $0,0920 \text{ mg/min/cm}^2$ ) em relação as demais isoformas ( $0,0430 - 0,0530 \text{ mg/min/cm}^2$ ), o que demonstra o impacto do polimorfismo na solubilidade e dissolução intrínseca, cujos polimorfos mais estáveis apresentam menores valores de VDI (GILCHRIST *et al.*, 2012).

A dissolução intrínseca também pode ser utilizada na avaliação de sais e cocristsais, como, por exemplo, os sais e cocristsais do antifúngico miconazol (TSUTSUMI *et al.*, 2011). O sais, maleato e nitrato, e os cocristsais, hemifumarato e hemisuccinato foram comparados em relação à base livre, e, além das diferenças encontradas na difração de raios-X e nas propriedades térmicas, foram obtidas diferenças na VDI. Através dos ensaios de dissolução intrínseca, foi possível observar que tanto os sais quanto os cocristsais de miconazol aumentaram o percentual de fármaco dissolvido em relação a base livre, o que é de vital

importancia para este fármaco, uma vez que a solubilidade da base livre é menor que 1 µg/mL (TSUTSUMI *et al.*, 2011). Outro antifúngico, o fluconazol, também foi avaliado em relação a dissolução intrínseca e foi possível demonstrar diferenças percentuais de fármaco dissolvido entre o monohidrato e as formas anidras I e II (PARK *et al.*, 2010). A forma anidra II apresentou maior VDI (0,88 mg/min/cm<sup>2</sup>) em relação a forma anidra I (0,56 mg/min/cm<sup>2</sup>) e a monohidratada (0,47 mg/min/cm<sup>2</sup>). O resultado confirmou a forma anidra II como o polimorfo menos estável e com tendência a dissolver mais rápido que as demais formas do fluconazol (PARK *et al.*, 2010).

O estudo da VDI como meio de comparação entre a forma hidratada e a forma anidra de fármaco foi realizado por Bartolomei e colaboradores (2006). Neste estudo, a forma hidratada e a forma anidra do antiinflamatório não-esteroidal diclofenaco sódico foram avaliados, e a forma anidra apresentou maior VDI e, ainda, demonstrou a dependência do pH para a dissolução deste fármaco, assim como relatou a ocorrência de hidrólise em meio ácido. Este trabalho demonstrou, também, através de estudos de estabilidade, que as amostras comerciais do diclofenaco sódico avaliadas não são estáveis em temperatura ambiente, e que ocorre a conversão da forma anidra na forma hidratada, que é menos solúvel (BARTOLOMEI *et al.*, 2006).

Diversos outros trabalhos utilizaram os ensaios de dissolução intrínseca para avaliar a estrutura cristalina e diferentes sais do mesmo fármaco como, por exemplo, o comparativo entre cloridrato, mesilato e base livre do haloperidol (LI *et al.*, 2005), a avaliação de diferentes isoformas do ansiolítico benzodiazepínico alprazolam (LAIHANEN *et al.*, 1996), e a análise de diferentes cristais de fenitoína (CHOW *et al.*, 1995), acetaminofeno e ácido adípico (CHAN & GRANT, 1989).

### **1.2.3. Pré-formulação**

A dissolução intrínseca também pode ser realizada com objetivo de avaliar excipientes e misturas contendo fármacos e excipientes (USP 34, 2011). A dissolução intrínseca foi utilizada, por exemplo, como uma etapa do desenvolvimento de formulação em estudos envolvendo os sais de lactose e os sais de cálcio, utilizados como diluentes em formulações de comprimidos (KOPARKAR *et al.*, 1990). A lactose na forma anidra, hidratada, *spray-dried* e microcristalina, e o

cálcio na forma de fosfato bicálcico anidro, fosfato bicálcico hidratado, sulfato de cálcio e fosfato tricálcico, foram analisados em sua dissolução intrínseca. A VDI foi calculada nas pastilhas contendo apenas o sal de lactose ou de cálcio, e em preparações contendo outros excipientes utilizados na compressão direta de comprimidos. De maneira geral, a forma anidra apresentou VDI duas vezes maior que as demais formas hidratadas, demonstrando que a VDI de fármacos pode ser influenciada pelo tipo de diluente utilizado. Entretanto os autores salientam que apenas um valor de VDI elevado não é o suficiente para a escolha de um excipiente, uma vez que outros fatores como propriedades de fluxo do material, compressibilidade e estabilidade física também devem ser avaliados (KOPARKAR *et al.*, 1990).

A aplicabilidade da técnica de dissolução intrínseca na avaliação de excipientes foi observada, também, num estudo realizado com o fármaco carbamazepina (FLICKER *et al.*, 2011). Neste estudo, as VDI de misturas binárias de carbamazepina contendo os diluentes manitol e celulose microcristalina foram avaliadas (FLICKER *et al.*, 2011). Foram utilizadas quatro amostras de diferentes fornecedores do fármaco e as misturas binárias consistiram em 30%, 50%, 70%, 90% e 100% de fármaco e a outra proporção do excipiente celulose microcristalina ou manitol. As misturas contendo manitol dissolveram mais rápido que aquelas contendo celulose microcristalina, e diferenças entre as matérias primas foram percebidas apenas com o uso do manitol, uma vez que este aumentou a solubilidade da carbamazepina. A celulose microcristalina foi indicada como diluente para uso em formulações de carbamazepina, pois foi capaz que reduzir a variabilidade entre as diferentes amostras comerciais, e representa uma alternativa para controlar a dissolução deste fármaco e sua biodisponibilidade (FLICKER *et al.*, 2011).

A dissolução intrínseca também foi utilizada para avaliar misturas entre fármacos, como, por exemplo, na avaliação de misturas amorfas entre o anti-inflamatório não esteroideal naproxeno e o inibidor da secreção ácida gástrica cimetidina (ALLESØ *et al.*, 2009). Neste estudo, as misturas foram preparadas com o objetivo de aumentar a dissolução do naproxeno, que é um fármaco classe II, pouco solúvel, e também pelo fato destes fármacos serem comumente administrados concomitantemente (ALLESØ *et al.*, 2009). Amostras em diferentes proporções foram coprocessadas, e a proporção 1:1 demonstrou-se altamente

estável e dobrou o percentual de fármaco dissolvido na dissolução intrínseca em relação aos fármacos isoladamente. O sistema naproxeno-cimetidina foi indicado como uma alternativa para formulação, pois além de estável, permitiu o aumento da dissolução de ambos os fármacos (ALLESØ *et al.*, 2009).

Outro exemplo do uso da VDI como ferramenta para avaliação de misturas contendo fármaco e excipiente foi observado com o fármaco gemfibrozil (SAMI *et al.*, 2009). O efeito da complexação do fármaco gemfibrozil em misturas binárias e ternárias com  $\beta$ -ciclodextrinas e polivinilpirrolidona de diferentes viscosidades e pesos moleculares foi analisado através de estudos de dissolução intrínseca (SAMI *et al.*, 2009). O notório incremento na dissolução das misturas ternárias em relação as misturas binárias foi relacionado a formação de complexos solúveis no meio de dissolução e a natureza hidrofílica do polímero, mesmo em pequena quantidade. A VDI da mistura ternária liofilizada composta pelo fármaco,  $\beta$ -ciclodextrina e Plasdone S-630 (polivinilpirrolidona) foi significativamente superior e foi indicada como a mais adequada em termos de eficiência de complexação e estabilidade (SAMI *et al.*, 2009).

#### **1.2.4. Avaliação da qualidade de matérias-primas**

Alguns trabalhos foram realizados com o fármaco anticonvulsivante carbamazepina para verificar o impacto de seus polimorfos e a qualidade de matérias-primas de diferentes fornecedores na VDI (KOBAYASHI *et al.*, 2000; SEHIC *et al.*, 2010; FLICKER *et al.*, 2011). A carbamazepina é um fármaco classe II de acordo com SCB e seus polimorfos apresentam diferentes estruturas cristalinas e propriedades como ponto de fusão, solubilidade e compactabilidade. A forma anidra III é utilizada em formulações, uma vez que é a forma mais estável, entretanto durante a dissolução em meio aquoso ocorre a transformação da forma anidra para a forma diidratada, o que representa o ponto crítico para a dissolução deste fármaco, uma vez que alterações nesta transformação podem causar redução no percentual de fármaco dissolvido e, conseqüentemente, na sua biodisponibilidade (SEHIC *et al.*, 2010; FLICKER *et al.*, 2011).

Sehic e colaboradores (2010) citam o monitoramento da qualidade de matérias-primas, tanto o fármaco quanto excipientes, como estratégico para dissolução adequada da carbamazepina e garantia da qualidade do produto final.

Nesse sentido, os autores caracterizaram e avaliaram a VDI de amostras comerciais do fármaco carbamazepina de diferentes fornecedores, e observaram uma curva no perfil de dissolução intrínseca referente a recristalização do material amorfo em diidrato para todas as matérias-primas avaliadas e, além disso, variações na morfologia da pastilha após a dissolução intrínseca através de microscopia eletrônica de varredura. Dentre os lotes avaliados, apenas um lote foi estatisticamente diferentes dos demais e as diferenças entre os lotes foram observadas principalmente no material amorfo e durante a etapa de transformação em diidrato (SEHIC *et al.*, 2010).

Os autores citam que a variabilidade nas amostras está relacionada ao processo de manufatura do fármaco, em função dos diferentes solventes utilizados e etapas de secagem e moagem do fármaco, que podem interferir no tamanho e formato dos cristais, e, ainda relatam que defeitos ou rachaduras nos cristais poderiam causar diferenças na conversão da carbamazepina da forma anidra para a forma diidratada (SEHIC *et al.*, 2010). Dessa forma, a dissolução intrínseca representa uma ferramenta para o monitoramento do fármaco, excipientes e formulações de carbamazepina, uma vez que a técnica é capaz de detectar diferenças nas características de amostras do mesmo fármaco, além de demonstrar a conversão entre seus polimorfos (SEHIC *et al.*, 2010; FLICKER *et al.*, 2011).

Matérias-primas de diferentes fornecedores brasileiros do fármaco talidomida também foram avaliadas em relação as suas características do estado sólido e a velocidade de dissolução intrínseca (CARINI *et al.*, 2009). A composição percentual das amostras de talidomida em relação aos polimorfos  $\alpha$ ,  $\beta$  e o material amorfo foi avaliada, e foi observado predomínio do polimorfo  $\alpha$ , entretanto percentuais diferentes do polimorfo  $\beta$  e do material amorfo foram encontrados na maioria das amostras, o que indica diferenças no processo de síntese em relação aos fornecedores avaliados (CARINI *et al.*, 2009). As farmacopeias não possuem especificação para polimorfo de talidomida, embora o padrão de referência do fármaco seja constituído de 100% do polimorfo  $\alpha$ . O perfil de dissolução intrínseca revelou que quanto maior o percentual de material amorfo ou semicristalino na amostra, maior o percentual de talidomida dissolvido, e a amostra que obteve maiores valores de VDI (0,0127 mg/min/cm<sup>2</sup>) possui 80% do polimorfo  $\beta$  e 20% do material amorfo (CARINI *et al.*, 2009).

Este estudo realizado por Carini e colaboradores (2009) possui relevância no contexto da avaliação da dissolução intrínseca, uma vez que revela a falta de homogeneidade em relação ao polimorfismo das amostras disponíveis no mercado, como observado para a talidomida. Além disso, este trabalho sugere a inclusão de algum teste de caracterização do estado sólido nas monografias do fármaco ou a especificação nas mesmas sobre composição polimórfica, de forma a assegurar a qualidade das matérias-primas. Os autores citam, ainda, a necessidade de estudos no sentido de verificar a forma cristalina ideal dos fármacos para uso em formas farmacêuticas (CARINI *et al.*, 2009).

### **1.2.5. Classificação Biofarmacêutica de Fármacos**

A VDI também pode ser utilizada na Classificação Biofarmacêutica de Fármacos (Yu *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2004; AYRES *et al.*, 2007; ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009; ISSA & FERRAZ, 2011). O SCB utiliza os valores de solubilidade e permeabilidade para classificar os fármacos em quatro classes, conforme a Tabela 2. A avaliação da VDI ao invés da determinação da solubilidade pode ser útil principalmente em estágios iniciais do desenvolvimento de novas moléculas, nos quais o fármaco encontra-se disponível em quantidade limitada, e, também, por possibilitar a detecção de transições na estrutura cristalina e a formação de sais e solvatos através das curvas nos gráficos de perfil de dissolução, o que não é possível através da avaliação da solubilidade (AYRES *et al.*, 2007; ISSA & FERRAZ, 2011).

Yu e colaboradores (2002; 2004) avaliaram a VDI de 15 fármacos, tanto de alta solubilidade quanto de baixa solubilidade de acordo com o SCB, e obtiveram uma boa correlação qualitativa entre os valores de solubilidade e os valores de VDI encontrados. Fármacos classificados como baixa solubilidade de acordo com o SCB obtiveram um baixo valor de VDI e fármacos classificados como alta solubilidade de acordo com o SCB obtiveram um alto valor de VDI (YU *et al.*, 2002; Yu *et al.*, 2004). A Tabela 2 demonstra alguns exemplos de fármacos classificados tanto conforme o SCB quanto de acordo com a VDI. O limite de VDI entre as classes de alta e baixa solubilidade foi de 0,1 mg/min/cm<sup>2</sup> (YU *et al.*, 2004).

Zakeri-Milani e colaboradores (2009) também utilizaram a VDI para classificar fármacos, porém neste caso, além da VDI, foi avaliada a permeabilidade intestinal



em ratos, e tais valores foram comparados com os dados de permeabilidade em humanos e a classificação segundo o SCB (ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009). A VDI representa, dessa forma, uma alternativa viável para a classificação de fármacos, uma vez que os estudos realizados demonstram correspondência entre os valores de VDI e o SCB (Yu *et al.*, 2004; ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009; ISSA & FERRAZ, 2011).

Tabela 2. Comparativo entre sistema de classificação biofarmacêutica e velocidade de dissolução intrínseca

Classificação de acordo com SCB	VDI (mg/min/cm <sup>2</sup> )
<b>Alta Solubilidade</b>	
Carbamazepina	0,0250
Furosemida	0,0017
Cetoprofeno	0,0160
<b>Baixa Solubilidade</b>	
Atenolol	5,6000
Hidroclorotiazida	0,1190
Ranitidina	46,1000

Adaptado de YU *et al.* (2004)

### 1.2.6. Novas Perspectivas para os Estudos de Dissolução Intrínseca

Estudos comparativos entre os aparatos rotatório e estacionário de dissolução intrínseca foram realizados, e apontam que ambos os aparatos podem ser utilizados como ferramenta na caracterização de fármacos (VIEGAS *et al.*, 2001a; VIEGAS *et al.*, 2001b; MAUGER *et al.*, 2003). Um aparato miniaturizado de dissolução intrínseca foi proposto e estudos demonstraram boa correlação entre os resultados de VDI obtidos com o aparato miniaturizado e os respectivos resultados oriundos do aparato tradicional de dissolução intrínseca (BERGER *et al.*, 2007; ADVEEF *et al.*, 2008; PERSSON *et al.*, 2009; TSINMAN *et al.*, 2009). Trabalhos indicam, também, a possibilidade de uso dos dados oriundos da dissolução intrínseca, em condições biorrelevantes, em sistemas computacionais como o *software* GastroPlus®, o qual permite a simulação de propriedades farmacocinéticas do fármaco, incluindo absorção, a partir dos dados de VDI (ABURUB *et al.*, 2008; OKUMU *et al.*, 2009).

### 1.3. EFAVIRENZ

#### 1.3.1. Farmacodinâmica e Farmacocinética

O efavirenz (Figura 4) é um fármaco antiviral da classe dos inibidores não-nucleosídicos da enzima transcriptase reversa, utilizado para o tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), que possui ação conhecida sobre o Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo um (VIH-1) (GOODMAN & GILMAN, 2006), e é comumente utilizado em associação a dois outros medicamentos, principalmente da classe dos inibidores nucleosídicos da enzima transcriptase reversa (MAGGILOLO, 2009). Algumas características físico-químicas do fármaco foram apresentadas na Tabela 3.

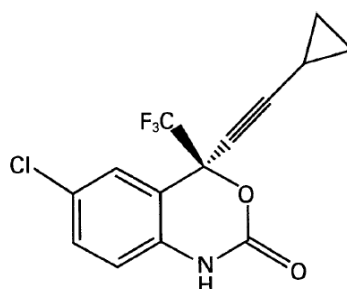


Figura 4. Estrutura química do efavirenz (Adaptada de Maurin *et al.*, 2002).

Tabela 3. Propriedades físico-químicas do efavirenz

Formula Molecular	$C_{14}H_9ClF_3NO_2$
Massa Molecular	315,68 g/mol
Aspecto Físico	Pó cristalino branco ou levemente amarelado
Faixa de Fusão	139,0°C – 141,0°C
pKa	10,2
LogP	5,4
Poder rotatório específico	-86° a -98°

O fármaco possui intensa ligação a proteínas plasmáticas, atinge concentração plasmática máxima em até cinco horas, e a biodisponibilidade é aumentada com ingestão de alimentos ricos em gordura (GOODMAN & GILMAN,

2006; MAGGIOLO, 2009). É lentamente depurado pelo metabolismo oxidativo hepático e possui meia-vida de eliminação de 40 a 55 horas, o que possibilita a administração apenas uma vez ao dia (GOODMAN & GILMAN, 2006; MAGGIOLO, 2009), porém é um indutor moderado de enzimas hepáticas e o uso concomitante com medicamentos, como por exemplo, fenobarbital ou fenitoína, pode acarretar a diminuição da concentração destes (GOODMAN & GILMAN, 2006).

Os principais efeitos adversos ocorrem, geralmente, nos primeiros dias da terapia, tendem a regredir durante o tratamento, e estão relacionados ao sistema nervoso central, como tontura, sonolência, cefaleia, amnésia, agitação, delírios, depressão e euforia (GOODMAN & GILMAN, 2006; MUNÕZ-MORENO, 2009). Também foram relatados casos de erupção cutânea e aumento nos níveis de colesterol e de transaminases hepáticas (GOODMAN & GILMAN, 2006).

### **1.3.2. Solubilidade**

O efavirenz é um fármaco pouco solúvel e descrito como classe II de acordo com o SCB (KASIM *et al.*, 2004; LINDENBERG *et al.*, 2004). É praticamente insolúvel em água, mas solúvel em metanol e diclorometano (KASIM *et al.*, 2004; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Alguns dados sobre solubilidade do efavirenz foram representados na Tabela 4. Rabel e colaboradores (1996) avaliaram o efeito da solubilidade em função do pH, e observaram que em pH acima de 10, a solubilidade do fármaco aumenta com o aumento do pH, uma vez que a molécula sofre ionização e perde o próton do grupamento amino do carbamato, como pode ser observado na Figura 5. (RABEL *et al.*, 1996; MAURIN *et al.*, 2002).

Após a ionização, as cargas são estabilizadas através de ressonância e efeito indutivo dos grupamentos acetileno, trifluorometil e cloro, além de uma possível deslocalização de cargas negativas do anel aromático (RABEL *et al.*, 1996). O efeito dos diferentes substituintes doadores de elétrons do efavirenz na solubilidade foi avaliado numa série de quatro análogos do fármaco, e foi observada que a presença dos grupamentos acetileno e trifluorometil são fundamentais para a estabilização de cargas e solubilidade do efavirenz (RABEL *et al.*, 2001).

O efeito do pH na solubilidade a 60°C foi avaliado através do uso dos tampões citrato (pH 3,0 - 4,5), acetato (pH 4,0 - 5,0), fosfato (pH 6,5 - 7,4) e borato (pH 9,2) com objetivo de determinar a cinética de degradação do fármaco nestes

meios (MAURIN *et al.*, 2002). A hidrólise do grupamento carbamato em meio básico (pH 10 - 11) e a consequente redução da fração não-ionizada do fármaco nesta faixa de pH foi observada, o que resultou no aumento da constante de degradação do fármaco com o aumento do pH (MAURIN *et al.*, 2002).

Tabela 4. Solubilidade do efavirenz descrita na literatura

Meio	Solubilidade ( $\mu\text{g/mL}$ )	Referência
Água	8,3	RABEL <i>et al.</i> (1996)
Água	9,2	MAURIN <i>et al.</i> (2002)
Água	10	KASIM <i>et al.</i> (2004)
Fluido intestinal simulado pH 6,5	10	TAKANO <i>et al.</i> (2006)
Fluido intestinal simulando estado de jejum	194	TAKANO <i>et al.</i> (2006)

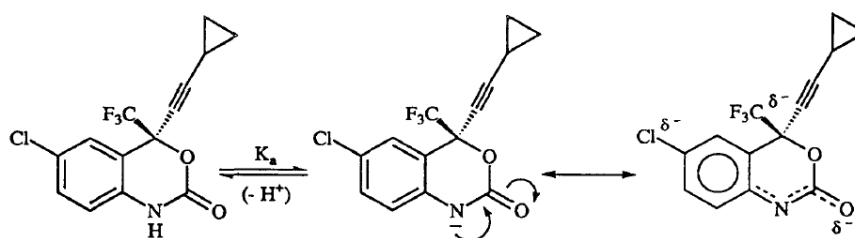


Figura 5. Ionização e estabilização de cargas na molécula do efavirenz (Adaptada de RABEL *et al.*, 1996).

O efavirenz apresenta comportamento semelhante aos chamados *brick dust drugs*, que são fármacos de elevado ponto de fusão, que apresentam estrutura cristalina estável, na qual a forte ligação intramolecular restringe a solubilidade do fármaco em água (STELLA & NIT-ADDAE, 2007; BERGSTROM *et al.*, 2007). Os *brick dust drugs*, em função de sua baixa solubilidade, limitam de maneira significativa a dissolução e, ainda, a biodisponibilidade relativa (VAN

EERDENBRUGH *et al.*, 2007; MÜLLER, 2009). A síntese de novos *brick dust drugs* foi, inclusive, desaconselhada por alguns autores, uma vez que fármacos com baixa solubilidade dificultam o desenvolvimento de formulações farmacêuticas e que novas tecnologias de química medicinal podem ser utilizadas para a síntese de fármacos, de forma a selecionar características na molécula que possam auxiliar o desenvolvimento das formas farmacêuticas (DELANEY, 2005; WASSVIK *et al.*, 2008).

### 1.3.3. Dissolução de Formas Farmacêuticas

A baixa solubilidade do efavirenz dificulta a administração, absorção e biodistribuição do fármaco (SOSNIK *et al.*, 2009). Dentre as alternativas para melhoria da dissolução de formas farmacêuticas contendo *brick dust drugs* pode-se citar a utilização de excipientes como: desintegrantes, agente molhantes, ciclodextrinas e formulações a base de lipídios (BERGSTROM *et al.*, 2009). O efeito de diferentes concentrações dos desintegrantes crospovidona, croscarmelose sódica e amidoglicolato de sódio em comprimidos de efavirenz produzidos por compressão direta foi avaliado e os autores relataram que os comprimidos obtidos com crospovidona proporcionam melhor desintegração e maiores percentuais de fármaco dissolvido (KESAVAN *et al.*, 2008; BALASUBRAMANIAM & BEE, 2009; RAJESH *et al.*, 2010). O efeito da desintegração em comprimidos e cápsulas de efavirenz também foi avaliado através de farmacocintigrafia, cujo estudo confirma a dissolução *in vivo* do efavirenz como etapa limitante para a absorção (GAO *et al.*, 2007).

A inclusão de fármacos pouco solúveis, como o efavirenz, em complexos com ciclodextrinas foi também descrita como uma alternativa para aumentar a solubilidade, dissolução e biodisponibilidade (BREWSTER & LOFTSSON, 2007; SATHIGARI *et al.*, 2009; SHOWN *et al.*, 2010). Complexos de efavirenz com  $\beta$ -ciclodextrinas, hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrinas e  $\beta$ -ciclodextrinas metiladas foram preparados e foi observado que os complexos liofilizados contendo hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrinas e  $\beta$ -ciclodextrinas metiladas aumentaram significativamente a dissolução do fármaco e representam uma alternativa para formulações de efavirenz (SATHIGARI *et al.*, 2009). Complexos de efavirenz,  $\beta$ -ciclodextrinas e polivinilpirrolidona ou lauril sulfato de sódio também promoveram aumento na velocidade de dissolução de comprimidos produzidos tanto por compressão direta

quanto por granulação úmida (CHOWDARY & NARESH, 2011a). Oligômeros de  $\beta$ -ciclodextrinas e oligômeros de  $\beta$ -ciclodextrinas contendo lactose também foram utilizados para a inclusão do efavirenz e, além do aumento da solubilidade e dissolução, foram obtidos complexos estáveis com o fármaco e com menor citototoxicidade do que com a  $\beta$ -ciclodextrina (SHOWN *et al.*, 2010).

Dispersões sólidas também representam uma alternativa para a solubilidade e dissolução do efavirenz (BABU *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2010; CHOWDARY & NARESH, 2011; MADHAVI *et al.*, 2011). Foram preparadas dispersões sólidas de efavirenz com polietilenoglicol, as quais proporcionaram aumento na dissolução em relação as respectivas misturas físicas e amostras submetidas a *pegulation* (MADHAVI *et al.*, 2011). A polivinilpirrolidona foi indicada para uso em dispersões sólidas de efavirenz pela capacidade de promover aumento na estabilidade física do polímero formado, além de inibir o processo de recristalização do fármaco (YANG *et al.*, 2010). Comprimidos produzidos a partir de dispersões sólidas contendo citrato de amido também geraram percentuais elevados de fármaco dissolvido em relação ao fármaco isoladamente (CHOWDARY & ENTURI, 2011).

O efavirenz é o inibidor não nucleosídico da enzima transcriptase reversa indicado pela Organização Mundial da Saúde para o tratamento de crianças acima de 3 anos (MAGGIOLO, 2009; SOSNIK *et al.*, 2009), e o uso de triglicerídeos de cadeia média como veículo para formulações líquidas de efavirenz de uso pediátrico foi avaliado. Entretanto foi obtida uma biodisponibilidade 20% menor que a forma sólida e, além disso, foi observada diarreia nos pacientes como efeito adverso do uso oral diário de lipídios (STARR *et al.*, 2002 *apud* SOSNIK *et al.*, 2009).

Recentemente, vários trabalhos utilizaram a nanotecnologia para o preparo de micelas poliméricas de efavirenz como estratégia para incremento na solubilidade (CHIAPPETTA *et al.*, 2010a; CHIAPPETTA *et al.*, 2010b; CHIAPPETTA *et al.*, 2010c; CHIAPPETTA *et al.*, 2011a; CHIAPPETTA *et al.*, 2011b). Os autores relatam a encapsulação do efavirenz em micelas com copolímeros de óxido de polietileno e polipropileno como alternativa para melhoria da biodisponibilidade em formulações líquidas orais de uso pediátrico (CHIAPPETTA *et al.*, 2010b), e, ainda, sugerem uma formulação agradável ao paladar infantil, com estabilidade físico-química e adequado perfil farmacocinético (CHIAPPETTA *et al.*, 2010c; CHIAPPETTA *et al.*, 2011b). Sistemas poliméricos contendo poloxameros e poloxaminas como nanocarreadores apresentaram elevada estabilidade e solubilidade, e podem ser

promissores como sistemas de liberação do efavirenz (CHIAPPETTA *et al.*, 2010a; CHIAPPETTA *et al.*, 2011a).

#### **1.3.4. Metodologias de Análise**

Monografias oficiais do efavirenz foram descritas nas Farmacopeias Americana, Farmacopeia Brasileira e Farmacopeia Internacional (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEA, 2011; USP 34, 2011). Em 2006, o órgão governamental americano *Food and Drug Administration* (FDA) disponibilizou em seu banco de dados sobre métodos de dissolução, uma metodologia para cápsulas de efavirenz e, no ano seguinte, para comprimidos de efavirenz, assim como para comprimidos com associações deste fármaco (FDA, 2010).

As condições de realização do teste de dissolução para os comprimidos são diferentes daquelas descritas para cápsulas, tanto de acordo com o FDA quanto pela USP, porém ambas utilizam o aparato pá e surfactante no meio de dissolução. Surfactantes, principalmente o Lauril Sulfato de Sódio (LSS), são comumente utilizados em testes de dissolução com o objetivo de mimetizar propriedades do trato gastrointestinal e facilitar o processo de dissolução de fármacos pouco solúveis (DRESSMAN *et al.*, 1998; GRAY *et al.*, 2009) e diversos estudos utilizam LSS como surfactante (JUNICHI *et al.*, 2000; SHENG *et al.*, 2006).

Os meios de dissolução adotados pelas farmacopeias e pelo FDA são desenvolvidos com o objetivo de maximizar a liberação de fármacos e assegurar a qualidade de lotes de medicamentos produzidos (BALASUBRAMANIAM & BEE, 2009), porém nem sempre são capazes de discriminar entre características da formulação e do IFA (QURESHI, 2006; BALASUBRAMANIAM & BEE, 2009). Até o presente momento, nenhuma metodologia de dissolução por dispersão ou metodologia de dissolução intrínseca de efavirenz foi descrita na literatura, ou em organismos fiscalizadores internacionais, como o FDA para este fármaco.

#### **1.4. JUSTIFICATIVA**

O estudo de dissolução intrínseca de diferentes lotes do IFA efavirenz baseado em testes de solubilidade e análise de suas propriedades físico-químicas,

permitirá melhor conhecimento sobre o fármaco e a influência destas propriedades na dissolução, ainda não descritos na literatura. Estes dados servirão de base para o desenvolvimento de método de dissolução capaz de discriminar entre variações nas diferentes propriedades do fármaco estudadas, assim como poderá auxiliar o desenvolvimento de formulações, evitando futuros problemas de biodisponibilidade dos medicamentos fabricados com este IFA.



## **2 OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivos Gerais**

Realizar caracterização físico-química de diferentes lotes de efavirenz produzidos em território nacional e correlacionar estas características com a dissolução intrínseca de forma a desenvolver metodologia capaz de discriminar lotes do fármaco com distintas propriedades. Buscou-se um método aplicável na seleção de lotes de matérias-primas de efavirenz no sentido de antecipar a biodisponibilidade de comprimidos produzidos com estes lotes do fármaco.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Caracterizar lotes de matérias-primas do fármaco efavirenz de diferentes procedências;
- Determinar a solubilidade do fármaco em diversas condições e avaliar comparativamente a solubilidade entre lotes;
- Analisar a dissolução de comprimidos de efavirenz submetidos ao teste de bioequivalência através das metodologias oficiais de dissolução;
- Avaliar a capacidade da técnica de dissolução por dispersão em discriminar matérias-primas de efavirenz;
- Desenvolver metodologia de dissolução intrínseca a partir da avaliação do impacto dos parâmetros do teste de dissolução na VDI do fármaco;
- Aplicar a metodologia de dissolução intrínseca desenvolvida em diferentes lotes de efavirenz e avaliar a capacidade do método em discriminar matérias-primas submetidas ao teste de bioequivalência;
- Correlacionar os dados de dissolução intrínseca com os dados de dissolução dos comprimidos produzidos com os mesmos IFAs;
- Traçar perfil da qualidade dos IFAs disponíveis no mercado para o efavirenz.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

##### 3.1.1 Equipamentos e acessórios

- Analisador de área superficial Micromeritics Gemini VI 2385C;
- Analisador de tamanho de partícula Malvern Mastersizer 2000 – Modo úmido HYDRO 2000 SM;
- Analisador termogravimétrico Shimadzu TGA 60;
- Balança analítica Mettler Toledo AG204;
- Balança de precisão Mettler Toledo PB3002;
- Banho de ultrassom Unique - Ultra Cleaner 1400;
- Centrífuga Eppendorf 5430R;
- Colorímetro exploratório diferencial Mettler Toledo DSC 822e;
- Coluna cromatográfica Du Pont Zorbax CN (4,6 mm x 25 cm 5 µm) Zorbax, série nº 4256939;
- Coluna cromatográfica Shimadzu Shim-pack C18 (4,6 mm x 25 cm 5 µm), série nº 4256995;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência ELITE LaChrom – bomba modelo L-2455, auto-injetor modelo L-2200, detector de arranjo de fotodiodos modelo L-2130 e sistema de dados (software) EzeChrom;
- Dessecador Vidrolabor;
- Destilador Novatécnica NT 425;
- Difrátômetro de raios-X Higaku Miniflex;
- Dissolutor Hanson Research SR6;
- Dissolutor Vankel VK 7010;
- Durômetro Erweka TBH 20;

- Espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu IR Prestige 21;
- Espectrofotômetro UV-Vis Vankel VK 50;
- Membrana filtrante 0,45 µm Millipore;
- Metalizador Balzers FL 9496;
- Microscópio eletrônico por varredura Jeol JSM-5310;
- Placa de agitação e aquecimento Corning;
- Placa de agitação multipontos Mettler;
- Ponto de Fusão Büchi B-540;
- Potenciômetro Quimis Q-400MT;
- Prensa hidráulica 2 toneladas QLA;
- Titulador Karl Fischer Mettler DL18;

### **3.1.2. Reagentes**

- Acetato de amônio Vetec;
- Acetonitrila grau cromatográfico Tedia;
- Acetonitrila grau espectroscópico Tedia;
- Brometo de potássio Shimadzu;
- Cloreto de sódio Merck;
- Fosfato de potássio dibásico Merck;
- Fosfato de potássio monobásico P.A. anidro Vetec;
- Fosfato de sódio dibásico Merck;
- Fosfato de sódio monobásico P.A. Merck;
- Hidróxido de sódio P.A. Vetec;
- Lauril sulfato de sódio Vetec;
- Metanol grau cromatográfico Tedia;

- Metanol grau espectroscópico Tedia;
- Reagente de Karl Fisher Merck;
- Solução Tampão pH 4,00 e 7,00 Tedia;
- Tween 80 Vetec;

### **3.1.3. Padrões Analíticos, Matérias-Primas e Produtos Farmacêuticos**

- Padrão de trabalho de efavirenz lote Globe 8CGS006 Teor 100,8%;
- 12 lotes de matérias-primas do fármaco efavirenz provenientes de três fornecedores distintos (Lotes A a L);
- Comprimidos de efavirenz 600 mg Farmanguinhos.

Foram utilizados comprimidos produzidos com os lotes A e B do fármaco efavirenz. A formulação dos comprimidos produzidos com o lote A possui quatro vezes mais diluente, a metade da quantidade de desintegrante e quatro vezes menos tensoativo que a formulação contendo o lote B, além de um aglutinante não presente na formulação com o lote B.

## **3.2. MÉTODOS**

### **3.2.1. Caracterização das matérias-primas**

Foram avaliados 12 lotes de matérias-primas de efavirenz (Lotes A a L), oriundos de três fornecedores diferentes. Todos os lotes foram submetidos aos testes de caracterização da matéria-prima. O lote D foi utilizado nos testes de solubilidade e no desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca, devido a maior quantidade disponível deste lote. Apenas os lotes A a G foram utilizados nos testes comparativos de solubilidade, dissolução por dispersão e dissolução intrínseca, devido a quantidade limitada dos lotes H a L. Os comprimidos produzidos com os lotes A e B do fármaco foram avaliados em sua dissolução.

### **3.2.1.1. Faixa de Fusão**

As análises de faixa de fusão foram determinadas através de um capilar, e este colocado no interior do equipamento para análise visual da faixa de fusão (USP 34, 2011).

### **3.2.1.2. Infravermelho por Transformada de Fourier**

Foram preparadas pastilhas de brometo de potássio contendo 1% p/p da matéria-prima e as amostras foram analisadas em espectrofotômetro de infravermelho realizando-se varredura do espectro de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas observadas foram caracterizadas de acordo com os grupos funcionais encontrados e comparadas com padrão da literatura de efavirenz (THE INTERNACIONAL PHARMACOPOEA, 2011).

### **3.2.1.3. Difração de raios-X (DRX)**

A amostra em pó foi analisada em difratômetro de raios-X operado a 30 kV, 15 mA, 0,05 mm, e 1°C/min em temperatura ambiente. A radiação  $\text{CuK}\alpha$  foi utilizada como fonte dos raios-X. A faixa de difração foi ajustada de acordo com o objetivo da análise e o ângulo de difração  $2\theta$  foi avaliado de 1° a 40° no sentido de verificar a cristalinidade e polimorfismo dos lotes de efavirenz.

### **3.2.1.4. Análise calorimétrica de varredura diferencial (DSC)**

Através desta técnica, as diferenças no fluxo de calor das amostras foram medidas em função da temperatura enquanto foram submetidas a um programa de controle de temperatura. As amostras foram analisadas contra um padrão alumínio num fluxo de 50 mL/min  $\text{N}_2$ , com uma taxa de aquecimento de 10°C/min, na faixa de 25 a 350°C.

### **3.2.1.5. Análise Termogravimétrica (TGA)**

A variação de massa das amostras em função da temperatura e do tempo foi avaliada para obtenção das curvas termogravimétricas dos lotes analisados. As amostras foram analisadas com um padrão de alumina num fluxo de 50 mL/min N<sub>2</sub>, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min, na faixa de 25 a 500°C.

### **3.2.1.6. Análise do tamanho de partícula**

A distribuição de tamanho das partículas dos lotes de efavirenz foi determinada por espalhamento de luz dinâmica em modo úmido. As amostras foram preparadas por meio da pesagem de aproximadamente 10 mg do fármaco, que foi disperso num béquer de 25 mL contendo 10 mL de solução 0,02% de polissorbato 80 (m/v). Foram utilizados 100 mL de água como meio dispersante e agitação de 2000 rpm.

### **3.2.1.7. Avaliação da Área Superficial**

A área superficial específica foi determinada pela adsorção de gás, utilizando o gás nitrogênio como o gás analítico e o gás hélio como o gás de referência para avaliação dos espaços livres. As amostras foram degaseificadas previamente as análises com gás nitrogênio por 24 h em 25°C. O vácuo foi realizado na taxa de 500 mmHg/min durante 1 minuto e 10 segundos, que foi o tempo de equilíbrio para a adsorção. A quantidade de gás nitrogênio adsorvida na faixa de pressão relativa de (0,05 < P/Po < 0,35) foi determinada de forma a calcular a área superficial específica pelos métodos de Brunauer, Emmett e Teller (BET).

### **3.2.1.8. Microscopia Eletrônica por Varredura**

As amostras foram preparadas sobre uma fita adesiva de carbono apoiada num suporte de alumínio. A superfície das amostras foi metalizada com ouro por 2 minutos e fotografadas na voltagem de 20 kV.



### 3.2.1.9. Teste de Karl Fisher

Os teores de umidade das amostras foram determinados conforme método geral I da Farmacopeia Americana, descrito no item <921> (USP 34, 2011).

### 3.2.1.10. Doseamento

O teor dos lotes do efavirenz foi avaliado conforme metodologia da Farmacopeia Americana (USP 34, 2011), cujos principais parâmetros cromatográficos foram demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Condições cromatográficas do teste de teor do efavirenz de acordo com a farmacopeia americana

Parâmetro	Especificação
Detector	UV 250 nm
Coluna	CN; 4,6 mm x 15 cm; 5 µm
Fluxo	1,5 mL/min
Temperatura	35°C
Volume de Injeção	35 µL
Fase Móvel	Metanol, ácido trifluoroacético e água Fase A → 1:0,005:9 Fase B → 9:0,005:1
Especificação de teor	98% a 102%

(USP 34, 2011)

### 3.2.1.11. Substâncias Relacionadas

A pesquisa por substâncias relacionadas foi realizada conforme o procedimento 2 da metodologia da Farmacopeia Americana (USP 34, 2011). A Tabela 6 descreve as condições empregadas no teste.

Tabela 6. Condições cromatográficas do teste de substâncias relacionadas do efavirenz de acordo com a Farmacopeia Americana

Parâmetro	Especificação
Detector	UV 250 nm
Coluna	C18; 4,6 mm x 25 cm; 5 µm
Fluxo	1,5 mL/min
Temperatura	35°C
Volume de Injeção	20 µL
Fase Móvel	Acetonitrila, ácido trifluoroacético e água Fase A → 4:0,005:6 Fase B → 8:0,005:2 Total de impurezas menor 1,0%;
Especificação	Desconsiderar picos menores que 0,05%; Menos que 0,1% das impurezas A, B e C.

(USP 34, 2011)

### 3.2.2. Teste de Solubilidade

#### 3.2.2.1. Metodologia de Quantificação

Foi realizada análise comparativa entre duas metodologias analíticas oficiais do efavirenz disponíveis no início da realização deste trabalho (2010) no sentido de verificar qual destas metodologias teria melhor aplicação ao teste de solubilidade. A metodologia de quantificação descrita para teor do fármaco efavirenz no fórum da farmacopeia americana, que utiliza CLAE (USP FORUM, 2007), e a metodologia para quantificação do fármaco nos testes de dissolução de cápsulas e comprimidos, também descrita no fórum da farmacopeia americana e que utiliza espectrofotometria no UV-Vis, (USP FORUM, 2010a; USP FORUM, 2010b), foram comparadas. A Tabela 7 descreve as condições cromatográficas de quantificação do fármaco do fórum da farmacopeia (USP FORUM, 2007). A metodologia por espectrofotometria no UV-Vis utiliza comprimento de onda de 248 nm e célula de 1 cm (USP FORUM, 2010a; USP FORUM, 2010b).

Tabela 7. Condições cromatográficas do teste de teor do efavirenz de acordo com o fórum da farmacopeia americana

Parâmetro	Especificação
Detector	UV 252 nm
Coluna	C18; 4,6 mm x 25 cm; 5 µm
Fluxo	1,5 mL/min
Volume de Injeção	20 µL
Fase Móvel	Tampão acetato de amônio e acetonitrila (50:50)
	Mínimo de 5000 pratos teóricos
Especificação	Fator de cauda menor que 1,8 DPR menor que 1,0%

(USP FORUM, 2007)

### 3.2.2.2. Determinação da Solubilidade

A solubilidade do efavirenz foi avaliada através da adição de um excesso do fármaco a um béquer com 10 mL do meio a ser testado na temperatura ambiente de 25°C. Os béqueres foram mantidos em agitação magnética a uma velocidade de 50 rpm durante 24 horas. Ao final deste período, o material foi transferido para um tubo plástico cônico e centrifugado a 3500 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi filtrado através de uma membrana de 0,45 µm de porosidade. Foram avaliados os meios: água, suco gástrico simulado sem enzimas, tampão acetato e suco entérico simulado sem enzimas (USP 34, 2011). Todos os meios foram avaliados sem tensoativo e na presença de LSS nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% p/v. Cada condição foi testada em triplicata. Um mesmo lote do IFA efavirenz, Lote D, foi utilizado em todos os experimentos de determinação da solubilidade.

### 3.2.3. Dissolução de Comprimidos

Comprimidos de efavirenz produzidos com fármacos dos lotes A e B foram cedidos pela empresa Farmanguinhos e avaliados comparativamente em relação a sua dissolução empregando-se as metodologias oficiais disponíveis. Ambos os lotes dos comprimidos foram submetidos ao teste de bioequivalência pela empresa, e os

comprimidos produzidos com o lote A foram aprovados em sua bioequivalência, entretanto os comprimidos produzidos com o lote B foram reprovados.

Os comprimidos foram analisados conforme as metodologias de dissolução da Farmacopeia Americana (FA), Farmacopeia Brasileira (FB) e a metodologia da empresa Farmanguinhos (Far), com objetivo de verificar quais metodologias seriam capazes de identificar possíveis diferenças na performance dos comprimidos, uma vez que um dos lotes não foi aprovado em sua bioequivalência. Estas metodologias utilizaram o aparato pá, 900 mL de meio a 37°C, e a quantificação foi realizada através de espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 248 nm. As diferenças entre as condições do ensaio destas metodologias podem ser visualizadas na Tabela 8. A especificação é não menos que 80% dissolvido no tempo indicado para as três metodologias avaliadas, ou seja,  $Q (\%) \geq 80$ .

Tabela 8. Parâmetros da dissolução de comprimidos de efavirenz

Condições	FA	FB	Far
Meio	LSS 2,0%	LSS 1,0%	LSS 0,5%
Rotação (rpm)	50	100	50
Tempo de amostragem (min)	30	45	45

(USP FORUM, 2009; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010)

### 3.2.4. Dissolução por Dispersão

A técnica da dissolução por dispersão consiste na inserção de determinada quantidade do fármaco ou mistura de fármaco e excipientes diretamente na cuba do dissolutor e, através do uso do Aparato 2, é avaliada a quantidade de fármaco dissolvida ao longo do tempo (AZARMI et al., 2007). A metodologia utilizada foi baseada nas monografias propostas pelos órgãos oficiais para cápsulas e comprimidos de efavirenz (USP FORUM, 2007; USP FORUM, 2009a; USP FORUM, 2009b; FDA, 2010; USP 34, 2011), e os diferentes lotes do fármaco efavirenz foram avaliados quanto a sua dissolução por dispersão em meio aquoso contendo LSS. Foram utilizados 900 mL de água mais o tensoativo nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% p/v, e foi utilizada velocidade de rotação de 50 rpm. Foram adicionados 600 mg do ativo, previamente pesados, às cubas do dissolutor, e a amostragem foi realizada nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos com filtro de cânula de 10

$\mu\text{m}$ , e posterior filtração em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade. Foi realizada diluição das amostras de 500  $\mu\text{L}$  em balão de 25 mL.

O doseamento foi realizado em espectrofotômetro UV-VIS no comprimento de onda de 248 nm. O padrão foi preparado por meio da pesagem de 50,0 mg do ativo efavirenz e transferência do material para um balão volumétrico de 50 mL. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de metanol e 10 mL do meio de dissolução, e o balão foi mantido em ultrassom por 15 minutos. Após este período, o balão foi avolumado com o meio de dissolução. Foram preparadas curvas-padrão a partir desta solução padrão, em cada concentração de LSS, e posterior cálculo do percentual de fármaco dissolvido.

### **3.2.5. Desenvolvimento de Metodologia por Dissolução Intrínseca**

#### **3.2.5.1. Metodologia para Quantificação do Efavirenz**

A quantificação da dissolução intrínseca foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 248 nm, conforme especificado nas monografias disponíveis do fármaco (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP 34, 2011).

#### **3.2.5.2. Aparato Rotatório de Dissolução Intrínseca**

O aparato tradicionalmente utilizado no teste de dissolução intrínseca é o disco rotatório proposto por Wood e colaboradores, que está descrito na farmacopeia americana e foi adotado neste trabalho (WOOD *et al.*, 1965; USP 34, 2011). O aparato é composto por haste, matriz, punção, e base, como citado no item 1.2.1 e demonstrado também nas Figuras 6 e 7. O teste de dissolução intrínseca consiste no preparo de uma pastilha compacta não desintegrante do material a ser analisado, posterior fixação da matriz a haste do aparato, e encaixe do aparato no dissolutor (USP 34, 2011).

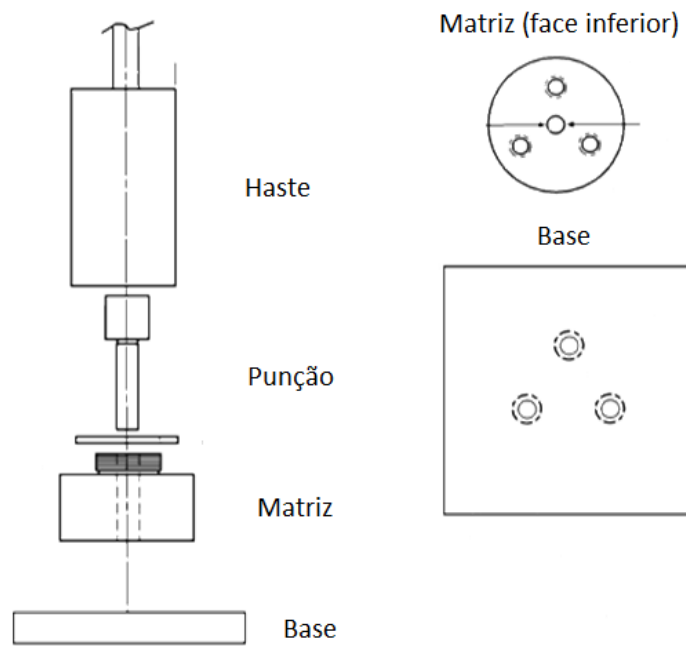


Figura 6. Aparato rotatório de dissolução intrínseca (Adaptado de USP 34, 2012).



Figura 7. Aparato rotatório de dissolução intrínseca. A) Componentes do Aparato (Equipamento LabCQ). B) Aparato montado para realização de dissolução (Manual da Varian ®).

Embora o teste de dissolução intrínseca esteja descrito na farmacopeia americana como método geral, não existem monografias oficiais disponíveis. Desta forma, para cada fármaco os parâmetros do teste, como preparo da pastilha e

condições da dissolução devem ser previamente avaliados para estabelecimento de metodologia de dissolução intrínseca.

### **3.2.5.3. Preparo da Pastilha**

No desenvolvimento da metodologia de preparo das pastilhas para avaliação da VDI de efavirenz foi preconizada a utilização do menor tempo de compressão possível e a menor força de compressão necessária para a obtenção de pastilhas compactas não desintegrantes do fármaco, conforme especificado na farmacopeia americana (USP 34, 2011). Uma quantidade do fármaco a ser analisado foi colocada na cavidade da matriz, e o pó foi comprimido, com auxílio de uma prensa hidráulica, para obtenção de pastilhas com área superficial exposta de 0,5 cm<sup>2</sup>. Foram obtidas pastilhas aplicando força de compressão de 100 psi a 2000 psi, utilizando-se o tempo de compressão de 30 segundos ou 1 minuto.

As pastilhas foram avaliadas em relação ao aspecto, a dureza, e caracterizadas por DRX. A Farmacopeia Americana recomenda o uso de técnicas de caracterização de sólidos, como a DRX, no sentido de verificar alguma possível alteração polimórfica após a aplicação da força de compressão, visando a manutenção da integridade do material a ser analisado (USP 34, 2011). Todas as pastilhas preparadas na etapa de desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca utilizaram o lote D do fármaco efavirenz.

### **3.2.5.4. Parâmetros do Teste de Dissolução Intrínseca**

A influência dos parâmetros do teste de dissolução intrínseca, como meio de dissolução, volume do meio, pH, presença de surfactante, velocidade de rotação, e força de compressão utilizada no preparo das pastilhas, devem ser avaliados no desenvolvimento de metodologia por dissolução intrínseca (NAJIB & SULEIMAN, 1990; SKINNER & KANFER, 1992; JINNO *et al.*, 1999; YU *et al.*, 2004; SHENG *et al.*, 2006). Tais parâmetros foram avaliados neste trabalho, assim como o impacto destes na VDI. O teste de dissolução intrínseca foi avaliado num período total de 5 horas e foram realizadas amostragens de 5 mL nos tempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 minutos. O material foi filtrado através de filtro em cânula de 10 µm e, posteriormente, em membrana de 0,45 µm de porosidade

previamente a quantificação. Os experimentos desta etapa de desenvolvimento foram realizados em triplicata.

#### **3.2.5.5. Avaliação da Velocidade de Dissolução Intrínseca**

Os valores de VDI foram obtidos a partir da construção de gráficos com a quantidade acumulada de fármaco dissolvido por unidade de área sobre o tempo. O coeficiente angular obtido a partir da inclinação da reta corresponde ao valor da VDI nas condições em que foi realizada a dissolução (USP 34, 2011). Os valores de VDI, expressos em  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , foram utilizados na comparação entre as diferentes condições utilizadas no desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca (YU *et al.*, 2004; USP 34, 2011).

#### **3.2.5.6. Análise do Resíduo de Dissolução Intrínseca**

As pastilhas submetidas ao teste de dissolução intrínseca foram retiradas do aparato de dissolução intrínseca do experimento e foram submetidas a análise de DRX, conforme metodologia descrita no item 3.2.1.3. Foi avaliada uma pastilha de cada um dos lotes A a G, após a dissolução em meio água contendo LSS 0,5% na velocidade de rotação de 100 rpm, utilizando-se pastilhas preparadas com força de compressão de 600 psi por 30 segundos.

#### **3.2.5.7. Pesquisa por Substâncias Relacionadas**

Foi realizada pesquisa por substâncias relacionadas no teste de dissolução intrínseca, ao final das 5 horas do ensaio, em meio água contendo LSS 0,5% na velocidade de rotação de 100 rpm, utilizando-se pastilhas preparadas com força de compressão de 600 psi por 30 segundos. Ao final do ensaio de dissolução intrínseca, uma alíquota de 5 mL foi retirada de uma cuba do dissolutor, filtrada através de filtro em cânula de 10  $\mu\text{m}$  e, posteriormente, em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade. A quantificação foi realizada conforme metodologia descrita no item 3.2.1.11, com objetivo de verificar alguma possível degradação do fármaco ao longo perfil de dissolução.



### 3.2.6. Perfil de Dissolução Intrínseca de Lotes de Efavirenz

Os diferentes lotes de efavirenz foram submetidos a metodologia de dissolução intrínseca desenvolvida. Foram avaliadas três condições de dissolução intrínseca selecionadas, com objetivo de verificar o efeito da concentração do tensoativo na VDI dos lotes de efavirenz. Os experimentos foram realizados em triplicata e o resíduo da dissolução intrínseca foi analisado por DRX.

### 3.3. Análise Estatística

Os dados obtidos foram avaliados considerando-se os valores de média, desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR).

A análise estatística foi realizada empregando-se o teste One-way ANOVA (teste de múltiplas comparações de Tukey), com auxílio do software GraphPadprisma®. A interpretação da semelhança e diferença nesta metodologia é realizada através da interpretação do valor de P. Quando o valor de  $P > 0,05$  indica que os dados analisados são semelhantes, entretanto quanto o valor de  $P < 0,05$  representa diferença estatística entre os dados avaliados.

Os perfis de dissolução de comprimidos e da dissolução por dispersão também foram avaliados através dos fatores de diferença (F1) e semelhança (F2), demonstrados nas Equações 3 e 4, e cuja interpretação é realizada na faixa de  $F1 = 0$  a 15 e  $F2 = 0$  a 50. Valores fora da faixa especificada representam diferença entre os perfis de dissolução analisados (SHAH *et al.*, 1998)

$$f_1 = \left\{ \frac{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|]}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \right\} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad (\text{Equação 4})$$

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização das Matérias-Primas

#### 4.1.1. Faixa de Fusão

Os valores encontrados experimentalmente foram descritos na Tabela 10. Como pode ser observado, a maioria dos lotes apresentaram faixa de fusão de acordo com o preconizado, entre 138°C e 141°C (THE MERCK INDEX, 2001; DRUG BANK, 2012). Entretanto, o início da fusão dos lotes E e K foi em 137°C, e a fusão dos lotes C, G e L foi concluída em 142°C.

Tabela 10. Faixa de fusão dos lotes do efavirenz

Lote	Faixa de Fusão (°C)
A	139-141
B	138-141
C	139-142
D	139-141
E	137-140
F	139-141
G	139-142
H	139-141
I	139-141
J	138-140
K	137-140
L	139-142

n=3

#### 4.1.2. Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF)

Os espectros de infravermelho obtidos para os diferentes lotes do efavirenz foram representados na Figura 8. As principais bandas de absorção características do fármaco, descritas na literatura e representadas na Figura 9 para SQR, foram observadas em todos os lotes avaliados (SHOW *et al.*, 2010; MADHAVI *et al.*, 2011).

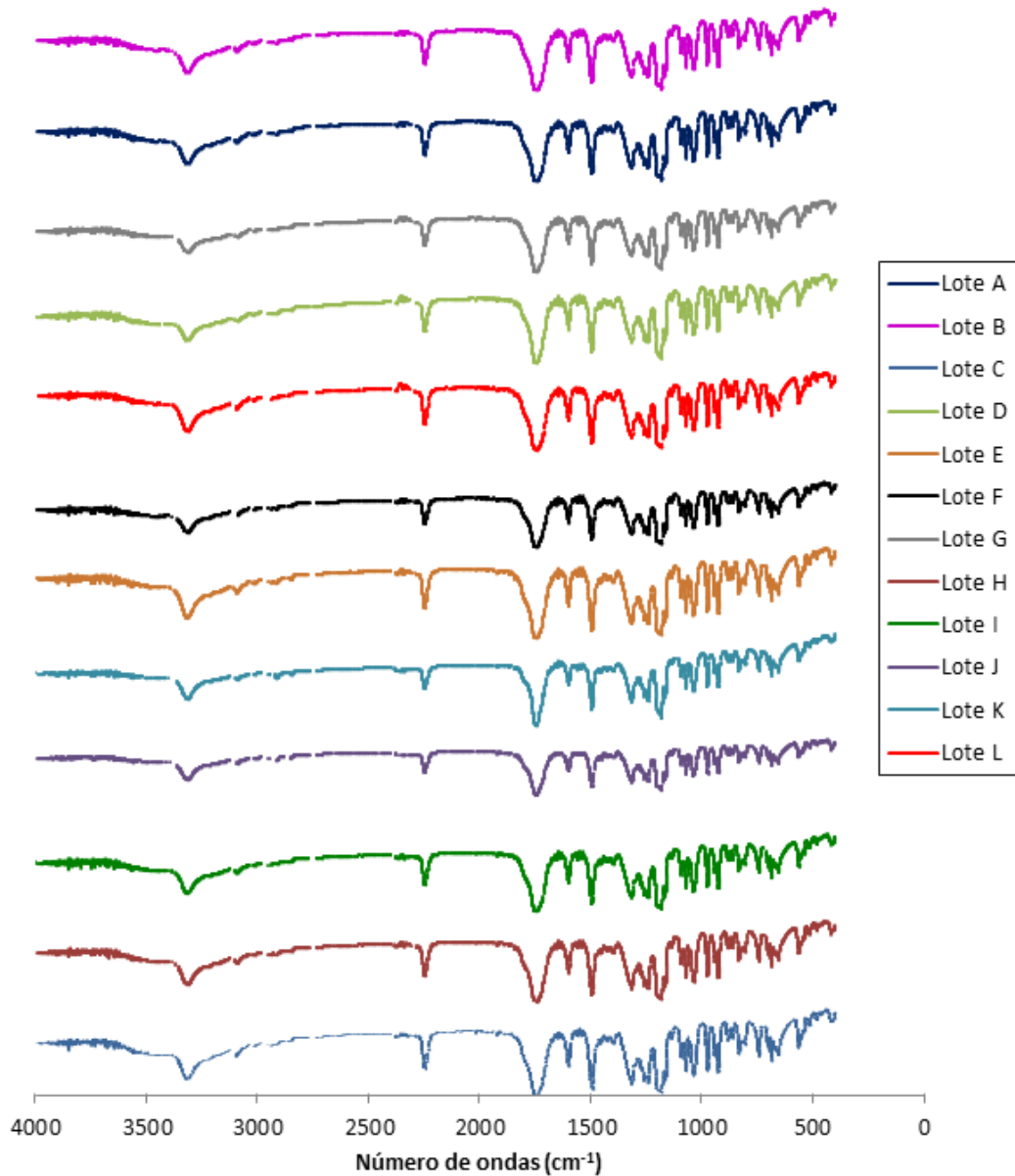


Figura 8. Espectro de infravermelho dos lotes do efavirenz.

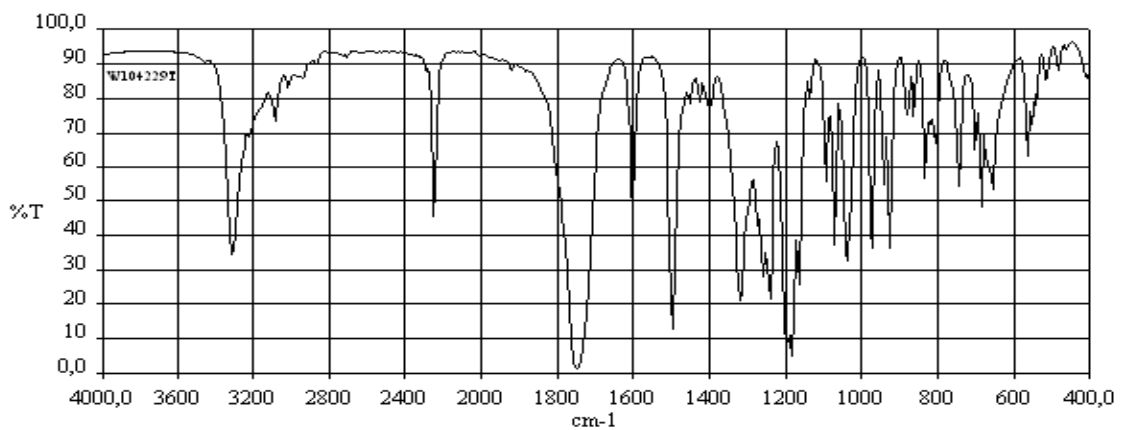


Figura 9. Espectro de Infravermelho do padrão do efavirenz (THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEA, 2011).

As principais bandas do efavirenz observadas foram: em 3300 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  a deformação axial referente a ligação N - H da amida secundária; em em 2260 a 2100  $\text{cm}^{-1}$  a deformação axial referente a ligação tripla do alcino; e em 1690 a 1630  $\text{cm}^{-1}$  a deformação axial da carbonila da lactona.

#### **4.1.3. Difração por Raios-X (DRX)**

A Figura 10 representa os difratogramas obtidos dos diferentes lotes do efavirenz. Como pode ser observado, todos os lotes apresentaram os mesmos sinais no difratograma, o que demonstra se tratar da mesma estrutura cristalina. Trata-se da Forma I dos polimorfos do efavirenz em todos os casos, como pode ser observado na Figura 11 (MAHAPATRA *et al.*, 2010).

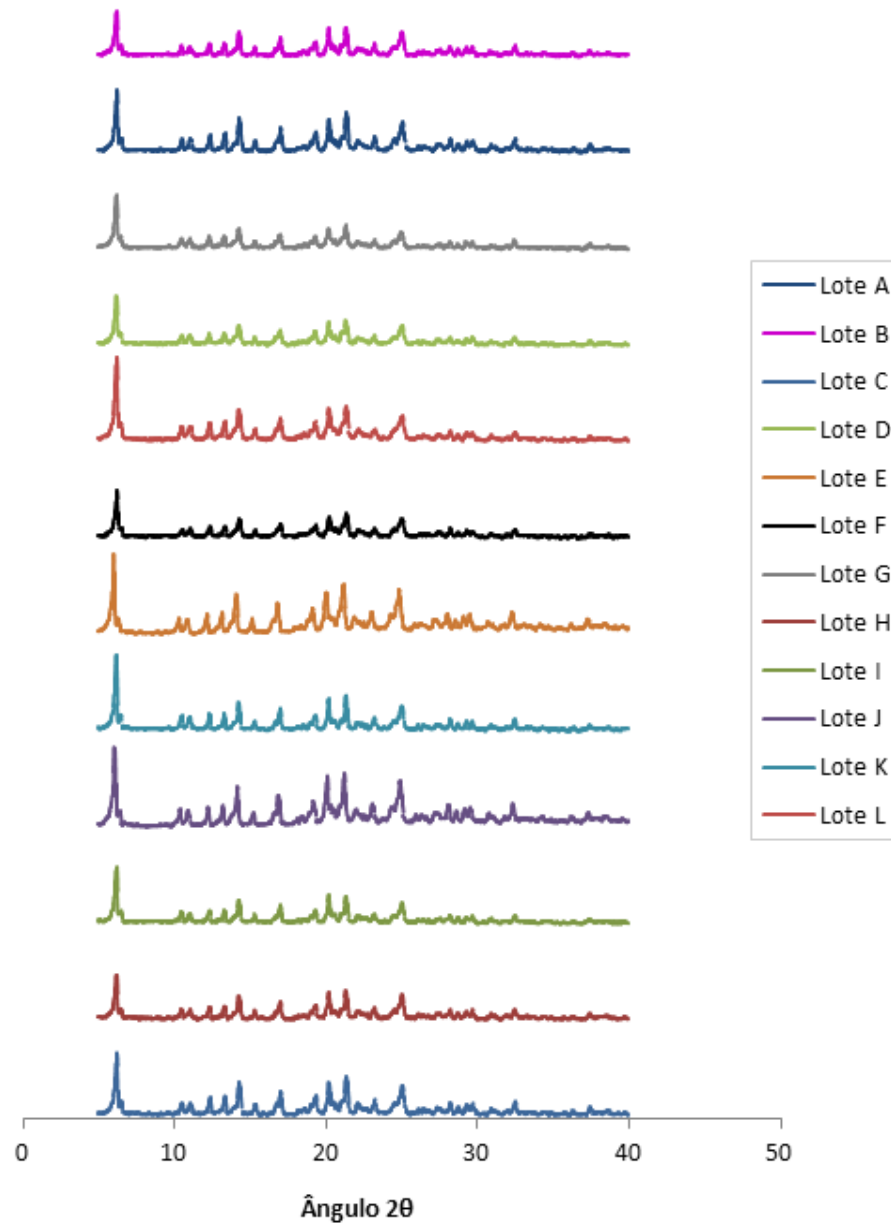


Figura 10. Difratoograma dos lotes de efavirenz.

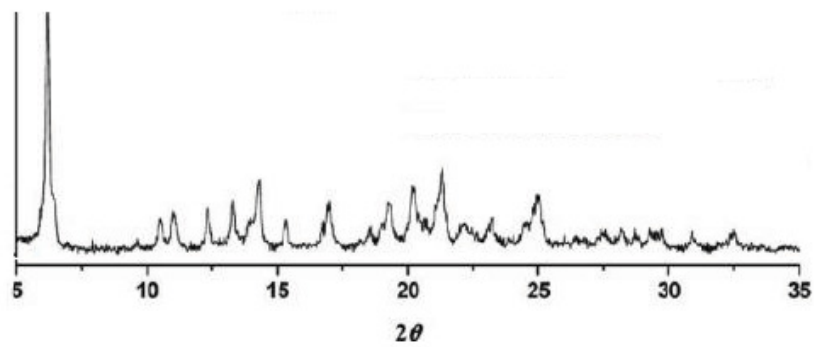


Figura 11. Difratoograma do polimorfo 1 do efavirenz (Adaptado de MAHAPATRA *et al.*, 2010).

#### 4.1.4. Análise Calorimétrica de Varredura Diferencial (DSC)

Os gráficos correspondentes às análises de DSC dos diferentes lotes do efavirenz estão apresentados na Figura 12, através da qual é possível observar uma endoterma correspondente a faixa de fusão em 139-141°C para todos os lotes.

A temperatura média de início da endoterma para os lotes foi de 138,7°C e a final de 140,5°C, e o valor médio de entalpia encontrado foi de -44,58 J/g. Tais dados, assim como o perfil observado na Figura 12, correspondem ao comportamento do fármaco efavirenz quando submetido a uma taxa crescente de aquecimento (SATHIGARI *et al.*, 2009; MAHAPATRA *et al.*, 2010).

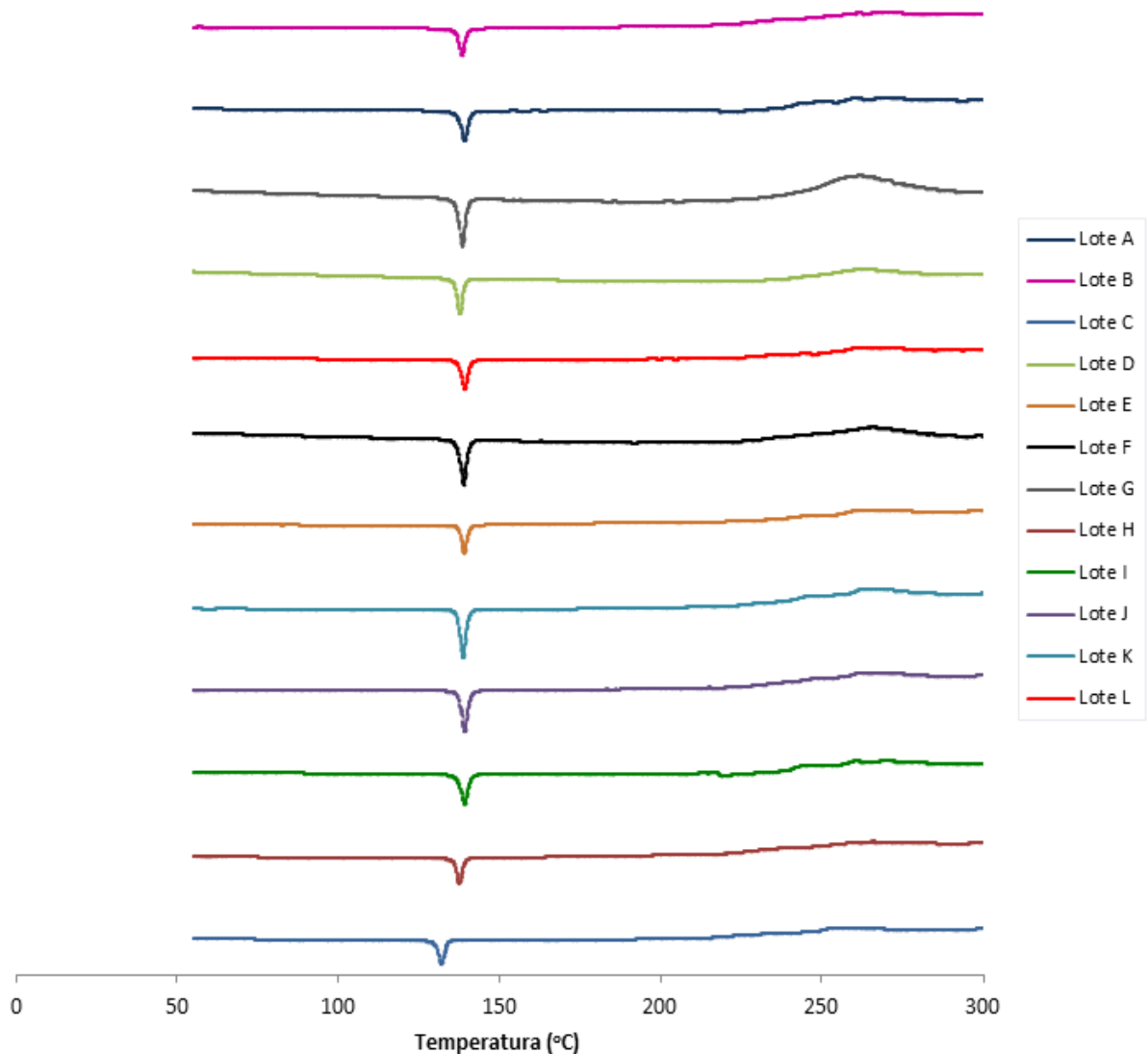


Figura 12. Gráfico da análise exploratória diferencial por varredura dos lotes do efavirenz.

#### 4.1.5. Análise Termogravimétrica

A Figura 13 representa as curvas de decomposição do efavirenz em função da temperatura. A média inicial de massa entre os lotes de efavirenz utilizada foi de 3,54 mg. Os resultados foram demonstrados em perda percentual de massa, a perda média foi de 78,84% de massa, e a temperatura média na qual foi demonstrada esta perda foi de 245°C. Destaca-se a maior perda de massa no lote F, que foi de 86,65%, e as menores perdas percentuais de massa foram encontradas nos lotes I e E, que foram, respectivamente, de 70,78% e 72,10%.

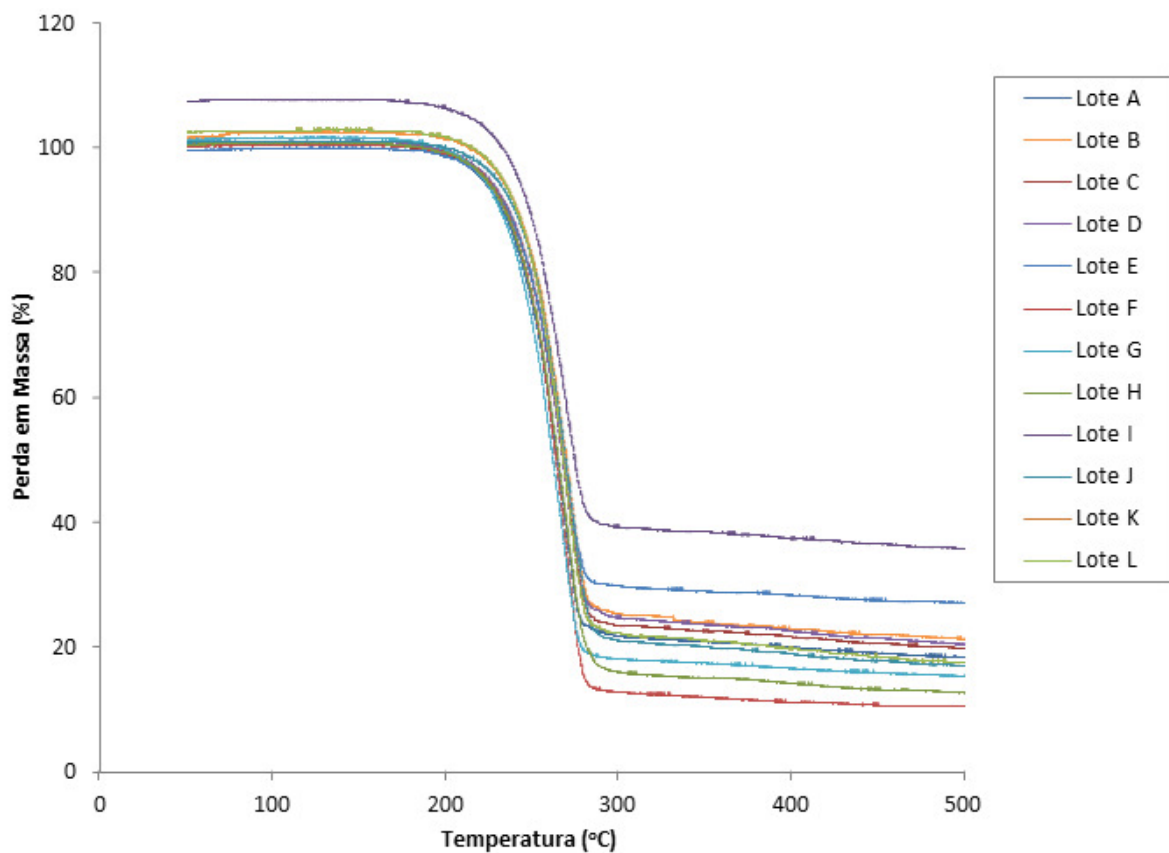


Figura 13. Gráfico da análise termogravimétrica dos lotes do efavirenz.

#### 4.1.6 Análise de Tamanho de Partícula

A distribuição de tamanho das partículas dos diferentes lotes do efavirenz está representada nas Figuras 14 e 15 e na Tabela 11. Foram representados os valores de média, mediana, moda, e os parâmetros  $d(0,1)$ ,  $d(0,5)$  e  $d(0,9)$ , assim como o valor do índice de polidispersão. Este índice é calculado pela diferença entre  $d(0,9)$  e  $d(0,1)$ , seguido de divisão por  $d(0,5)$ , e representa a variação do tamanho



de partícula de determinado lote em análise em relação a sua média, ou seja, indica o quão disperso os tamanhos das partículas estão em relação ao valor central.

Diferentes médias de tamanho de partículas foram encontrados nos diferentes lotes, assim como índices de polidispersão distintos entre os lotes. Destacam-se os lotes A e D como os lotes com menores tamanhos de partícula, e os lotes B e E como os lotes que possuem os maiores tamanhos das partículas. Em relação a média do tamanho das partículas, os lotes A, D, G, I e L apresentaram valores em torno de 2,3  $\mu\text{m}$ , os lotes C, F, H, J e K apresentaram valores próximos a 3,4  $\mu\text{m}$ , e os lotes B e E, apresentaram os maiores tamanhos médios de partícula, respectivamente, de 5,779  $\mu\text{m}$  e 4,980  $\mu\text{m}$ .

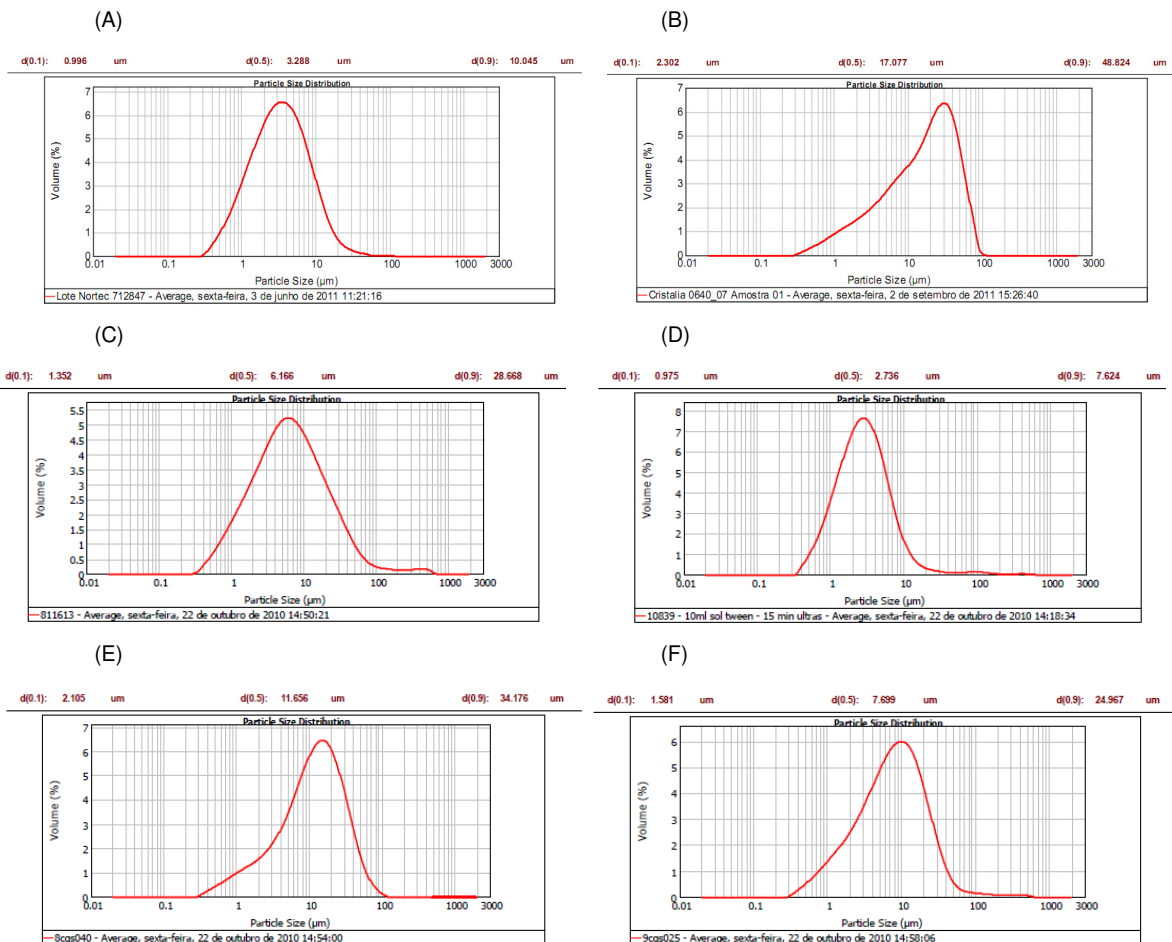


Figura 14. Análise de tamanho de partícula do Lote A (A), Lote B (B) Lote C (C), Lote D (D), Lote E (E) e Lote F (F).

A mediana representa o valor acima do qual a metade das partículas se encontram, e, de maneira geral, os valores de mediana encontrados foram superiores aos respectivos valores de média, com destaque para os lotes B, E e J. O

parâmetro moda indica o tamanho de partícula mais freqüente no lote avaliado e, em algumas situações, é o parâmetro mais representativo em relação ao tamanho da partícula. Destaca-se o valor de 21,825  $\mu\text{m}$  referente a moda do lote B, indicando que este lote apresenta o maior tamanho de partícula dentre os doze lotes de efavirenz avaliados. Valores de moda superiores aos respectivos valores de média e mediana foram observados em todos os lotes de efavirenz, com destaque para os lotes B, C, E, F, G e J.

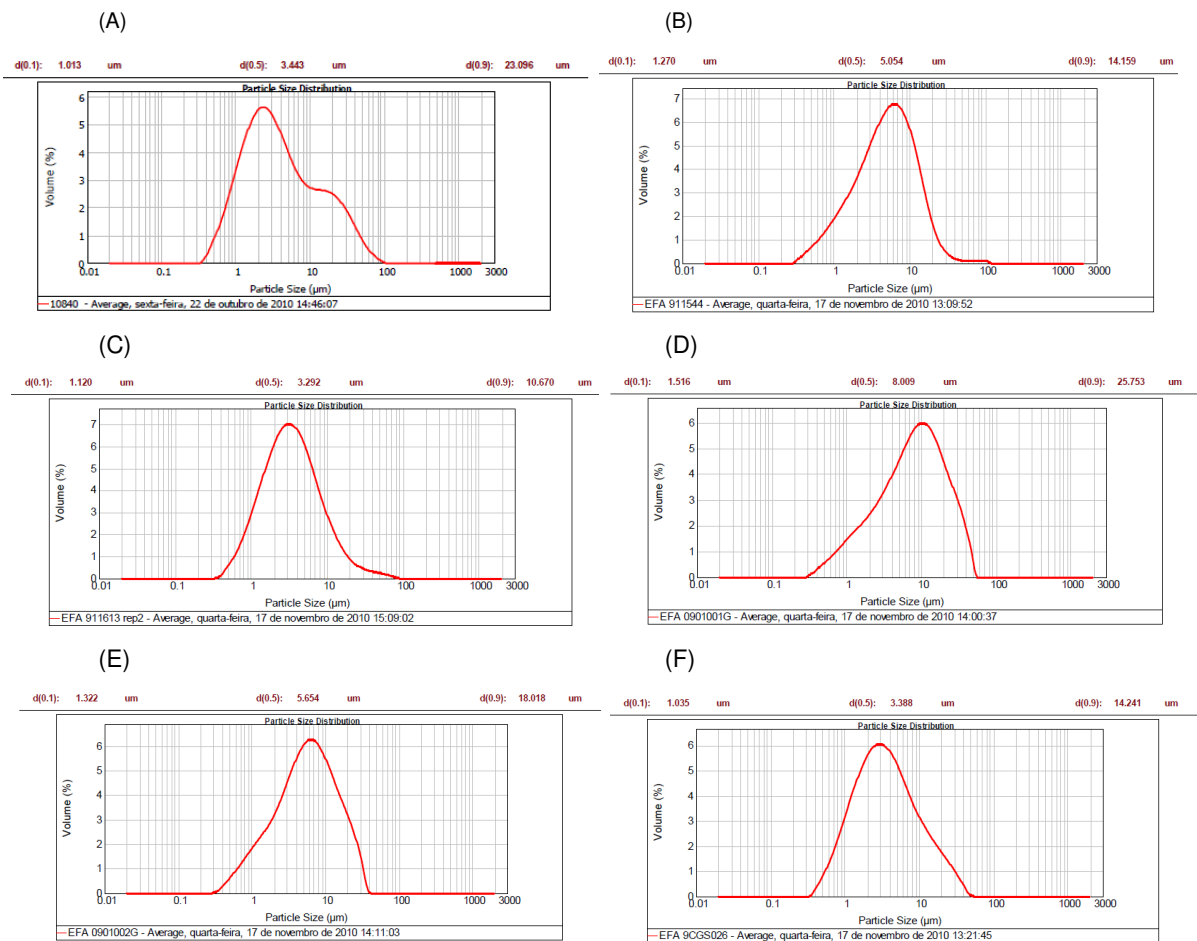


Figura 15. Análise de tamanho de partícula do Lote G (A), Lote H (B) Lote I (C), Lote J (D), Lote K (E) e Lote L (F).

Considerando as distribuições acumulada do diâmetro da partícula, foi observado valor de  $d(0,1)$  menor que 1  $\mu\text{m}$  para os lotes A e D, enquanto que nos lotes B e E, foram observados valores superiores a 2  $\mu\text{m}$ . Destaca-se, também, o elevado valor de  $d(0,9)$  dos lotes B e E, confirmando que estes dois lotes possuem os maiores tamanhos de partícula dentre os lotes de efavirenz avaliados.

Conforme citado anteriormente, o índice de polidispersão permite avaliar o quão disperso está o diâmetro das partículas em relação ao valor central. Índices de polidispersão elevados foram encontrados nos lotes C, F, G, J e L, com destaque para os lotes C e G, demonstrando que nestes lotes o diâmetro das partículas variou significativamente.

Tabela 11. Distribuição granulométrica das partículas dos lotes do efavirenz ( $\mu\text{m}$ )

Lote	Média	Mediana	Moda	$d(0,1)^1$	$d(0,5)^1$	$d(0,9)^1$	Índice de Polidispersão
A	2,213	3,288	4,860	0,996	3,288	10,045	2,7521
B	5,779	17,077	21,825	2,302	17,077	48,824	2,7242
C	3,341	6,166	15,377	1,352	6,166	28,668	4,4301
D	2,037	2,736	5,558	0,975	2,736	7,654	2,4412
E	4,980	11,656	15,657	2,105	11,656	34,174	2,7513
F	3,833	7,699	13,484	1,581	7,699	24,967	3,0375
G	2,378	3,443	8,336	1,013	3,443	23,096	6,4139
H	2,934	5,054	6,991	1,127	5,054	14,159	2,5503
I	2,397	3,392	5,287	1,120	3,392	10,670	2,8154
J	3,783	8,009	11,104	1,516	8,009	25,753	3,0262
K	3,176	5,654	7,853	1,322	5,654	18,018	2,9530
L	2,341	3,388	5,882	1,035	3,388	14,241	3,8979

<sup>1</sup>  $d(0,1)\mu\text{m}$ ,  $d(0,5)\mu\text{m}$  e  $d(0,9)\mu\text{m}$  correspondem 10, 50 e 90% da distribuição acumulada do diâmetro da partícula, respectivamente;  $n=3$ .

#### 4.1.7. Área Superficial

Os valores médios referentes as determinações da área superficial para os diferentes lotes do efavirenz estão representados na Tabela 12. A área superficial pode ser utilizada na correlação entre tamanho de partícula e solubilidade (LEUNER & DRESSMAN, 2000). Foi possível observar variação significativa entre os valores de área superficial obtidos, em destaque o lote A, que apresentou uma área superficial superior aos demais, e o lote B, que demonstrou o menor valor. Os valores de área superficial encontrados estão de acordo com os valores de tamanho de partícula descritos na Tabela 11.

Por exemplo, no lote A, que obteve área superficial 8,6790 m<sup>2</sup>/g, o maior valor de área superficial dentre os doze lotes avaliados, possui o menor valor de tamanho de partícula, como pode ser observado pelo valor de moda deste lote de 4,860 µm. Por sua vez, o lote B, cujo valor de área superficial foi de 2,0030 m<sup>2</sup>/g, possui o maior valor de tamanho de partícula, que pode ser observado tanto pelo valor de moda de 21,825 µm, quanto pelos valores de média e mediana, respectivamente, de 5,779 µm e 17,077 µm. A relação inversa entre tamanho de partícula e área superficial também foi observada nos demais lotes. A determinação do valor de área superficial para o Lote K não foi possível devido a sua quantidade limitada.

Tabela 12. Área superficial dos lotes de efavirenz

Lote	Área Superficial (m <sup>2</sup> /g)
A	8,6790
B	2,0030
C	3,8942
D	6,2574
E	2,7394
F	5,2303
G	5,0674
H	4,7553
I	3,6902
J	3,1392
K	-----
L	4,8203

n=3

#### 4.1.8. Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)

As Figuras 16, 17 e 18 demonstram o aspecto dos lotes de efavirenz analisados através da microscopia eletrônica por varredura. Foram observados cristais na forma de bastões longos e curtos, e as diferenças encontradas no tamanho da partícula e na área superficial descritas, respectivamente, nas Tabelas 11 e 12, foram visualizadas através da MEV.

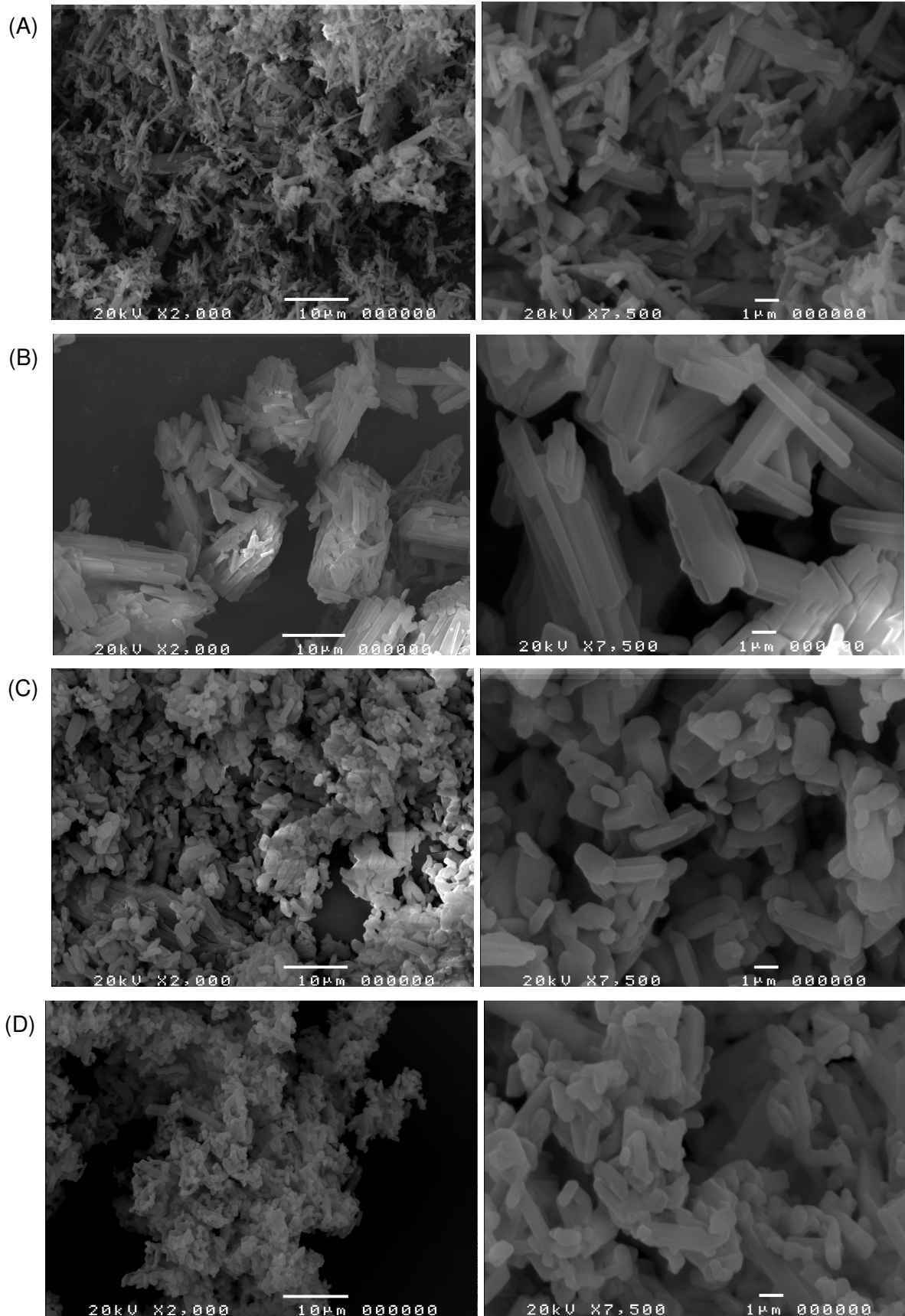


Figura 16. Microscopia eletrônica por varredura do Lote A (A), Lote B (B), Lote C (C) e Lote D (D) nos aumentos de 2000 e 7500 X.

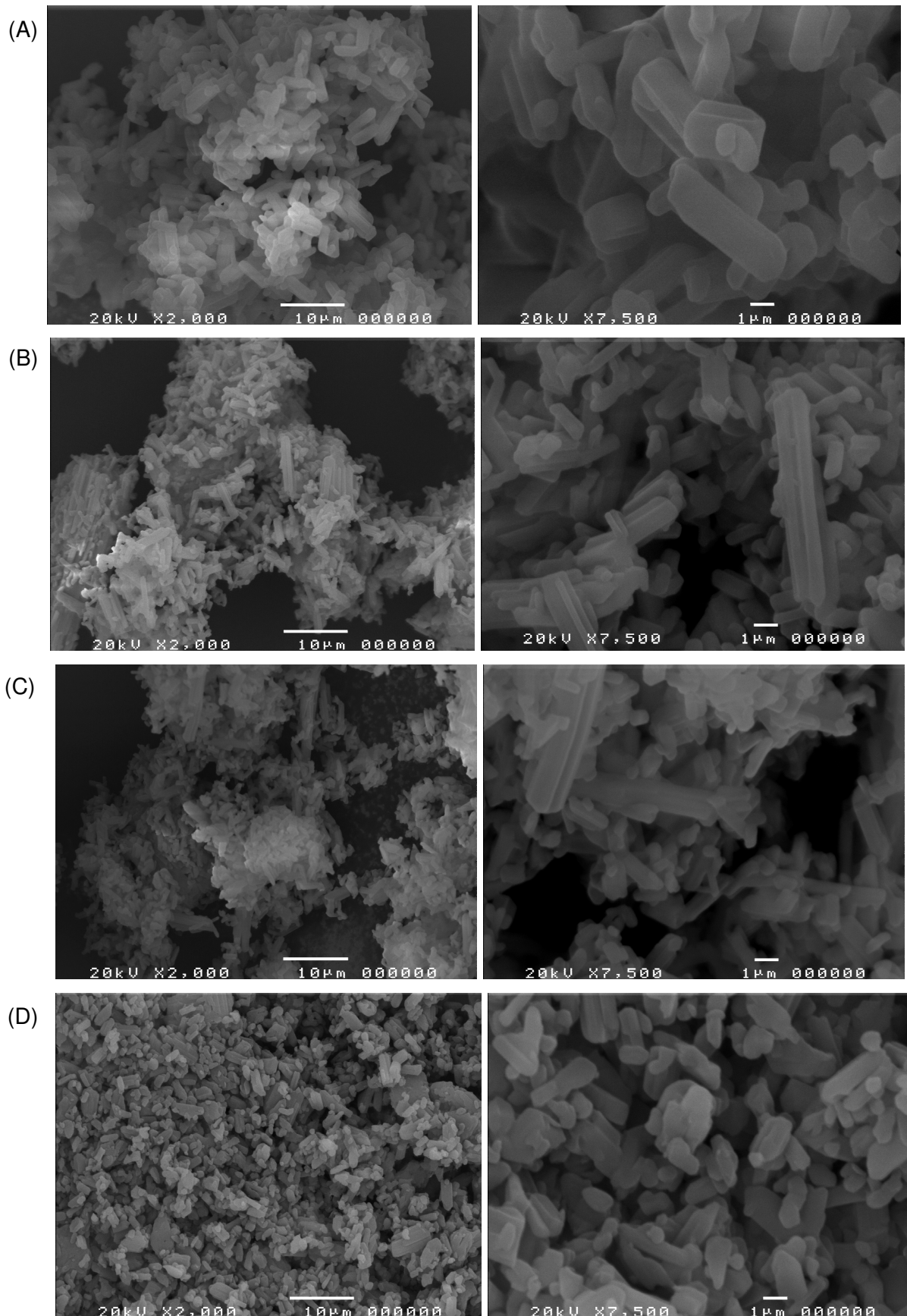


Figura 17. Microscopia eletrônica por varredura do Lote E (A), Lote F (B), Lote G (C) e Lote H (D) nos aumentos de 2000 e 7500 X.

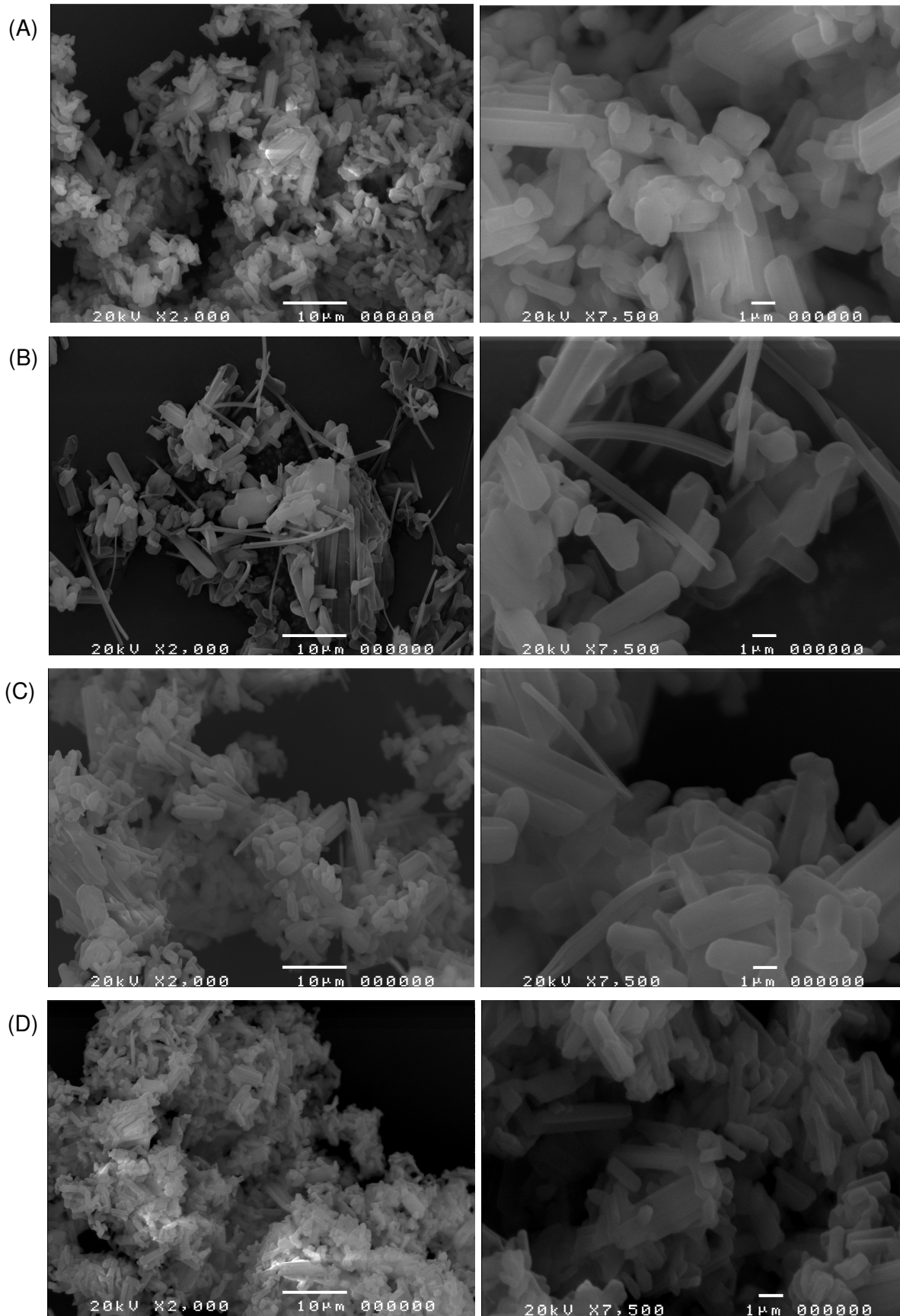


Figura 18. Microscopia eletrônica por varredura do Lote I (A), Lote J (B), Lote K (C) e Lote L (D) nos aumentos de 2000 e 7500 X.



O tamanho dos lotes B e E observados, respectivamente, nas Figuras 16 e 17, foi comparativamente superior aos demais lotes, notoriamente no aumento de 7500 X. Destaca-se o aspecto do lote B, que apresentou cristais na forma de bastões, predominantemente longos e aglomerados, justificando o elevado valor médio de diâmetro das partículas e o baixo valor de área superficial encontrados neste lotes, respectivamente, de 5,779  $\mu\text{m}$  e 2,0030  $\text{m}^2/\text{g}$ .

Foi possível observar nos lotes A e D, apresentados na Figura 16, e nos lotes I e L, apresentados na Figura 18, a presença de partículas de pequeno tamanho comparativamente aos demais lotes. Tal fato está de acordo com os valores de tamanho da partícula destes lotes, notoriamente a moda que foi, respectivamente, de 4,860  $\mu\text{m}$ , 5,558  $\mu\text{m}$ , 5,287  $\mu\text{m}$  e 5,882  $\mu\text{m}$  para os lotes A, D, I e L.

#### 4.1.9. Teste de Karl Fisher

Os percentuais de umidade presentes nas amostras obtidos através desta metodologia foram descritos na Tabela 13. A Farmacopeia Brasileira considera o máximo de 0,5% como limite de aceitação. De acordo com esta metodologia, apenas o lote K encontra-se fora da especificação.

Tabela 13 Umidade por Karl Fisher dos lotes do efavirenz

Lote	% Água
A	0,3306
B	0,2300
C	0,1642
D	0,1597
E	0,1593
F	0,1567
G	0,3306
H	0,2658
I	0,2739
J	0,3077
K	0,6295
L	0,2400

n=3



#### 4.1.10. Doseamento

Os diferentes lotes do fármaco efavirenz foram avaliados conforme metodologia descrita na Farmacopéia Americana, como pode ser observado na Tabela 14. O teor encontrado para a maioria dos lotes está de acordo com a faixa 98,0 a 102%, exceto os lotes C, I e K, que apresentaram valores ligeiramente superiores.

Tabela 14. Teor dos lotes do IFA Efavirenz

	Teor (%)
A	98,99 ± 0,50
B	99,00 ± 0,50
C	102,39 ± 1,04
D	100,89 ± 0,66
E	100,69 ± 1,07
F	100,47 ± 1,24
G	99,94 ± 0,71
H	101,15 ± 0,89
I	102,35 ± 1,61
J	99,83 ± 0,69
K	102,96 ± 2,02
L	101,44 ± 1,03

Média ± DPR; n=3

## 4.2. SOLUBILIDADE

### 4.2.1. Metodologia de Quantificação

Foi realizado teste comparativo da quantificação do fármaco submetido ao teste de solubilidade através da avaliação concomitante das amostras em Espectrofotômetro UV-Vis e em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE). A metodologia de CLAE utilizada foi a descrita no Fórum da Farmacopéia Americana para o teste de teor (USP FORUM, 2007). Alíquotas do teste de solubilidade foram retiradas em 2, 4, 6, 24 e 48 horas e posteriormente analisadas pelas duas técnicas.

Também foi avaliado o efeito de agitação vigorosa no início do teste (Equipamento Turrax) por 30 minutos e o aquecimento das amostras durante o teste. Foram preparadas curvas-padrão para quantificação do fármaco (Figura 20) e determinadas as concentrações das amostras, que foram descritas na Tabela 15.

Foram encontrados valores próximos para a solubilidade através das duas técnicas de quantificação avaliadas, e optou-se pela utilização da técnica de quantificação do fármaco no teste de solubilidade através do uso de Espectrofotômetro, devido a facilidade e rapidez da análise, e baixo custo comparativo para realização do teste.

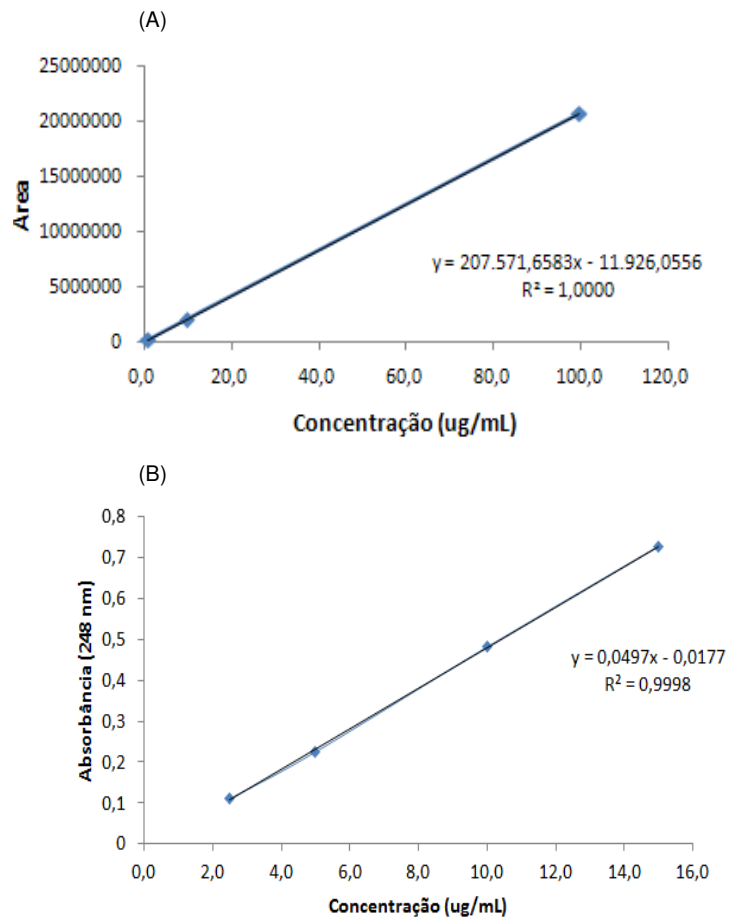


Figura 20. Curvas-padrão para a quantificação de efavirenz em CLAE (A) e Espectrofotômetro (B).

Tabela 15. Comparativo da concentração do efavirenz no teste de solubilidade

Amostras	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) –	
	CLAE	Espectrofotômetro
2 h	7,5198	7,9962
4 h	8,2026	8,1226
6 h	8,5131	8,9415
24 h	8,1958	8,5321
24 h <i>Turrax</i>	8,0265	8,8264
24 h Aquecimento	8,3266	8,1358
48 h	7,4764	7,8849

Valor médio; n=3.

Em paralelo a quantificação foi realizada a pesquisa de produtos de degradação nas amostras submetidas ao teste de solubilidade (USP FORUM, 2007). O espectro UV-Vis do efavirenz e da impureza 1 foram representados na Figura 21. A amostra de 24 horas, padrão no teste de solubilidade, foi avaliada em diferentes tempos do pico do efavirenz, com objetivo de avaliar sua pureza, como pode ser observado na Figura 22, demonstrando presença apenas do fármaco nos tempos avaliados. A avaliação da amostra em diferentes comprimentos de onda ao longo de toda a corrida, como pode ser observada na Figura 23 através do espectro em fotodiodos, indica que nas condições em que o teste de solubilidade foi realizado, foi possível quantificar apenas o fármaco no comprimento de onde 248 nm, sem produtos de degradação ou substâncias relacionadas.

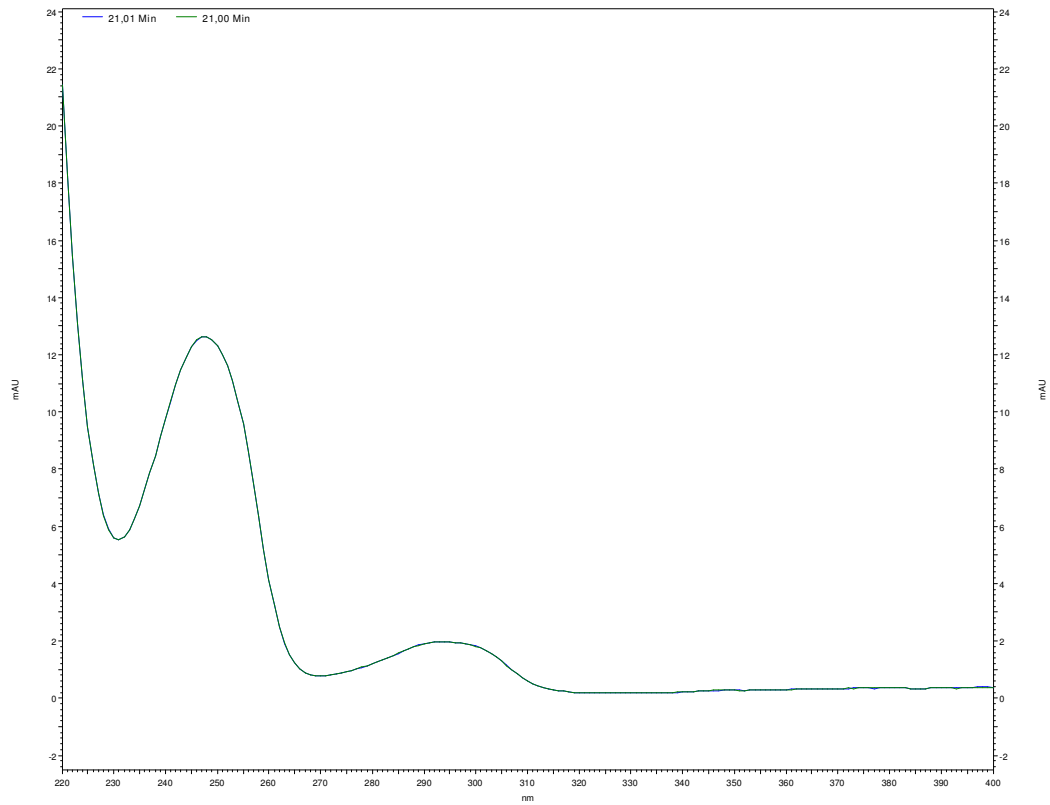


Figura 21. Espectro UV-VIS de Efavirenz (verde) e Impureza 1 (vermelho).

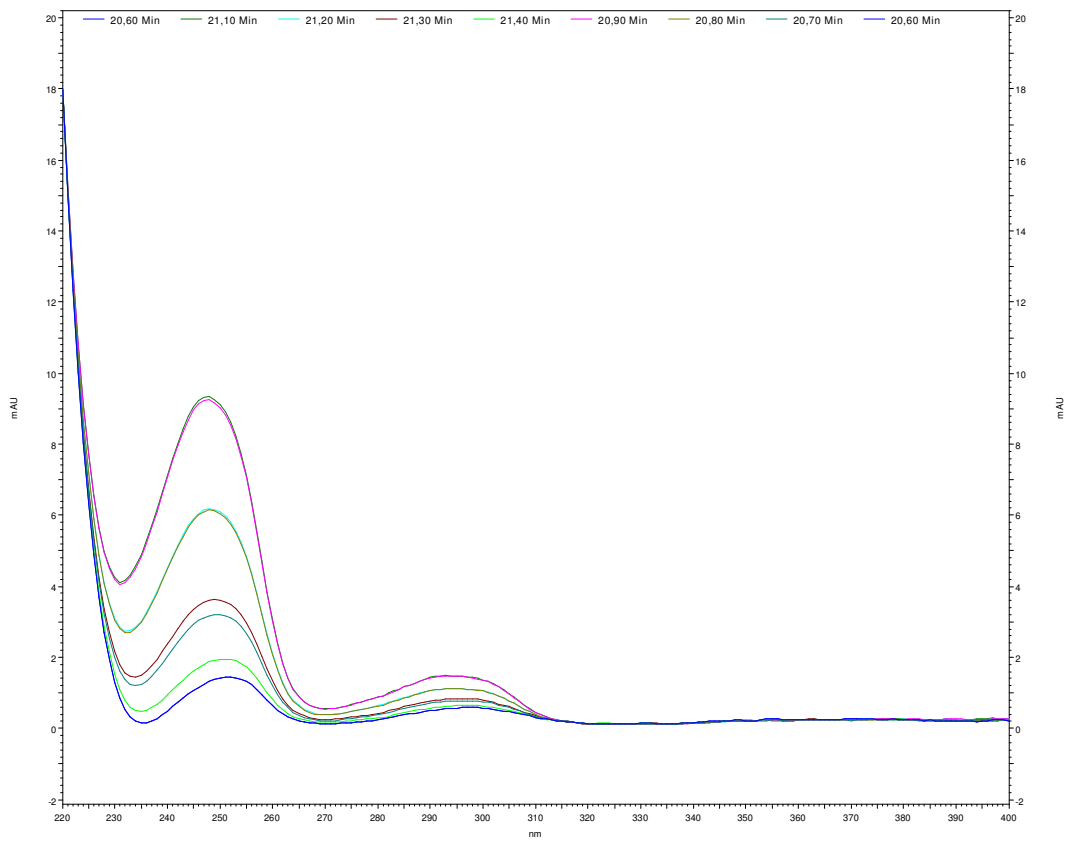


Figura 22. Espectro UV-VIS sobreposto em diferentes tempos do pico de efavirenz.

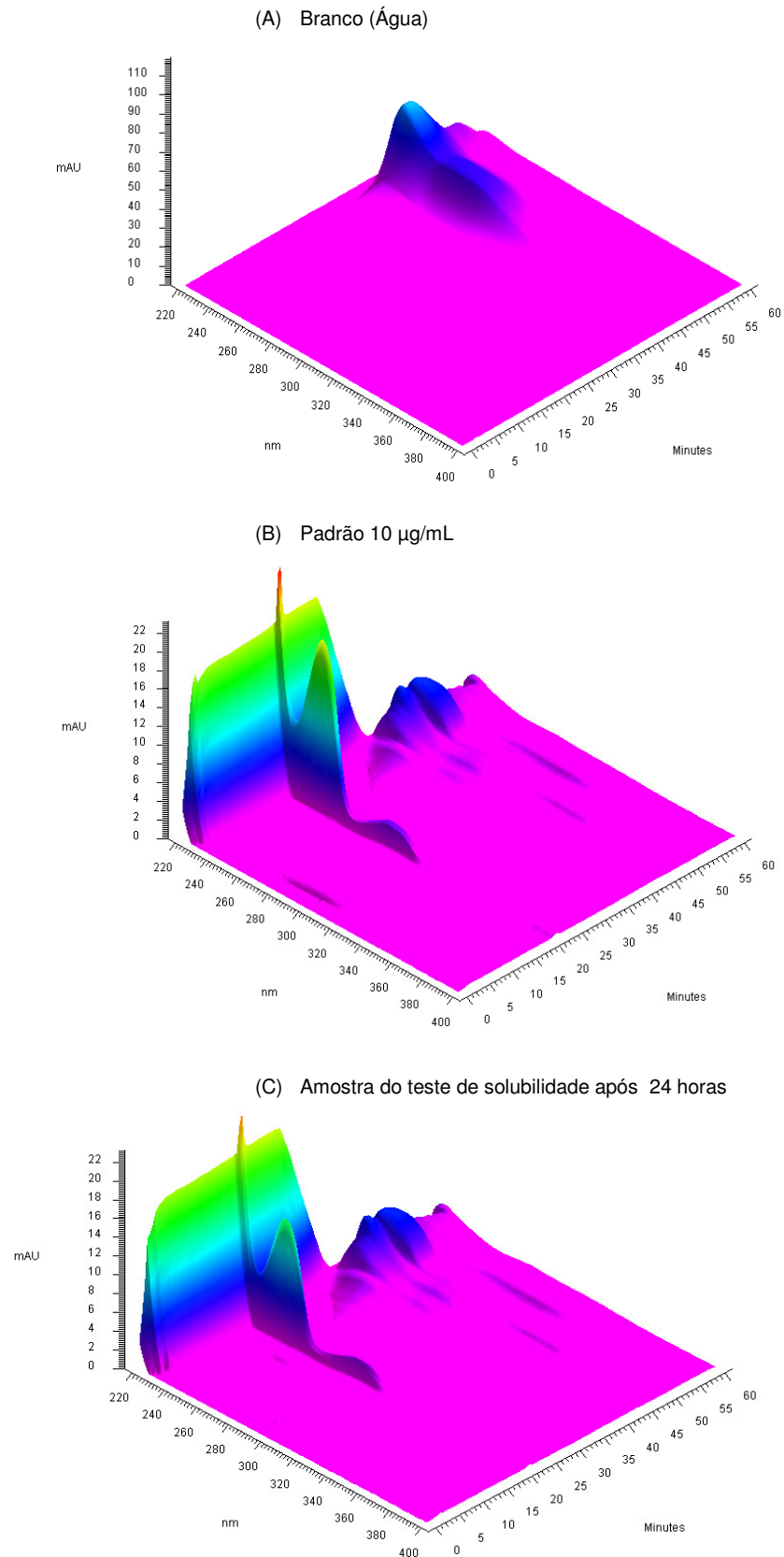


Figura 23. Espectro em fotodiodos para pesquisa por substâncias relacionadas no teste de solubilidade. (A) Branco (Água), (B) Padrão Efavirenz, (C) Amostra do teste de solubilidade após 24 horas.

### 4.2.3. Determinação da Solubilidade

Foi determinada a solubilidade do efavirenz, utilizando o lote D do fármaco, nos meios mostrados na Figura 24, a 25°C sob agitação magnética e com as amostras protegidas da luz. Foi possível observar aumento da solubilidade do fármaco com a adição do tensoativo LSS nos quatro meios avaliados. A solubilidade do fármaco foi maior no meio suco entérico simulado nas três concentrações do tensoativo. O pH nos respectivos meios também foi avaliado e foi demonstrado na Tabela 16. A adição do LSS aos meios, embora aumente consideravelmente a solubilidade, não teve efeito significativo nos valores de pH, exceto no meio água.

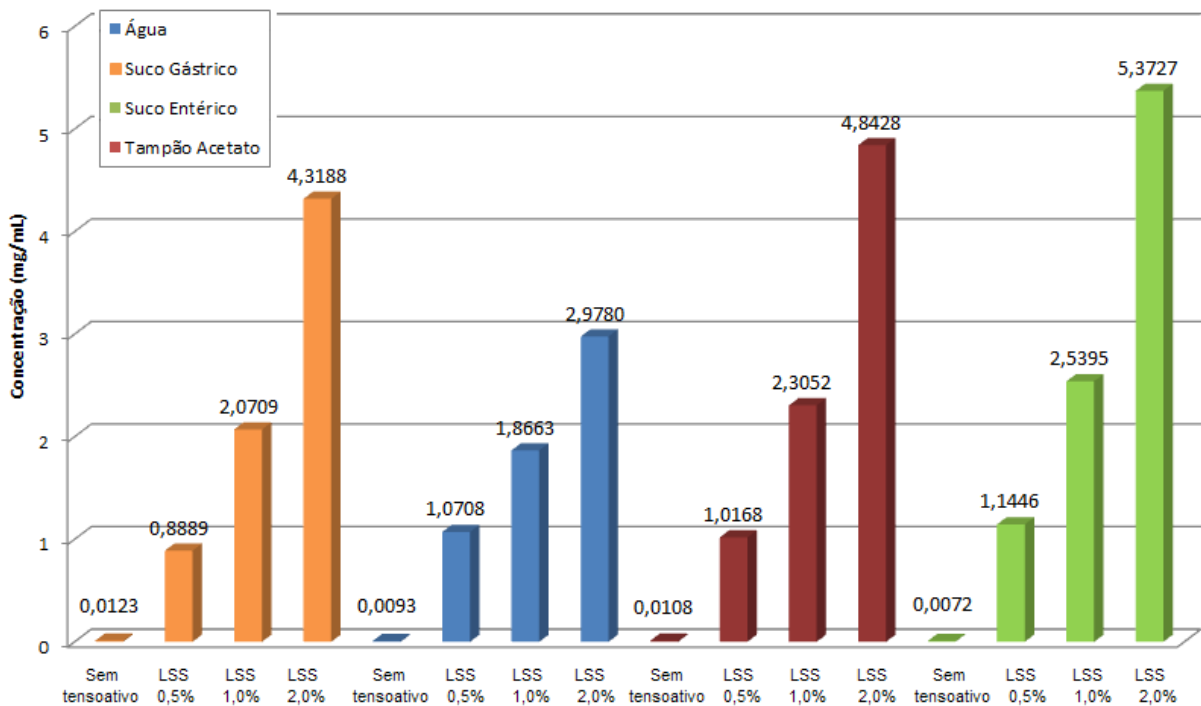


Figura 24. Solubilidade de efavirenz em diferentes meios.

Os valores de solubilidade permitem avaliar se o fármaco encontra-se em condições *sink* no meio a ser testado, ou seja, se está num meio com volume superior ao menos 3 vezes o necessário para a saturação da massa adicionada. Considerando uma cuba de dissolução com 900 mL de meio e 600 mg de massa nos comprimidos de efavirenz, não foram obtidas condições *sink* na concentração de LSS 0,5% para os quatro meios avaliados. Entretanto, o volume de 900 mL nestas

condições de dissolução, demonstra-se capaz de solubilizar toda a massa de 600 mg de efavirenz. Foram obtidas condições *sink* nos demais meios de dissolução considerando as concentrações de 1,0% e 2,0% de LSS.

Tabela 16. pH do efavirenz em diferentes meios

Meio	Sem tensoativo	LSS 0,5%	LSS 1,0%	LSS 2,0%
Suco gástrico	1,21	1,27	1,29	1,33
Água	5,49	6,39	7,55	7,75
Tampão Acetato	4,57	4,63	4,61	4,66
Suco entérico	6,76	6,72	6,67	6,65

Foi realizado teste de solubilidade comparativa entre os lotes de efavirenz com as amostras mantidas a 37°C por 24 horas em agitação magnética e protegidas da luz. Os resultados foram descritos na Figura 25. O Lote C obteve maior valor de solubilidade nos três meios avaliados e estatisticamente diferentes dos demais ( $P < 0,01$ ). Embora este lote apresente elevado índice de polidispersão das partículas, como pode ser observado na Tabela 11, o valor médio de tamanho de partícula de 3,341  $\mu\text{m}$  não foi inferior aos demais lotes, no sentido de justificar maior solubilidade.

Dentre as possíveis explicações para tal fato, pode-se citar uma possível diferença na constituição polimórfica deste lote, possivelmente a presença de percentual de material amorfo, entretanto a análise de DRX realizada e apresentada na Figura 10, não demonstrou diferença polimórfica entre os lotes de efavirenz analisados.

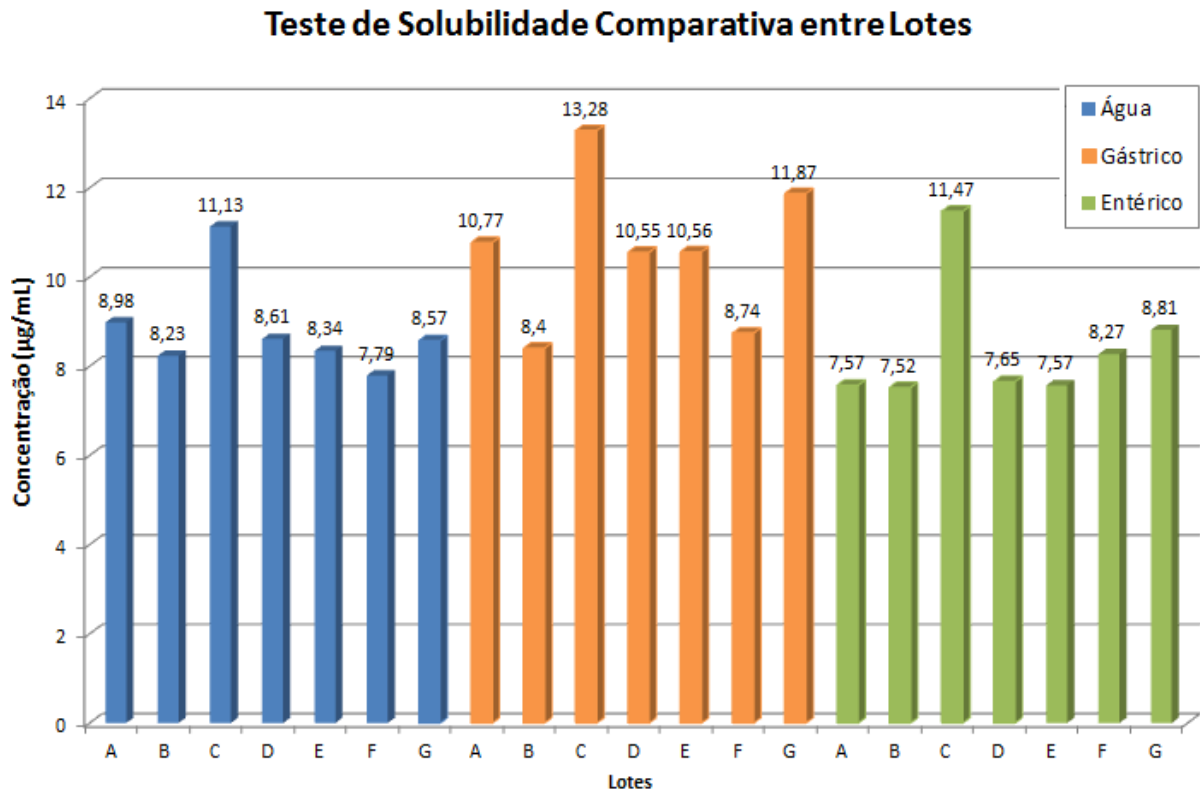


Figura 25. Solubilidade comparativa entre lotes do efavirenz nos meios suco gástrico, água e suco entérico.



### 4.3. DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS

Os comprimidos do efavirenz produzidos com fármacos dos lotes A e B foram avaliados comparativamente em relação ao seu perfil de dissolução. Ambos os lotes foram submetidos ao teste de biodisponibilidade, e o lote A foi considerado o lote com biodisponibilidade adequada, enquanto que o lote B foi reprovado neste teste. Na avaliação do perfil de dissolução, empregou-se as condições do ensaio descritas na Farmacopeia Americana (FA), Farmacopeia Brasileira (FB) e metodologia de Farmanguinhos (Far), como pode ser observado nas Figuras 26 e 27. Houve uma nítida diferença em relação ao percentual de fármaco dissolvido nos três métodos avaliados, sendo os maiores percentuais encontrados, para ambos os lotes, através da metodologia da FB, que comparativamente possui maior velocidade de rotação, 100 rpm, em relação a 50 rpm nas metodologias da FA e de Far.

Os lotes A e B apresentaram, respectivamente, 108,64% e 98,91%, de fármaco dissolvido ao final de 60 minutos quando se aplicou o método da FB. Na metodologia da FA foram obtidos 104,37% de fármaco dissolvido, em 60 minutos, para o lote A, e 91,56% para o lote B. Na monografia da FA, é descrito o uso de 2,0% de LSS, numa concentração superior ao descrito para as demais monografias e, embora a concentração do tensoativo na metodologia de FB seja de 1,0% de LSS, isto é, uma concentração menor que na FA, o efeito da velocidade de rotação demonstrado pela FB foi superior ao efeito da concentração do tensoativo, justificando os valores percentuais superiores encontrados através da metodologia da FB. A metodologia de Far, que possui a menor concentração do tensoativo, proporcionou os menores percentuais de fármaco dissolvido para ambos os lotes, 87,51% para o lote A e 66,93% para o Lote B ao final de 60 minutos.

No sentido de verificar qual destas metodologias permitiria maior discriminação entre os lotes avaliados, os resultados foram organizados de acordo com cada metodologia, como pode ser observado na Figura 28. Os fatores de semelhança e diferença, demonstrados na Tabela 18, foram avaliados no tempo de 30 minutos. A metodologia de Far demonstrou, dentre as analisadas, ser aquela com maior poder discriminativo, uma vez que em 30 minutos apresentou valores de F1 (F1=0 a 15) e F2 (F2=50 a 100), respectivamente, de 26,08 e 39,88. Estes dados também foram considerados estatisticamente diferentes ( $P < 0,001$ ) através da análise por ANOVA One-way, como demonstrado na Tabela 19. Foi observado o

valor de 46,44 para F2 através da metodologia da FB, ligeiramente inferior ao especificado de 50, porém esta diferença entre os perfis não foi confirmada pelos valores de F1 (12,26) e por ANOVA One-way ( $P > 0,05$ ). A metodologia da FA não foi capaz de perceber diferenças entre os comprimidos avaliados, uma vez que valores de F1 e F2 encontrados foram respectivamente de 8,75 e 55,25.

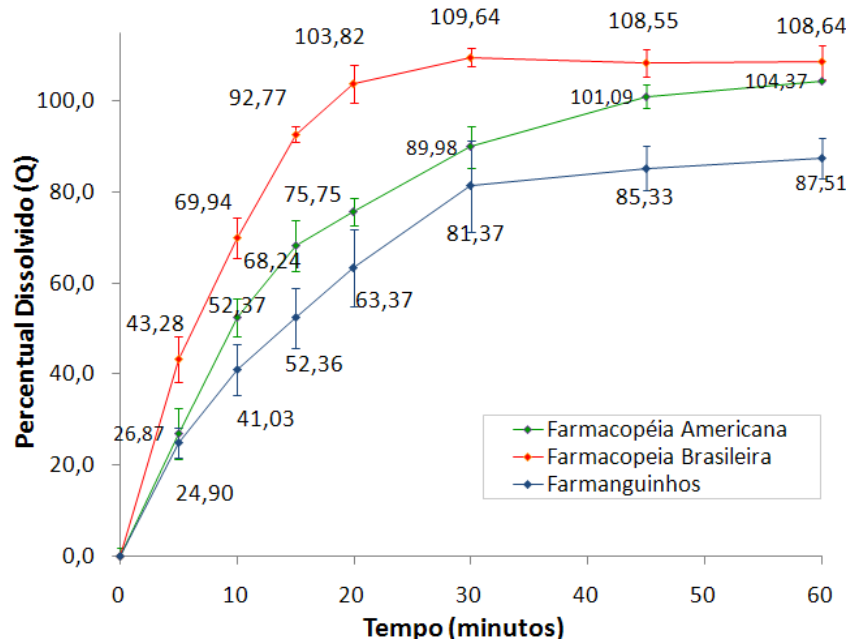


Figura 26. Perfil de dissolução de comprimidos produzidos com o lote A nas metodologias da FA, FB e de Far.

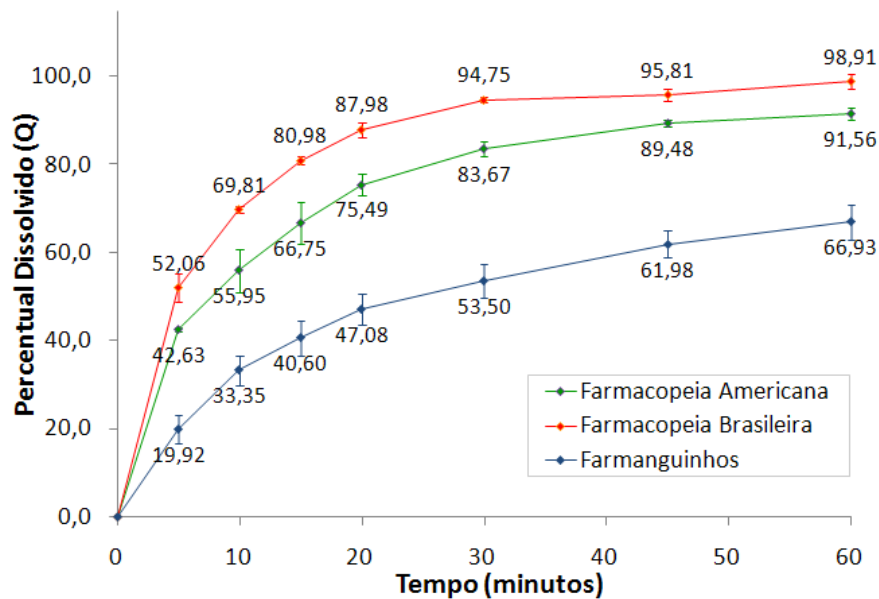


Figura 27. Perfil de dissolução de comprimidos produzidos com o lote B nas metodologias da FA, FB e de Far.

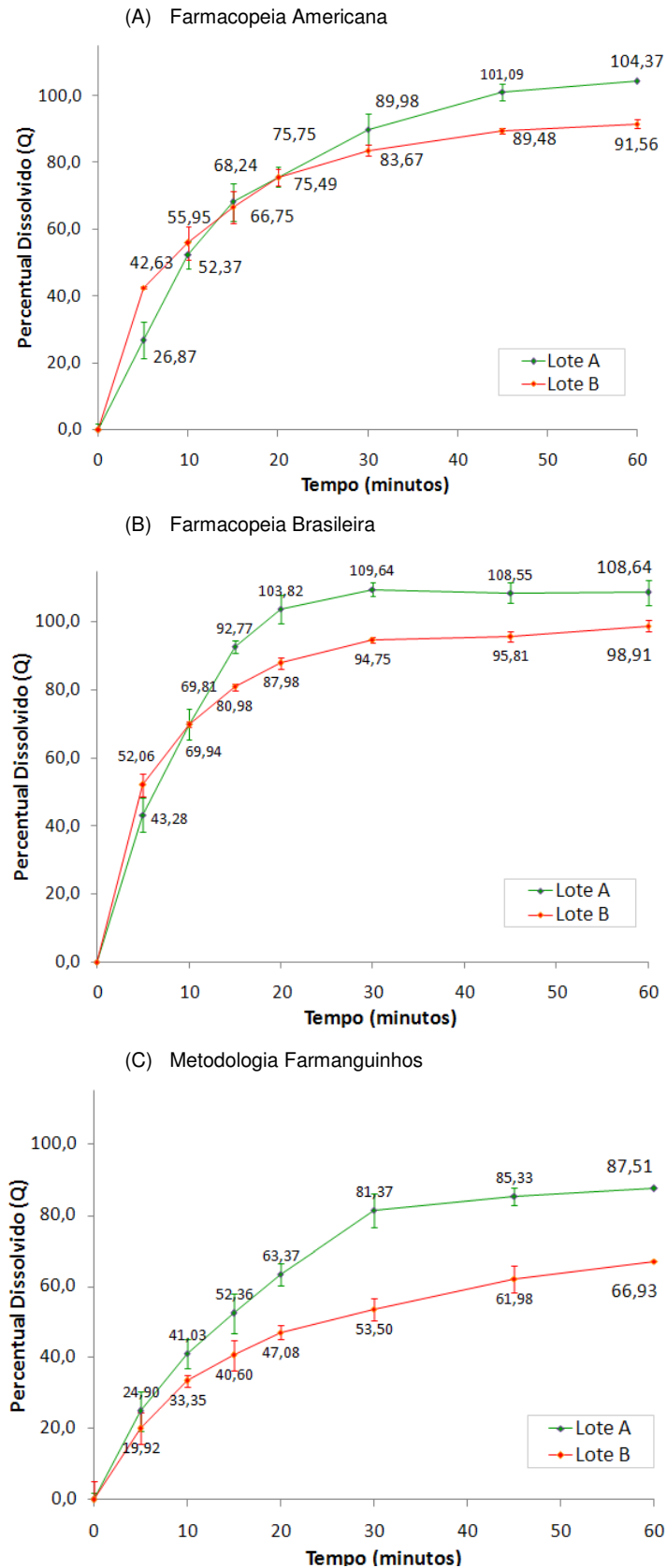


Figura 28. Comparativo entre os lotes A e B nas metodologias da Farmacopeia Americana (A), Farmacopeia Brasileira (B) e Farmanguinhos (C).

Tabela 18. Fatores de diferença (F1) e semelhança (F2) avaliados em 30 minutos nos ensaios de dissolução de comprimidos do efavirenz

Metodologia	F1	F2
Farmacopeia Americana	8,75	55,25
Farmacopeia Brasileira	12,26	<b>46,44</b>
Farmanguinhos	<b>26,08</b>	<b>39,88</b>

Tabela 19. Análise de variância dos comprimidos produzidos com o Lote A e Lote B

Metodologia	Variância
Farmacopeia Americana	P > 0,05
Farmacopeia Brasileira	P > 0,05
Farmanguinhos	<b>P &lt; 0,001</b>

O uso de tensoativos, como o LSS, em meios de dissolução para fármacos pouco solúveis, como o efavirenz, é comum (ROHRS, 2001; SILVA & VOLPATO, 2002; BROWN *et al.*, 2004; PARK *et al.*, 2006). Entretanto, dentre os fatores avaliados durante o desenvolvimento de um método de dissolução, a concentração do tensoativo deve ser analisada de acordo com o objetivo do teste de dissolução, principalmente quando se deseja um método de dissolução com poder discriminativo (ROHRS, 2001; BROWN *et al.*, 2004).

Um estudo realizado com o fármaco levotiroxina exemplifica esta questão da concentração do tensoativo como fator crucial na capacidade discriminativa de um método de dissolução, e demonstra, também, que uma metodologia de dissolução capaz de discriminar entre diferentes formulações do mesmo fármaco pode ser utilizada na triagem da formulação a ser submetida ao teste de biodisponibilidade e, assim, evitar possíveis problemas de bioequivalência e, inclusive, gastos adicionais nestes testes (PABLA *et al.*, 2009).

Pabla e colaboradores (2009) avaliaram o medicamento de referência e dois medicamentos genéricos de levotiroxina através da metodologia oficial da FA para este fármaco, que preconiza uma dissolução pontual em 45 minutos em meio ácido clorídrico 0,01 N contendo 0,2% de LSS. Os autores verificaram que tal metodologia

de dissolução, além de não ser capaz de avaliar a performance dos comprimidos ao longo de todo o perfil de dissolução, não é discriminativa entre as diferentes formulações do mesmo fármaco em função da elevada concentração do tensoativo (PABLA *et al.*, 2009).

A alternativa dos autores foi o uso da concentração de LSS a 0,05%, inferior ao descrito na FA, além de controle adequado do pH, crítico para este fármaco. Este trabalho demonstrou que os três medicamentos de levotiroxina analisados possuem perfis de dissolução significativamente diferentes, tanto no formato da curva de dissolução quanto no percentual de fármaco dissolvido, e salientou que a ausência de metodologia de dissolução discriminativa de levotiroxina representa um dos fatores relacionados aos problemas de bioequivalência com este fármaco descritos na literatura (PABLA *et al.*, 2009)

Um método de dissolução baseado nos dados *in vivo* pode ser capaz de prever, ou mesmo, antever a biodisponibilidade de determinada forma farmacêutica (BROWN *et al.*, 2004). Diversos trabalhos na literatura relatam condições de dissolução discriminativas, cujas metodologias de dissolução foram baseadas nos ensaios *in vivo* (HE *et al.*, 2004; ROSSI *et al.*, 2007; PAPP *et al.*, 2008; ROSSI *et al.*, 2011). Um exemplo de método de dissolução discriminativo, baseado nos dados *in vivo*, foi realizado com o fármaco antirretroviral ritonavir, cujo estudo avaliou diferentes meios de dissolução e concentrações do tensoativo LSS (ROSSI *et al.*, 2007). Os autores analisaram as concentrações de LSS de 0,3%, 0,5%, 0,7% e 1,0%, e, através da regressão linear com os dados *in vivo*, conseguiram estabelecer CIVIV de nível A utilizando a concentração de LSS de 0,7% e 25 rpm (ROSSI *et al.*, 2007).

Outro exemplo de método de dissolução desenvolvido com base na avaliação dos dados de biodisponibilidade foi realizado com o fármaco nimodipino (HE *et al.*, 2004). Os autores relataram a possibilidade de uso do teste de dissolução na identificação de potenciais problemas de biodisponibilidade e na previsão da liberação do fármaco *in vivo* e absorção sistêmica, e não apenas para controle de qualidade lote a lote da produção farmacêutica (HE *et al.*, 2004). O estudo avaliou duas marcas de comprimidos de nimodipino, cujos dados *in vivo* foram significativamente diferentes (HE *et al.*, 2004).

A metodologia oficial de comprimidos de nimodipino descrita na Farmacopeia Britânica, na ocasião do estudo, preconizava o uso de tampão acetato pH 4,5

contendo 0,3% de LSS, e tal condição não foi capaz de perceber diferenças entre os comprimidos com biodisponibilidades conhecidas e diferentes (HE *et al.*, 2004). Os autores do trabalho desenvolveram metodologia alternativa de dissolução, na qual a concentração do tensoativo LSS no meio tampão acetato pH 4,5 foi reduzida para 0,05%. Desta forma, perfis de dissolução discriminativos entre as duas marcas com biodisponibilidade diferentes foram obtidos, e a redução da concentração do tensoativo proporcionou maior sensibilidade do método as variações na manufatura do fármaco e em relação as formulações avaliadas (HE *et al.*, 2004).

O caso do efavirenz é semelhante aos exemplos relatados, pois a metodologia de dissolução da FA, que utiliza, LSS 2,0% e 50 rpm, é aplicável a rotina de controle de qualidade dos comprimidos de efavirenz, entretanto esta metodologia não foi capaz de observar diferença entre o lote do fármaco aprovado e o lote do fármaco reprovado no teste de bioequivalência, o que demonstra que esta metodologia não foi discriminativa. Sendo assim, a diferença na bioequivalência entre os comprimidos produzidos com os lotes A e B do fármaco efavirenz foi apenas observada pelas metodologia da FB e de Far, que utilizam, respectivamente, LSS 1,0% e 100 rpm e LSS 0,5% e 50 rpm. Condições mais brandas de dissolução e, portanto, mais discriminativas, foram observadas principalmente na metodologia de Far.

## 4.4. DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO

### 4.4.1. Comparativo entre lotes

Sete diferentes lotes do fármaco efavirenz (lotes A a G) foram avaliados através do teste de dissolução por dispersão, utilizando-se o aparato pá, 900 mL de meio aquoso contendo 0,5% de lauril sulfato de sódio e rotação de 50 rpm. Os resultados foram representados na Figura 29 e na Tabela 20. Foram obtidos diferentes percentuais de fármaco dissolvido por dispersão para os lotes avaliados, porém todos dissolveram em torno de 35% nos primeiros 5 minutos do perfil de dissolução por dispersão e atingiram em torno de 75% ao final dos 60 minutos do teste, exceto os lotes B e C. Os lotes A e D foram aqueles que obtiveram maior percentual de fármaco dissolvido ao longo de todo o perfil de dissolução por dispersão, alcançando um máximo de 79,77% e 77,36%, respectivamente, ao final do tempo especificado.

O Lote F também alcançou, comparativamente, percentuais elevados de fármaco dissolvido por dispersão, num total de 77,41% ao final de 60 minutos. O lote Lote G, embora não tenha proporcionado percentuais de fármaco dissolvido por dispersão ao longo do teste na mesma proporção que os lotes A e D, alcançou pontualmente, em 60 minutos, 78,43% dissolvido. Os lotes B e C obtiveram o menor percentual de fármaco dissolvido por dispersão ao longo de todo o perfil de dissolução e alcançaram, respectivamente, um total de 55,76% e 67,76% de fármaco dissolvido por dispersão ao final do teste. O lote E, por sua vez, proporcionou valores intermediários, na ordem de 72,04% de fármaco dissolvido ao final do perfil de dissolução por dispersão.

O lote A, que proporcionou o maior percentual de fármaco dissolvido por dispersão ao longo de todo o perfil, foi estatisticamente diferente dos lotes B ( $P < 0,001$ ), C ( $P < 0,001$ ) e E ( $P < 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 21. De forma semelhante, o lote D, também com elevado percentual de fármaco dissolvido, foi estatisticamente diferente dos lotes B ( $P < 0,001$ ) e C ( $P < 0,01$ ). Diferenças estatisticamente significativas foram observadas também entre o lote B e os lotes F ( $P < 0,001$ ) e G ( $P < 0,05$ ). O lote F também foi diferente do lote C ( $P < 0,05$ ).

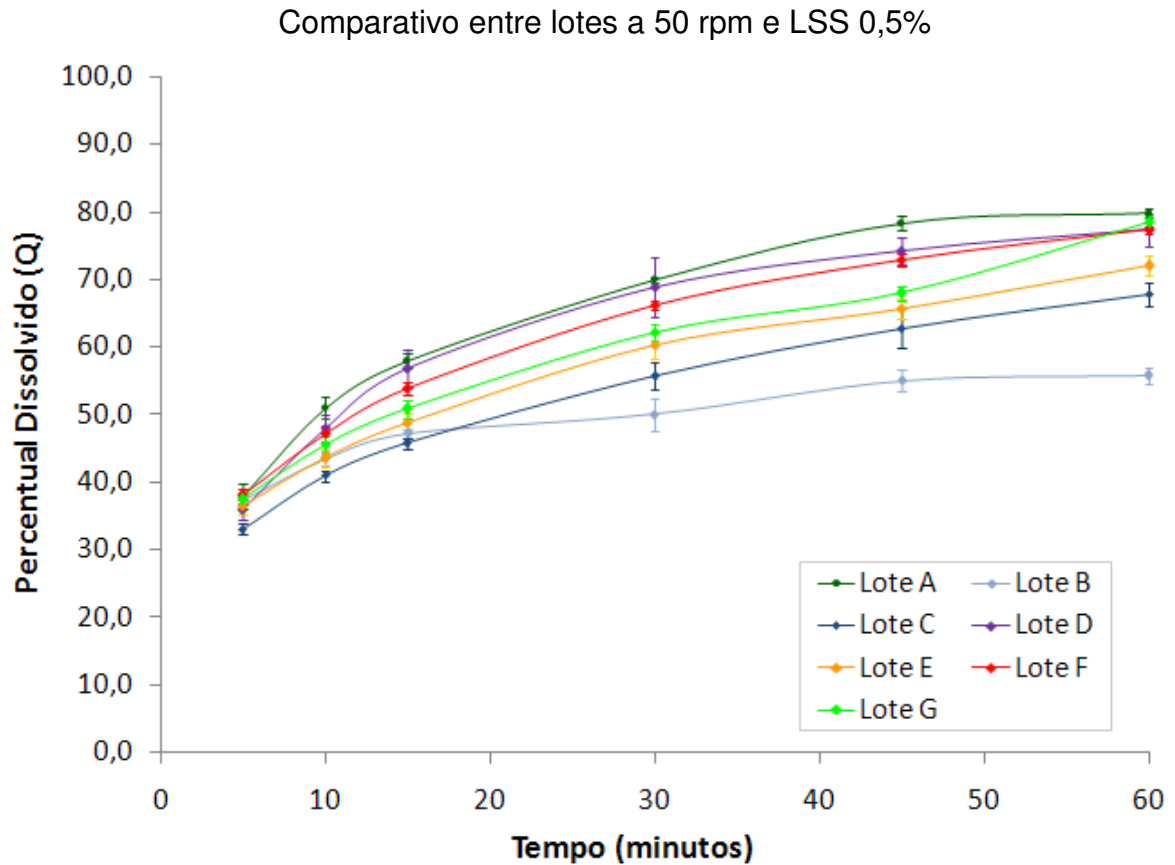


Figura 29. Perfil de dissolução por dispersão dos lotes de efavirenz.

Tabela 20. Percentual dissolvido por dispersão dos lotes de efavirenz

Tempo (minutos)	Lote A	Lote B	Lote C	Lote D	Lote E	Lote F	Lote G
5	37,92	37,30	33,09	35,89	36,57	37,98	37,45
10	51,04	43,50	41,01	47,97	43,59	47,19	45,63
15	58,02	47,19	45,76	56,91	48,77	53,90	50,81
30	69,89	50,00	55,69	68,87	60,28	66,28	62,26
45	78,37	55,01	62,84	74,29	65,73	72,93	68,00
60	79,77	55,76	67,76	77,36	72,04	77,41	78,43

Foi realizada, também, a análise dos fatores de diferença (F1) e semelhança (F2) entre os lotes submetidos ao teste de dissolução por dispersão. A especificação para interpretação do fator de diferença, F1, é de 0 a 15, e valores acima desta faixa



indicam diferença entre os perfis de dissolução (SHAH *et al.*, 1998). Por sua vez, o fator de semelhança, F2, é avaliado de acordo com a faixa de 50 a 100, e valores abaixo desta especificação indicam diferença entre os perfis de dissolução (SHAH *et al.*, 1998). Como pode ser observado na Tabela 21, os fatores F1 e F2 encontrados confirmaram as diferenças estatísticas observadas pelo método de Tukey/ANOVA One-way, entretanto, no comparativo entre alguns lotes, foram obtidos valores limítrofes de F1 e F2.

Tabela 21. Análise estatística entre os lotes de efavirenz no teste de dissolução por dispersão

Lotes		Variância	F1	F2
B	A	<b>P&lt;0,001</b>	<b>23,00</b>	<b>38,70</b>
B	E	P>0,05	12,13	52,10
B	D	<b>P&lt;0,001</b>	<b>20,85</b>	<b>41,47</b>
B	C	P>0,05	10,99	58,69
B	G	<b>P&lt;0,05</b>	<b>15,71</b>	<b>46,14</b>
B	F	<b>P&lt;0,001</b>	<b>18,81</b>	<b>43,23</b>
A	E	<b>P&lt;0,05</b>	14,69	52,87
A	D	P>0,05	3,80	78,29
A	C	<b>P&lt;0,001</b>	<b>22,49</b>	<b>46,00</b>
A	G	P>0,05	9,47	59,29
A	F	P>0,05	5,47	71,09
E	D	P>0,05	9,87	58,78
E	C	P>0,05	6,80	71,67
E	G	P>0,05	4,55	74,13
E	F	P>0,05	8,07	64,09
D	C	<b>P&lt;0,01</b>	<b>18,01</b>	50,30
D	G	P>0,05	7,00	66,15
D	F	P>0,05	2,78	83,05
C	G	P>0,05	10,63	59,27
C	F	<b>P&lt;0,05</b>	13,93	53,33
G	F	P>0,05	4,26	75,04

Avaliação de F1 e F2 em 30 minutos.

Os valores obtidos para os fatores F1 e F2 entre os lotes A e E foram, respectivamente, de 14,69 e 52,87, que de acordo com a especificação estabelecida seriam semelhantes (SHAH *et al.*, 1998). Entretanto, tais valores encontram-se próximos aos limites de 15 para o fator de diferença e de 50 para o fator de semelhança, indicando que a semelhança entre estes lotes é pequena, o que foi confirmado pelo método de Tukey/ANOVA One-way ( $P < 0,05$ ). Fato semelhante foi observado entre os lotes C e F, cujos valores de F1 e F2 foram, respectivamente, de 13,93 e 53,33, e a análise pelo método de Tukey/ANOVA One-way também revelou diferença entre os lotes ( $P < 0,05$ ). Também foram obtidos valores limítrofes de F2 entre os lotes D e C, porém, de forma semelhante, o método de Tukey/ANOVA One-way considerou diferente o percentual de fármaco dissolvido entre estes lotes, o que também foi confirmado pelo valor de F1.

Estas diferenças observadas no teste de dissolução por dispersão refletem as diferentes características físico-químicas entre os lotes do fármaco efavirenz, apresentadas no item 4.1., notoriamente o tamanho de partícula (Tabela 11) e a área superficial (Tabela 12) dos lotes. A Tabela 22 compara o percentual de fármaco dissolvido em 60 minutos de cada lote com seus respectivos valores de área superficial, tamanho de partícula, e os valores do índice de polidispersão. De maneira geral, foi possível observar uma relação direta entre área superficial e percentual de fármaco dissolvido, conforme equação de Noyes-Whitney (Equação 1), e relação inversamente proporcional do tamanho da partícula na dissolução por dispersão dos diferentes lotes avaliados.

Os lotes A e D, que obtiveram comparativamente elevado percentual de fármaco dissolvido no teste de dissolução por dispersão, possuem os maiores valores de área superficial, respectivamente, de 8,6790 m<sup>2</sup>/g e 6,2574 m<sup>2</sup>/g. Em relação ao tamanho de partícula, estes lotes possuem os menores valores médios de tamanho, respectivamente, de 2,213 µm e 2,037 µm, e também, os menores valores de moda dentre os lotes avaliados em sua dissolução por dispersão, respectivamente de 4,860 µm e 5,558 µm.

Conforme citado anteriormente, o lote G alcançou pontualmente em 60 minutos um percentual elevado de fármaco dissolvido por dispersão e as diferenças encontradas na dissolução por dispersão entre os lotes F e G foram interpretadas através da análise conjunta dos valores de área superficial e tamanho de partícula. Embora estes lotes tenham apresentado valores semelhantes de área superficial,

respectivamente de 5,2303 m<sup>2</sup>/g e 5,0674 m<sup>2</sup>/g, e o lote F possui comparativamente maior média de tamanho de partícula, 3,833 µm, em relação ao lote G, cuja média é 2,378 µm, o lote F apresentou maior percentual de fármaco dissolvido por dispersão ao longo de todo o perfil de dissolução. Tal fato pode ser explicado em função do elevado índice de polidispersão do lote G de 6,4139, indicando que os tamanhos das partículas deste lote não são uniformes e variam consideravelmente em relação a média, o que pode ser confirmado pela Figura 14 (G), através da qual é possível observar duas populações distintas de tamanho de partícula para este lote.

Tabela 22. Comparativo entre percentual de fármaco dissolvido por dispersão com características físico-químicas dos lotes de efavirenz

Lotes	Q (%) em 60 min	Área Superficial (m <sup>2</sup> /g)	Tamanho de partícula				Índice de Polidispersão
			Média (µm)	Mediana (µm)	Moda (µm)	d(0,5) (µm)	
A	79,77	8,6790	2,213	3,288	4,860	3,288	2,7521
B	55,76	2,0030	5,779	17,077	21,825	17,077	2,7242
C	67,76	3,8942	3,341	6,166	15,377	6,166	4,4301
D	77,36	6,2574	2,037	2,736	5,558	2,736	2,4412
E	72,04	2,7394	4,980	11,656	15,657	11,656	2,7513
F	77,41	5,2303	3,833	7,699	13,484	7,699	3,0375
G	78,43	5,0674	2,378	3,443	8,336	3,443	6,4139

Como pode ser observado na Tabela 22, o lote B, que gerou comparativamente o menor percentual de fármaco dissolvido por dispersão, apresenta o menor valor de área superficial e o maior tamanho médio de partículas, respectivamente, de 2,0030 m<sup>2</sup>/g e 5,779 µm. Os valores de d(0,1), d(0,5) e d(0,9) deste lote foram superiores a todos os lotes analisados na dissolução por dispersão. Destaque-se o valor elevado de 21,825 µm referente a moda do lote B, indicando que o tamanho da maioria das partículas deste lote são consideravelmente maiores que as dos demais lotes de efavirenz, justificando o menor percentual de fármaco dissolvido por dispersão dentre os sete lotes avaliados.

Os lotes C e E apresentaram comparativamente valores de área superficial superiores ao lote B e inferiores aos demais lotes, respectivamente de 3,8942 m<sup>2</sup>/g e

2,7394 m<sup>2</sup>/g. Apesar do valor de área superficial do lote C ser superior ao do lote E, a diferença percentual de fármaco dissolvido por dispersão observada entre estes lotes no tempo de 60 minutos foi de apenas aproximadamente 4%. O valor da moda destes lotes foi semelhante, respectivamente, de 15,377 µm e 15,657 µm, e, assim como o lote G, o lote C também apresenta elevado índice de polidispersão, 4,4301, e tal fato teve influência nas diferenças de percentual de fármaco dissolvido por dispersão entre o lote C e o lote E. Considerando que o valor referente ao diâmetro de 50% das partículas do lote E foi de 11,656 µm e o do lote C foi de 6,166 µm, a análise dos respectivos índices de polidispersão indica que os tamanhos das partículas do lote E variaram menos em relação ao valor central de d(0,5) em comparação ao lote C. Nesse sentido, a presença de maior quantidade de partículas de maiores tamanhos no lote C pode ter influenciado no fato do percentual de fármaco dissolvido por dispersão do lote E ter sido superior ao percentual de fármaco dissolvido por dispersão do lote C.

A e B representam lotes do efavirenz que foram submetidos ao teste de bioequivalência. A diferença entre os tamanhos das partículas e as áreas superficiais entre estes dois lotes, como pode ser verificado na Tabela 22, foram cruciais na aprovação do lote A e reprovação do lote B. A caracterização de propriedades físico-químicas de fármacos e a visualização do impacto destas propriedades na biodisponibilidade de medicamentos através da técnica de dissolução por dispersão foi descrita em alguns trabalhos da literatura (KOBAYASHI *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2004; KIM *et al.*, 2008).

O fármaco rifampicina, por exemplo, foi avaliado através de diferentes técnicas, dentre elas a dissolução por dispersão (AGRAWAL *et al.*, 2004). Os autores avaliaram onze lotes de matérias-primas através da técnica de dissolução por dispersão, assim como os padrões dos polimorfos I, II e da forma anidra do fármaco, e verificaram o impacto direto do tamanho da partícula no percentual de fármaco dissolvido por dispersão. O trabalho da rifampicina avaliou, ainda, frações micronizadas em diferentes tamanhos de partícula do fármaco e relatou que quanto maior o percentual de partículas em determinado lote com tamanho de partícula acima de 100 µm, mais lenta é a dissolução por dispersão (AGRAWAL *et al.*, 2004).

A técnica da dissolução por dispersão também foi utilizada na avaliação de amostras amorfas de atorvastatina liofilizadas e submetidas a fluido supercrítico (KIM *et al.*, 2008). O perfil de dissolução por dispersão das amostras de

atorvastatina mostrou percentual de fármaco dissolvido por dispersão superior nas amostras liofilizadas em solução com acetona, comparativamente as amostras preparadas em solução contendo tetrahidrofurano e as amostras não processadas (KIM *et al.*, 2008). Outro trabalho que utilizou a técnica da dissolução por dispersão foi realizado com o fármaco carbamazepina, no qual a dissolução por dispersão foi capaz de discriminar entre as formas I, III e diidratada do fármaco (KOBAYASHI *et al.*, 2000). O estudo demonstrou a transformação que ocorre em meio aquoso das formas I e III para a forma diidratada, e, ainda, observou que a transformação da forma III em diidrato é mais rápida que a da forma I (KOBAYASHI *et al.*, 2000).

Estes trabalhos citados exemplificam a possibilidade de uso da dissolução por dispersão na avaliação de propriedades físico-químicas do fármaco. Nesse sentido, características do estado sólido e de dissolução podem ser selecionadas de acordo com sua relevância biofarmacêutica (KOBAYASHI *et al.*, 2000; AGRAWAL *et al.*, 2004), visando aprovação de lotes no teste de biodisponibilidade, conforme foi observado no caso do efavirenz, no qual, além dos fatores referentes a formulação, as características do estado sólido, notoriamente tamanho de partícula e área superficial determinaram a biodisponibilidade observada dos lotes A e B.

Nesse sentido, os lotes do efavirenz avaliados na sua dissolução por dispersão foram agrupados em dois grupos estatisticamente diferentes um do outro e semelhante entre si, como pode ser observado na Tabela 23. Os lotes E e G não foram incluídos nesta classificação, pois embora o lote E seja estatisticamente semelhante aos lotes do Grupo 2 ( $P > 0,05$ ), este lote foi apenas diferente do lote A ( $P < 0,05$ ). Por sua vez, o lote G foi apenas estatisticamente diferente do lote B ( $P < 0,05$ ).

Tabela 23. Classificação dos lotes do fármaco efavirenz de acordo com o percentual dissolvido por dispersão

Grupo 1	Lotes com elevado percentual de fármaco dissolvido por dispersão	Lote A Lote D Lote F
Grupo 2	Lotes com baixo percentual de fármaco dissolvido por dispersão	Lote B Lote C

#### 4.4.2. Avaliação do uso de tensoativo

Conforme observado na Tabela 23, os lotes do efavirenz analisados na dissolução por dispersão foram separados em dois grupos, e o efeito da concentração do tensoativo na dissolução por dispersão foi avaliado considerando-se dois lotes de cada grupo. Nesse sentido, os lotes A, B, C e D foram avaliados também nas concentrações de 1,0% e 2,0% do tensoativo LSS, como pode ser observado na Figura 30. As análises revelaram que o aumento na concentração do tensoativo foi capaz de elevar o percentual dissolvido do fármaco para os quatro lotes nas condições analisadas. Os lotes A e D proporcionaram curvas de perfil de dissolução bastante semelhante nas três condições avaliadas. O lote B obteve comparativamente o menor percentual de fármaco dissolvido por dispersão, mesmo com o aumento da concentração do tensoativo, enquanto que o lote C proporcionou percentuais intermediários de fármaco dissolvido por dispersão.

Na concentração de LSS de 1,0%, foram obtidos percentuais de fármaco dissolvido por dispersão, ao final dos 60 minutos do perfil de dissolução, aproximadamente 10% superior àqueles encontrados na concentração de LSS de 0,5% para todos os lotes avaliados, como pode ser observado na Figura 30. Os valores de fármaco dissolvido por dispersão no tempo de 60 minutos para os lotes A, B, C e D, foram respectivamente de 90,86%, 67,80%, 81,52% e 91,07%. A análise estatística, demonstrada na Tabela 24, indica que o lote A foi diferente dos lotes B ( $P < 0,01$ ) e C ( $P < 0,01$ ), e semelhante ao lote D ( $P > 0,05$ ). O lote D, por sua vez, também foi diferente dos lotes B ( $P < 0,01$ ) e C ( $P < 0,01$ ), e os lotes B e C foram estatisticamente semelhantes ( $P > 0,05$ ). A análise dos valores de F1 e F2, demonstrados na Tabela 25, confirmam os resultados obtidos pelo método de Tukey ANOVA/One Way.

Na concentração de LSS 2,0%, os valores percentuais de fármaco dissolvido por dispersão em 60 minutos para os lotes A, B, C e D, foram respectivamente de 93,44%, 69,00%, 88,82% e 96,85%. Destaca-se que o percentual do lote B dissolvido por dispersão, mesmo na concentração de LSS 2,0% não foi completa. A análise estatística foi semelhante a concentração de 1,0% e revelou que o lote A foi diferente dos lotes B ( $P < 0,001$ ) e C ( $P < 0,05$ ), e semelhante ao lote D ( $P > 0,05$ ). O lote D também foi diferente dos lotes B ( $P < 0,001$ ) e C ( $P < 0,05$ ), e os lotes B e C foram estatisticamente semelhantes ( $P > 0,05$ ).

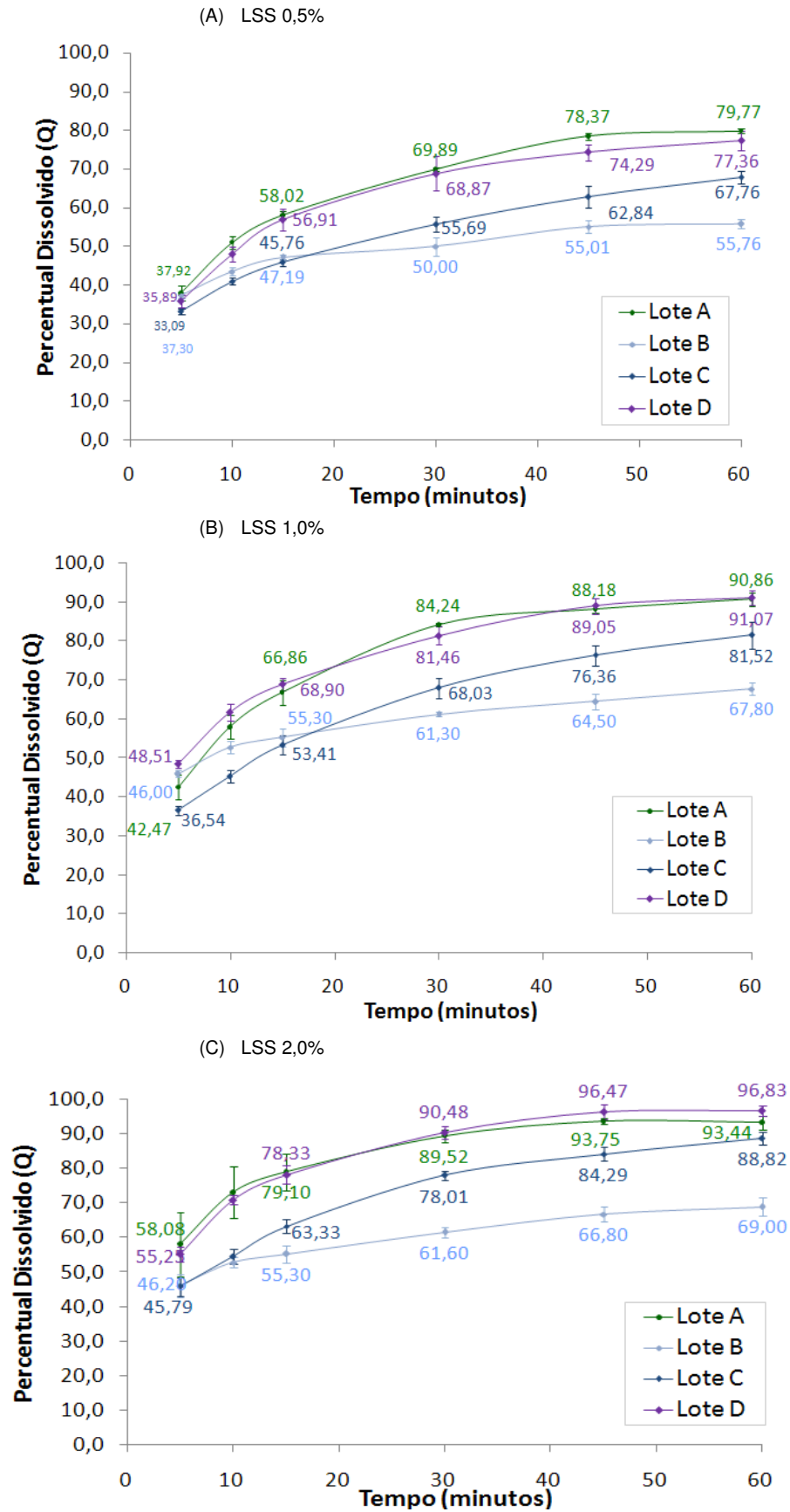


Figura 30. Perfil de dissolução por dispersão comparativo entre lotes de efavirenz com LSS 0,5% (A), 1,0% (B) e 2,0% (C) e 50 rpm.

Pode-se notar que a diferença estatística entre os lotes A e B ( $P < 0,001$ ), e B e C ( $P < 0,001$ ) foi maior na concentração de LSS 2,0%, entretanto tal fato não significa que este meio seja mais discriminativo, uma vez que esta diferença estatística observada é consequência do baixo percentual de fármaco do lote B dissolvido nesta concentração, indicando que mesmo uma concentração elevada do tensoativo LSS não foi suficiente para proporcionar aumento na quantidade de fármaco do lote B dissolvido por dispersão. A avaliação dos fatores de diferença e semelhança, demonstrados na Tabela 25, confirmam os dados obtidos através da metodologia de Tukey ANOVA/One Way. A avaliação de F1 e F2 revelou, entretanto, diferença entre os lotes B e C, o que pode ser explicado pelo baixo percentual do lote B dissolvido por dispersão, conforme citado anteriormente.

Tabela 24. Análise estatística entre os lotes do efavirenz avaliados na dissolução por dispersão

Lotes		LSS 0,5%	LSS 1,0%	LSS 2,0%
B	A	<b>P&lt;0,01</b>	<b>P&lt;0,01</b>	<b>P&lt;0,001</b>
B	D	<b>P&lt;0,001</b>	<b>P&lt;0,01</b>	<b>P&lt;0,001</b>
B	C	P>0,05	P>0,05	P>0,05
A	D	P>0,05	P>0,05	P>0,05
A	C	<b>P&lt;0,001</b>	<b>P&lt;0,05</b>	<b>P&lt;0,05</b>
D	C	<b>P&lt;0,01</b>	<b>P&lt;0,01</b>	<b>P&lt;0,05</b>

Tabela 25. Fatores de diferença (F1) e semelhança (F2) entre os lotes do efavirenz avaliados na dissolução por dispersão

Lotes		LSS 0,5%		LSS 1,0%		LSS 2,0%	
		F1	F2	F1	F2	F1	F2
B	A	<b>23,00</b>	<b>38,70</b>	<b>20,91</b>	<b>38,07</b>	<b>27,77</b>	<b>31,74</b>
B	D	<b>20,85</b>	<b>41,47</b>	<b>21,13</b>	<b>37,88</b>	<b>27,97</b>	<b>31,06</b>
B	C	10,99	58,69	14,17	51,33	<b>15,40</b>	<b>44,04</b>
A	D	3,80	78,29	3,57	73,40	2,62	79,70
A	C	<b>22,49</b>	<b>46,00</b>	<b>19,23</b>	<b>45,93</b>	<b>17,41</b>	<b>44,52</b>
D	C	<b>18,01</b>	50,30	<b>22,05</b>	<b>43,48</b>	<b>17,73</b>	<b>44,91</b>



O efeito da concentração do tensoativo nos lotes A a D foi demonstrado na Figura 31, que permite a visualização do percentual de fármaco dissolvido por dispersão em cada lote. De acordo com o esperado, quanto maior a concentração do tensoativo maior o percentual de fármaco dissolvido por dispersão, exceto na concentração de LSS 2,0% do lote B, que demonstrou o menor percentual de fármaco dissolvido por dispersão, e cujos valores em LSS 2,0% foram semelhantes aqueles obtidos com LSS 1,0%.

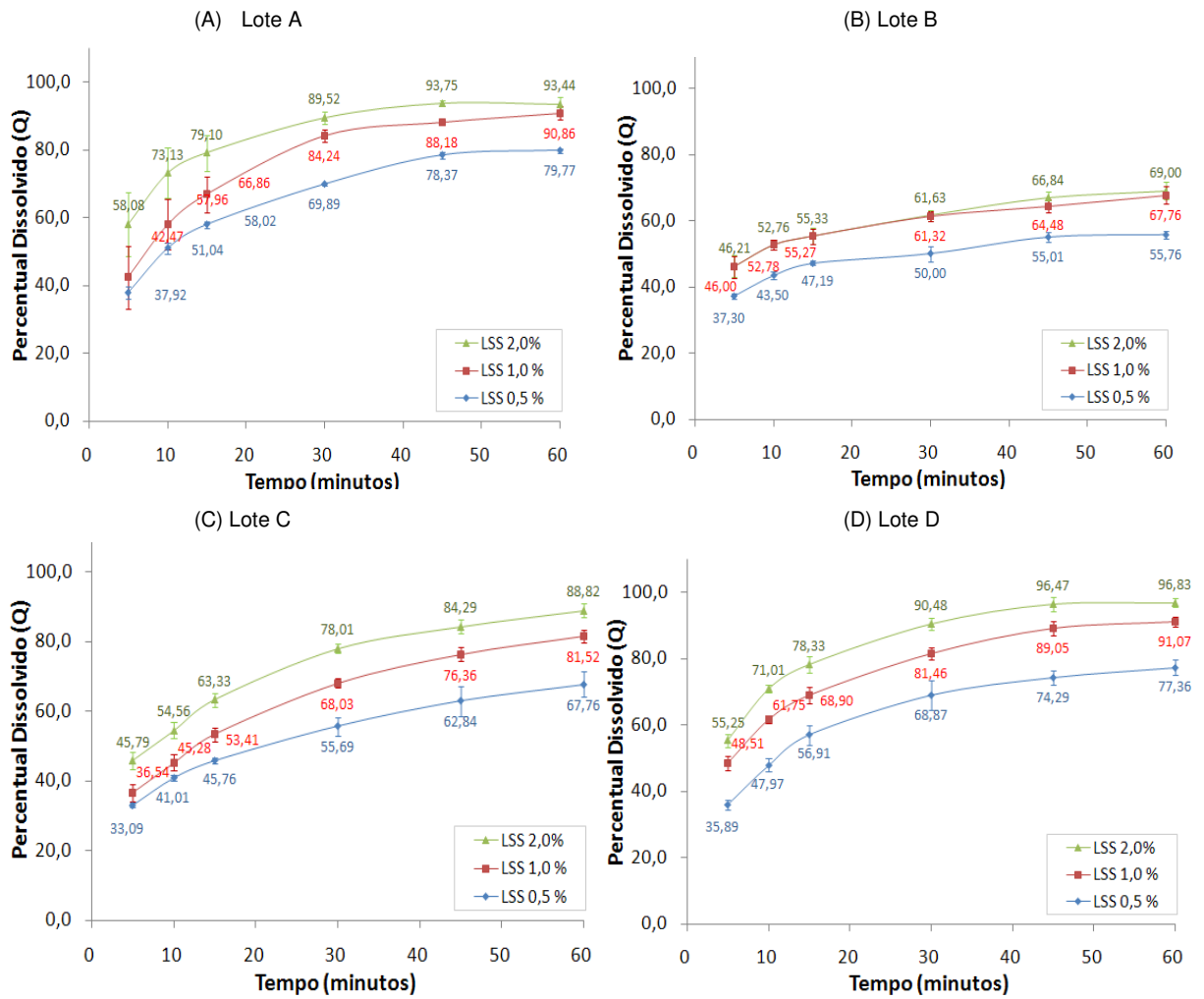


Figura 31. Perfil de dissolução por dispersão dos lotes A (A), B (B), C (C) e D (D) em função da concentração do tensoativo.

#### 4.4.3. Avaliação do Meio de Dissolução

Foram avaliados os meios suco gástrico simulado, água e suco entérico simulado, todos na presença de diferentes concentrações do tensoativo LSS, com o objetivo de verificar a capacidade do meio em discriminar entre os lotes do fármaco, como pode ser observado na Figura 32 e Tabela 26.

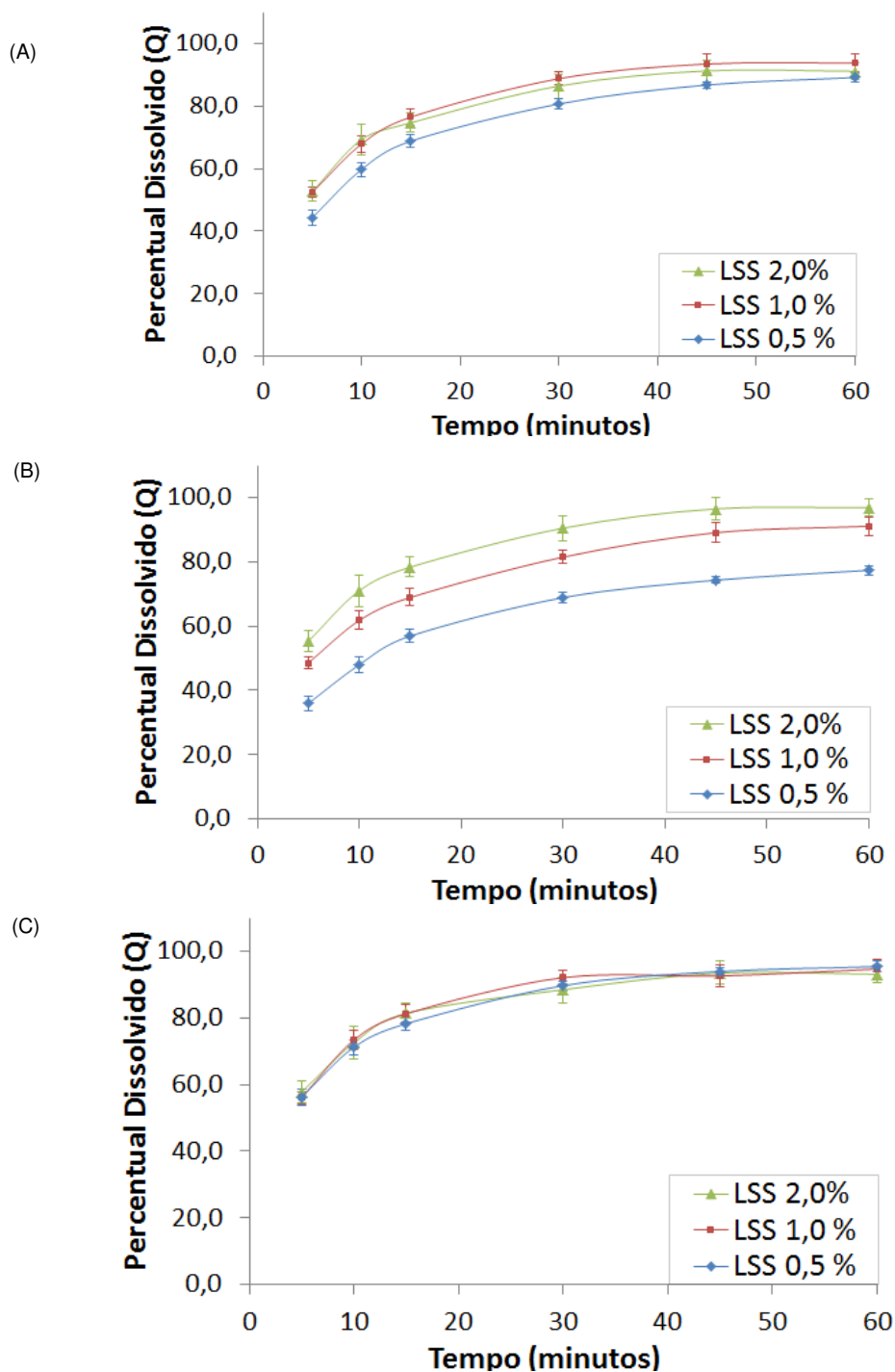


Figura 32. Perfil de dissolução por dispersão do lote D em diferentes meios a 50 rpm  
(A) Suco gástrico simulado, (B) Água e (C) Suco entérico simulado.

Tabela 26. Percentual dissolvido por dispersão do lote D em diferentes meios

Tempo (min)	Suco Gástrico Simulado			Água			Suco Entérico Simulado		
	0,5%	1,0%	2,0%	0,5%	1,0%	2,0%	0,5%	1,0%	2,0%
5	44,30	52,42	52,68	35,89	48,51	55,25	56,25	56,01	57,76
10	59,73	67,88	69,32	47,97	61,75	71,01	71,21	73,40	72,50
15	68,81	76,51	74,68	56,91	68,90	78,33	78,26	81,25	81,40
30	80,72	88,80	86,46	68,87	81,46	90,48	89,68	92,08	88,48
45	86,79	93,50	91,28	74,29	89,05	96,47	93,93	92,61	93,45
60	89,17	93,83	91,18	77,36	91,07	96,83	95,42	94,67	93,10

O lote D foi utilizado nestes testes comparativos pelo fato deste lote apresentar perfil de dissolução por dispersão semelhante ao lote A, aprovado na bioequivalência, e também pela maior quantidade de fármaco disponível deste lote para a realização dos testes. De maneira geral, foi observado maior percentual de fármaco dissolvido por dispersão nos meios suco gástrico simulado e suco entérico simulado, comparativamente ao meio água, o que está de acordo com os valores de solubilidade do efavirenz nestes meios, descritos na Figura 24.

Não foi observada diferença em relação ao percentual de fármaco dissolvido entre as concentrações do tensoativo LSS, tanto em suco gástrico simulado quanto em suco entérico simulado, como pode ser observado na Figura 32. Foram obtidos percentuais médios de 91,39% e 94,39% de fármaco dissolvido por dispersão nos meios suco gástrico e suco entérico, respectivamente, considerando as três concentrações do tensoativo.

Entretanto, no meio água foram observadas diferenças percentuais de fármaco dissolvido por dispersão nas concentrações do tensoativo, sendo obtidos, ao final dos 60 minutos da dissolução, 77,36%, 91,07% e 96,83% nas concentrações de LSS 0,5%, 1,0% e 2,0%, respectivamente. Tal diferença está relacionada a solubilidade do fármaco nestes meios, conforme descrito no item 4.2.3, e pelo fato de não terem sido atendido as condições *sink* no meio água contendo LSS 0,5% .

## 4.5. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

### 4.5.1. Metodologia de Quantificação do Efavirenz

Foi realizada a quantificação do fármaco nos estudos de dissolução intrínseca de efavirenz através de espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 248 nm, de acordo com especificação das monografias oficiais do fármaco para dissolução (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP 34, 2011).

### 4.5.2. Parâmetro do teste de dissolução intrínseca

Os parâmetros força de compressão, velocidade de rotação, meio de dissolução e concentração do tensoativo foram avaliados durante o desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca, como pode ser observado na Tabela 27, que indica as variações analisadas de cada parâmetro.

Tabela 27. Parâmetros avaliados no desenvolvimento da metodologia de dissolução intrínseca do efavirenz

Parâmetro	Variação
Força de Compressão	100 psi a 1200 psi
Velocidade de Rotação	50, 100, 150 e 200 rpm
Meio de Dissolução	Suco Gástrico Simulado (sem enzimas) pH 1,2 Tampão Acetato pH 4,5 Água Suco Entérico Simulado (sem enzimas) pH 6,8
Concentração do Tensoativo	Lauril Sulfato de Sódio a 0,5%, 1,0% e 2,0%

### 4.5.3. Preparo da Pastilha

Foram preparadas pastilhas com o fármaco efavirenz com as forças de compressão de 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200, 1500

e 2000 psi, empregando-se como tempo de compressão tanto 30 segundos quanto 1 minuto. As pastilhas foram avaliadas em relação ao aspecto visual, dureza e através de DRX. Em todos os testes para o desenvolvimento do método de preparo das pastilhas para o teste de dissolução intrínseca foi utilizada a massa de 180 mg de efavirenz do lote D, que corresponde a massa do fármaco capaz de completar todo o orifício do aparato de dissolução intrínseca antes da compressão.

#### 4.5.4. Avaliação do Aspecto

Inicialmente foram preparadas pastilhas com força de compressão na faixa de 100 a 2000 psi por 1 minuto (Yu *et al.*, 2004) e foi possível observar que até a força de compressão de 300 psi, as pastilhas apresentaram-se ligeiramente quebradiças e parte do fármaco utilizado no preparo depositou-se na base do aparato de dissolução intrínseca, como pode ser observado na Figura 33. A partir da força de compressão de 800 psi, esta deposição foi reduzida, e nas forças de 1500 psi e 2000 psi, a pastilha apresentou aspecto mais claro e ligeiramente opaco, como demonstrado na Figura 33.

O mesmo teste foi realizado empregando-se as mesmas forças de compressão por 30 segundos, no intuito de utilizar a menor força e o menor tempo de compressão capaz de gerar um material compacto e não desintegrante (USP 34, 2011). De maneira semelhante, o material demonstrou-se ligeiramente quebradiço e com deposição de parte do fármaco na base do aparato para o preparo das pastilhas até a força de compressão de 600 psi, a partir da qual esta deposição foi reduzida. Foi observada reprodutibilidade no preparo das pastilhas na força de 1000 psi, ou seja, diversas pastilhas preparadas em sequência com esta força de compressão demonstraram aspecto compacto e não desintegrante.

Dificuldades no preparo da pastilha para realização do teste de dissolução intrínseca foram relatadas em alguns estudos (YU *et al.*, 2004; CARINI *et al.*, 2009). Por exemplo, no caso da talidomida, foram observadas laminação da pastilha e fissuras na superfície desta em forças de compressão elevadas (CARINI *et al.*, 2009). Pastilhas contendo o fármaco piroxicam não podem ser preparadas com forças de compressão superior a 1000 psi por 1 minuto, pois resultam em pastilhas frágeis, que se fragmentam no meio de dissolução (YU *et al.*, 2004). Yu e colaboradores (2004) também observaram que o metoprolol gruda na base do

aparato de dissolução intrínseca quando é comprimido, resultando em fragmentação da pastilha quando a base e a matriz são desafixadas para o início do teste de dissolução intrínseca (YU *et al.*, 2004). Fato semelhante ocorre no caso do efavirenz, e foi possível observar através da manipulação deste fármaco, que o mesmo apresenta comportamento eletrostático.

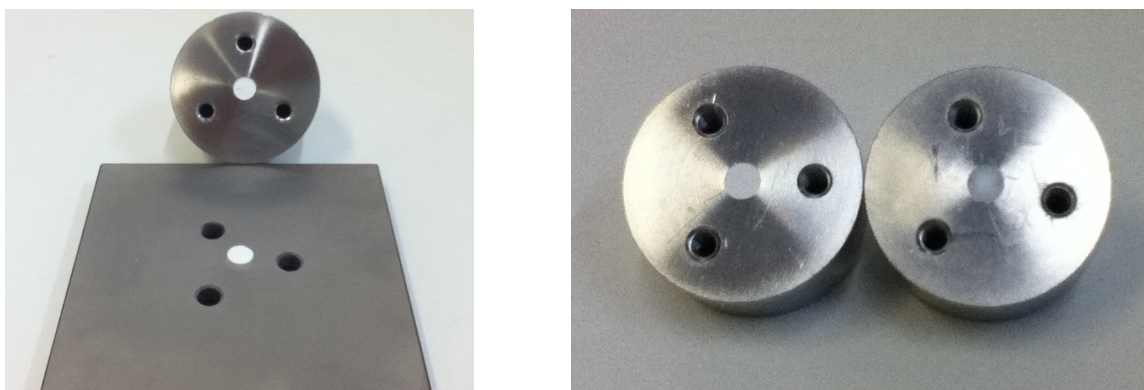


Figura 33. Avaliação do aspecto das pastilhas com efavirenz: (A) Resíduo no Suporte, (B) Pastilha Opaca.

Nesse sentido, e com objetivo de reduzir a deposição de fármaco na base do aparato de dissolução intrínseca, além de tentar reduzir a força de compressão utilizada no teste, foi utilizado o estearato de magnésio para lubrificação da base do aparato, de maneira semelhante ao realizado no caso da carbamazepina (SEHIC *et al.*, 2010). Com o uso do lubrificante, foi possível obter pastilhas adequadas na faixa de 300 a 1200 psi utilizando-se tanto 30 segundos quanto 1 minuto como tempo de compressão. Optou-se, então, pelo uso do menor tempo de compressão, ou seja, 30 segundos, e pelo emprego da força de compressão de 600 psi. Esta condição foi considerada adequada para a realização dos testes de dissolução intrínseca de efavirenz, uma vez que esta força representa a menor força de compressão capaz de proporcionar pastilhas compactas não desintegrantes com reprodutibilidade no preparo.

#### 4.5.5. Avaliação da Dureza

A dureza das pastilhas foi avaliada na faixa de força de compressão de 100 psi a 1000 psi por 30 segundos. Forças de compressão acima de 1000 psi não

foram avaliadas devido a dificuldade em retirar a pastilha intacta do aparato de dissolução intrínseca para posterior avaliação da dureza. Os valores médios referentes a três determinações foram descritos na Tabela 27. Foi observado aumento da dureza das pastilhas com o aumento da força de compressão até a força de 300 psi, e a dureza das pastilhas com força de compressão de 400 psi a 1000 psi manteve-se na faixa de 29 N – 33 N.

Tabela 27. Dureza média das pastilhas de acordo com força de compressão em 30 s

Força (psi)	Dureza Média (N)
100	17,67
150	19,67
200	19,67
300	24,00
400	30,33
500	29,00
600	31,67
700	32,33
800	32,67
900	30,33
1000	31,33

Média; n=3

#### 4.5.6. Difração por Raios-X

Pastilhas preparadas empregando-se as forças de compressão de 200, 300, 400, 500, 800, 1000, 1200, 1500 e 2000 psi, tanto com a força de compressão aplicada por 1 minuto quanto com a força de compressão aplicada por 30 segundos foram submetidas a análise de DRX com objetivo de verificar alguma possível alteração na estrutura cristalina após a aplicação da força de compressão (USP 34, 2011). Os difratogramas obtidos nas Figuras 34 e 35 referem-se, respectivamente, as forças de compressão na faixa de 200 a 2000 psi com 1 minuto e 30 segundos de aplicação da força.

O efavirenz apresenta polimorfismo e seu polimorfo I é o comumente utilizado em formulações (MAHAPATRA *et al.*, 2010). Os resultados indicaram que não houve alteração na estrutura cristalina do fármaco após aplicação das forças de compressão empregadas no teste, uma vez que o difratograma obtido corresponde ao padrão da forma cristalina I do efavirenz, demonstrado no item 4.1.3 e na Figura 11 (MAHAPATRA *et al.*, 2010), e está de acordo com o difratograma do fármaco obtido antes da aplicação da força de compressão, como pode ser observado no item 4.1.3 e Figura 10.



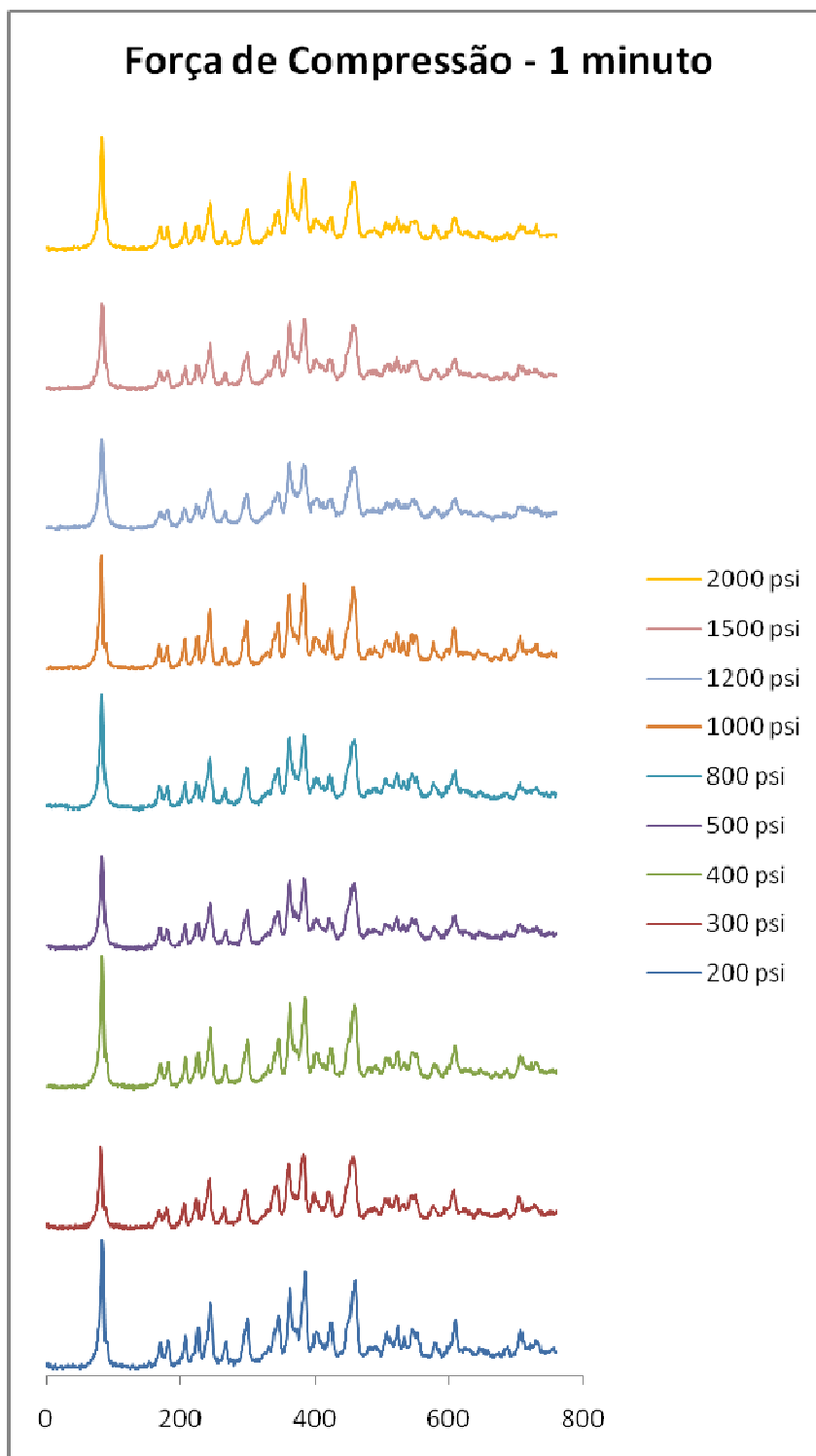


Figura 34. Gráfico de DRX de efavirenz submetido a diferentes forças de compressão durante 1 minuto.

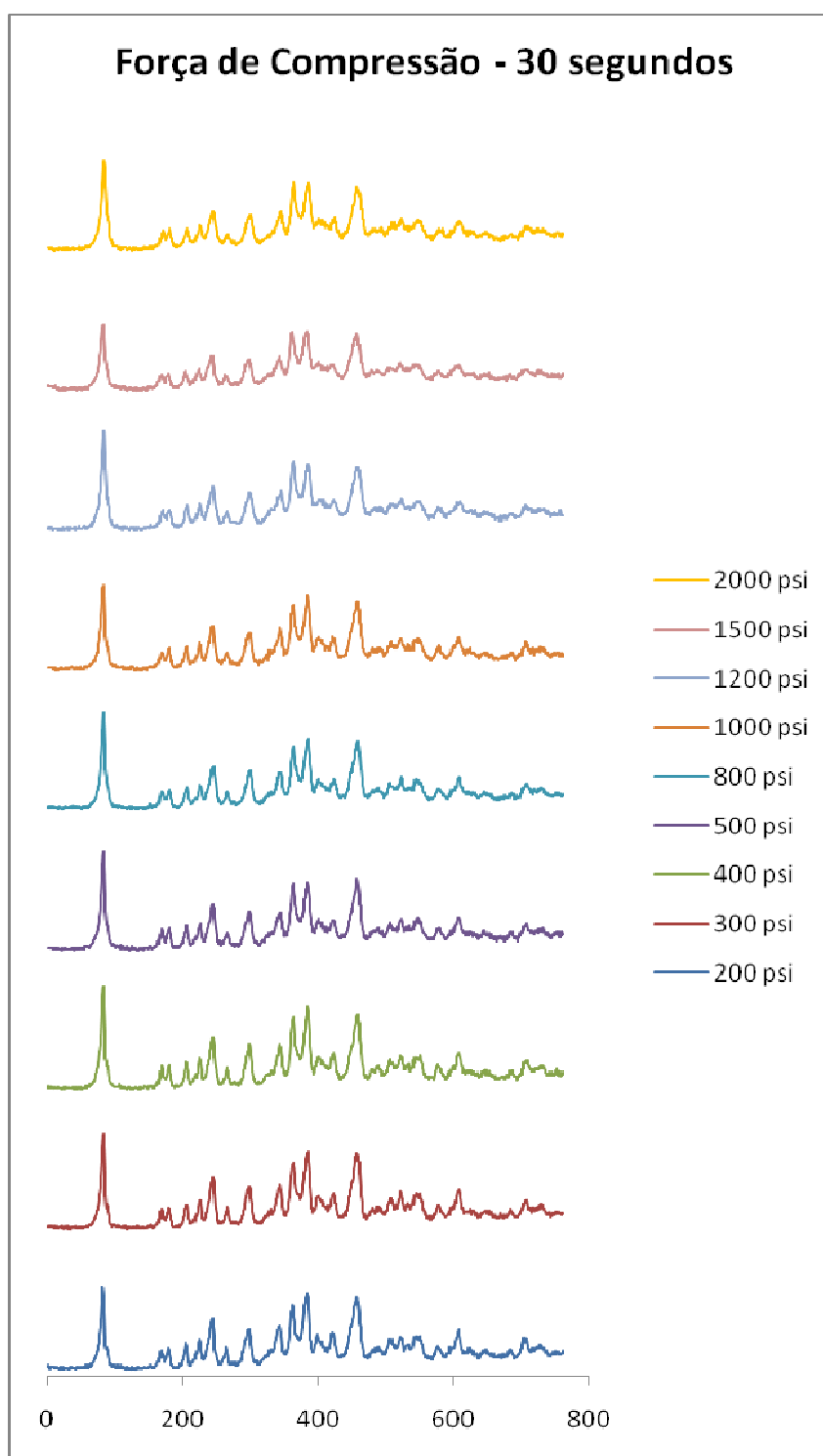


Figura 35. Gráfico de DRX de efavirenz submetido a diferentes forças de compressão durante 30 segundos.

#### 4.5.7. Força de Compressão

O efeito da força de compressão na dissolução intrínseca do efavirenz foi avaliado empregando-se as forças de compressão de 100, 150, 200, 300, 400, 600, 800, 1000 e 1200 psi por 30 segundos. Esta faixa de forças de compressão foi testada por ser comumente descrita na literatura para os estudos de dissolução intrínseca (AGRAWAL *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2005; GHAZAL *et al.*, 2009; SETHE *et al.*, 2010) e o tempo de compressão adotado foi de 30 segundos. Os testes foram realizados em 500 mL de meio aquoso contendo 0,5% de lauril sulfato de sódio e utilizando-se a velocidade de rotação de 50 rpm.

A Figura 36 representa o perfil de dissolução intrínseca de efavirenz obtido com as forças de compressão de 100 psi a 1200 psi. Foi possível observar, ao final de 5 horas do perfil de dissolução intrínseca, que aproximadamente 9 mg do fármaco foi dissolvido a partir das pastilhas em todas as condições avaliadas. Esta massa do fármaco representa em torno de 2,5% da massa total utilizada no teste, e este pequeno percentual de fármaco dissolvido é devido a baixa solubilidade do efavirenz em meio aquoso e ao seu comportamento *brick dust drug* (KASIM *et al.*, 2004; LINDENBERG *et al.*, 2004; STELLA & NIT-ADDAE, 2007; BERGSTROM *et al.*, 2007).

As forças de 100, 150 e 300 psi proporcionaram maior percentual de fármaco dissolvido e maior massa liberada por área ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ), como pode ser observado na Figura 37, que compara as massas de efavirenz liberadas da pastilha nas diferentes forças de compressão avaliadas. Embora pela avaliação do gráfico do perfil de dissolução intrínseca seja possível observar pequena diferença entre as forças de compressão de 100, 150 e 300 psi em relação as demais forças de compressão, esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ). Os valores de VDI de efavirenz nas forças de compressão avaliadas foram descritos na Tabela 28, e encontram-se na faixa de 26,33 – 28,99  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , e, de acordo a análise de variância, foram considerados estatisticamente iguais ( $P > 0,05$ ).

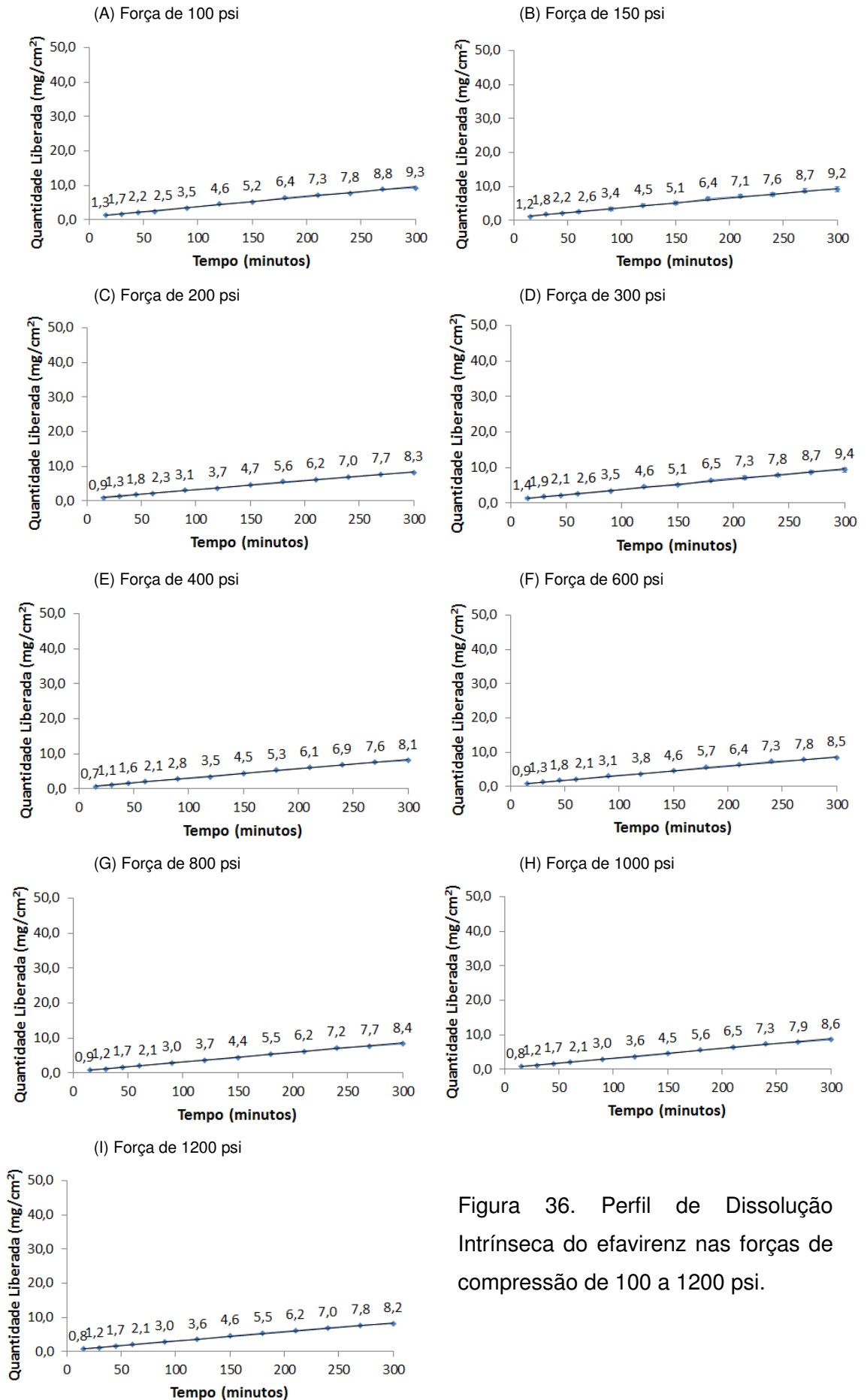


Figura 36. Perfil de Dissolução Intrínseca do efavirenz nas forças de compressão de 100 a 1200 psi.

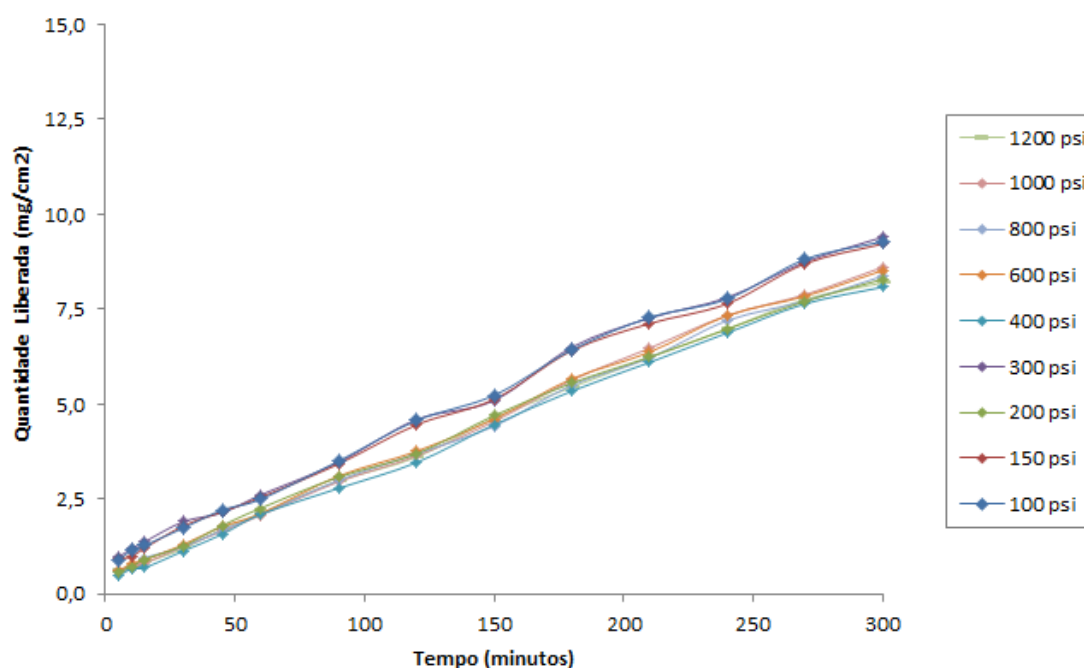


Figura 37. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre forças de compressão.

Tabela 28. Velocidade de dissolução intrínseca nas forças de compressão de 100 a 1200 psi

Força de Compressão (psi)	VDI ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) <sup>1</sup>	R
100	28,99 $\pm$ 0,41	0,9960
150	27,20 $\pm$ 2,27	0,9964
200	26,33 $\pm$ 3,03	0,9977
300	28,83 $\pm$ 1,70	0,9962
400	26,61 $\pm$ 0,22	0,9980
600	27,38 $\pm$ 0,71	0,9982
800	26,88 $\pm$ 0,11	0,9983
1000	28,02 $\pm$ 0,19	0,9982
1200	26,65 $\pm$ 0,08	0,9974

Dados obtidos a partir do perfil de dissolução realizado em 500 mL de meio aquoso contendo 0,5% de lauril sulfato de sódio, velocidade de rotação de 50 rpm, e tempo de compressão de 30 segundos; <sup>1</sup> Média  $\pm$  DP; n=3.

Estudos realizados com o antibiótico josamicina, na faixa de força de compressão de 500 psi a 3000 psi, observaram que a VDI reduziu ligeiramente com

o aumento da força de compressão de 500 psi para 1500 psi (SKINNER & KANFER, 1992). A força de compressão é o parâmetro com maior impacto na velocidade de dissolução intrínseca do fármaco acetaminofeno, pois este tem seu hábito cristalino destruído durante a compactação no preparo das pastilhas (CHAN & GRANT, 1989). O caso do efavirenz é semelhante aquele observado por Yu e colaboradores (2004), em cujo estudo o efeito da força de compressão de 600 psi a 5000 psi na velocidade de dissolução intrínseca dos fármacos metoprolol e furosemida foi avaliado, e os autores relataram que a velocidade de dissolução intrínseca não foi alterada pela variação na força de compressão utilizada (YU *et al.*, 2004).

#### **4.5.8. Método de Preparo das Pastilhas Selecionado**

Uma vez que a análise dos perfis de dissolução intrínseca revelou semelhança entre os perfis na faixa de força de compressão de 100 a 1200 psi e, considerando-se a especificação da farmacopeia para o uso da menor força de compressão necessária para obtenção de pastilhas compactas não desintegrantes (USP 34, 2011), a força de compressão de 600 psi por 30 segundos foi selecionada para uso na metodologia de dissolução intrínseca de efavirenz. Nesta força de compressão foi observado aspecto e dureza adequados, e, além disso, os estudos de DRX demonstraram que esta força de compressão não alterou o hábito cristalino do efavirenz. Força de compressão semelhante a esta adotada no trabalho foi utilizada no caso da rifampicina, em cujo estudo, após a avaliação da faixa de força de compressão de 100 a 5000 psi por 1 minuto, e considerando possíveis transições polimórficas da rifampicina, os autores fixaram a pressão de 500 psi por 1 minuto como a ideal para obtenção de pastilhas compactas e não-desintegrantes (AGRAWAL *et al.*, 2004).

#### **4.5.9. Parâmetros do Teste de Dissolução Intrínseca**

A metodologia de dissolução intrínseca foi desenvolvida a partir da avaliação do impacto de diferentes parâmetros na VDI do efavirenz. Os parâmetros força de compressão, velocidade de rotação, meio de dissolução e concentração do tensoativo foram avaliados. O efeito da força de compressão na velocidade de

dissolução intrínseca do efavirenz foi avaliada durante a seleção do método de preparo da pastilha.

#### **4.5.10. Velocidade de Rotação**

O parâmetro velocidade de rotação foi avaliado empregando-se as velocidades de 50, 100, 150 e 200 rpm e o comparativo entre estas velocidades de dissolução intrínseca foi realizado em 500 mL de meio aquoso contendo 0,5% de lauril sulfato de sódio. Embora o item 4.5.7 demonstre que a força de compressão na faixa avaliada não exerceu influencia na VDI de efavirenz, foi verificado algum possível efeito aditivo das forças de compressão 200 psi, 600 psi e 1000 psi na velocidade de rotação, de forma a interpretar o efeito conjunto destes dois parâmetros na VDI do fármaco. Estas três forças foram utilizadas no sentido de abranger a faixa de força de compressão 100 a 1200 psi analisadas no item 4.5.7. Nesse sentido, o impacto dessas três forças de compressão selecionadas foi avaliado nas velocidades de rotação de 50, 100, 150 e 200 rpm.

A Figura 38 representa a quantidade de fármaco liberada das pastilhas nas condições avaliadas. Foi possível observar que massa maior de fármaco foi liberada, ao final das 5 horas do experimento, nas velocidades de rotação de 100, 150 e 200 rpm em relação a 9 mg de fármaco liberado na velocidade de rotação de 50 rpm, conforme demonstrado na Figura 39. Aproximadamente 12 mg de fármaco foi dissolvida empregando-se a velocidade de rotação de 100 rpm e 18,5 mg nas velocidades de rotação de 150 e 200 rpm. Em termos de percentual de fármaco dissolvido, foi encontrado aproximadamente 3,5% na velocidade de rotação de 100 rpm e 5,0% nas velocidades de rotação de 150 e 200 rpm.

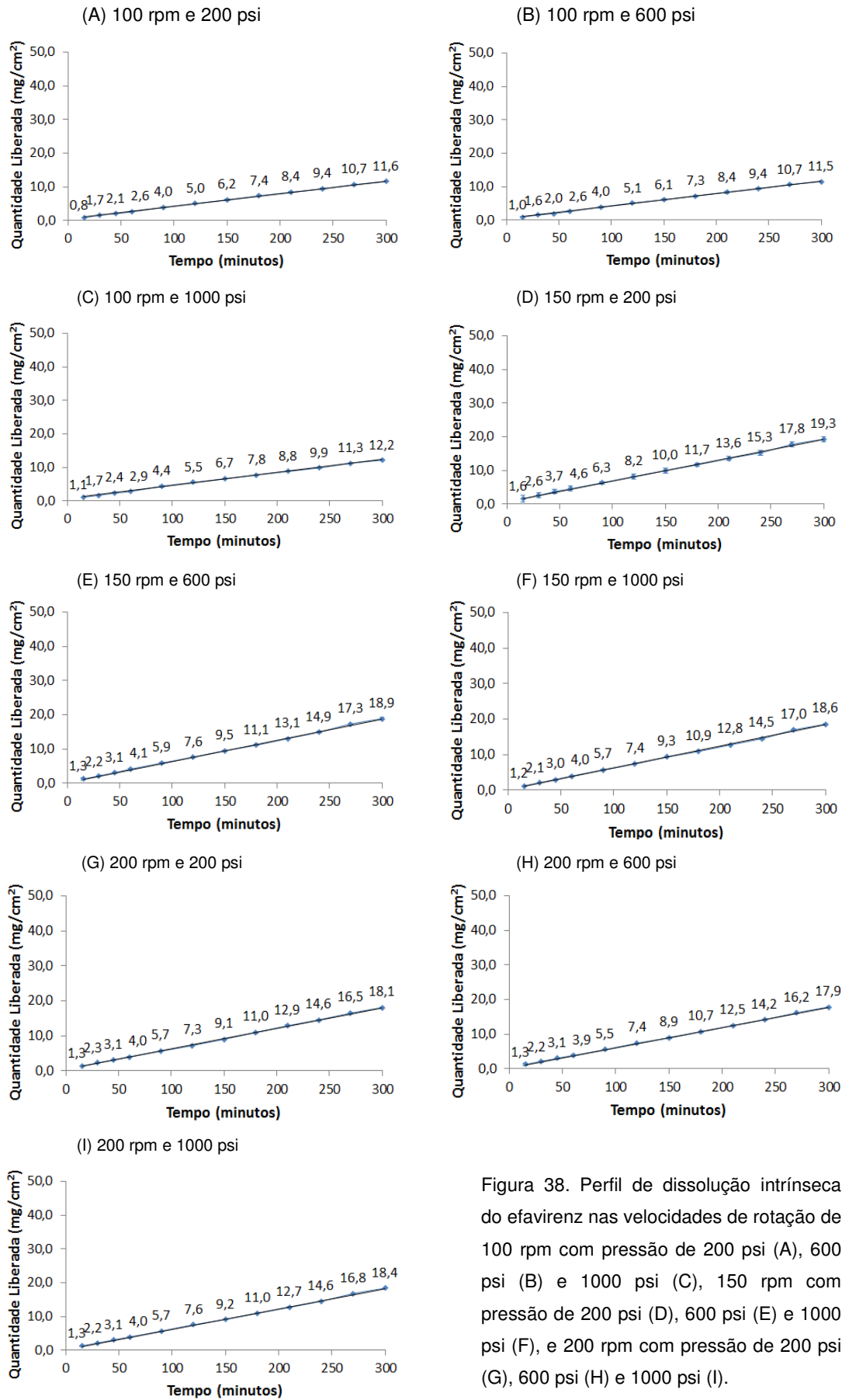


Figura 38. Perfil de dissolução intrínseca do efavirenz nas velocidades de rotação de 100 rpm com pressão de 200 psi (A), 600 psi (B) e 1000 psi (C), 150 rpm com pressão de 200 psi (D), 600 psi (E) e 1000 psi (F), e 200 rpm com pressão de 200 psi (G), 600 psi (H) e 1000 psi (I).



Os valores encontrados estão de acordo com outros trabalhos de dissolução intrínseca que avaliaram o parâmetro velocidade de rotação, nos quais foi observada liberação de maior quantidade de fármaco com o aumento da velocidade de rotação (NAJIB & SULEIMAN, 1990; HENDRIKSEN *et al.*, 1991; SKINNER & KANFER, 1992; LAIHANEN *et al.*, 1996). Entretanto não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os perfis de dissolução intrínseca de efavirenz obtidos nas velocidades de rotação de 150 rpm e 200 rpm ( $P > 0,05$ ), como pode ser observado na Figura 39, a qual demonstra que o aumento na velocidade de rotação de 150 rpm para 200 rpm não proporcionou aumento significativo na quantidade de fármaco dissolvido.

Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre as forças de compressão avaliadas numa mesma velocidade de rotação ( $P > 0,05$ ), confirmando os resultados do item 4.5.7 e indicando ausência de efeito aditivo entre forças de compressão e velocidades de rotação. Os valores médios de VDI encontrados nas velocidades de rotação 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm e 200 rpm, conforme demonstrados Tabela 29, foram, respectivamente, de 27,24  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , 38,06  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , 61,66  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , e 58,82  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . Não foi observada diferença estatística entre os valores de VDI de 150 rpm e 200 rpm ( $P > 0,05$ ).

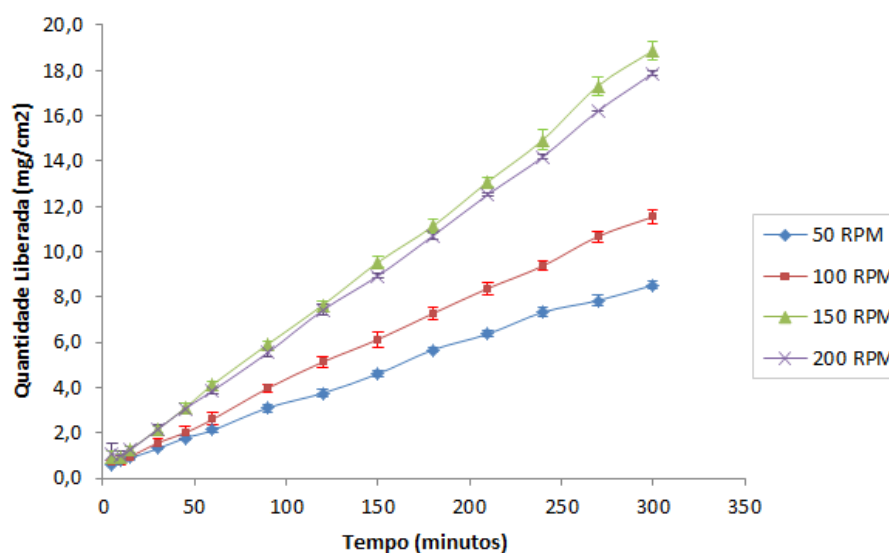


Figura 39. Perfil de dissolução intrínseca de efavirenz em diferentes velocidades de rotação na força de compressão de 600 psi por 30 segundos.

Tabela 29. Velocidade de dissolução intrínseca nas velocidades de rotação de 50 a 200 rpm

Velocidade de Rotação (rpm)	Força de Compressão (psi)	VDI ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) <sup>1</sup>	R
50	200	26,33 $\pm$ 3,03	0,9977
50	600	27,38 $\pm$ 0,71	0,9982
50	1000	28,02 $\pm$ 0,19	0,9982
100	200	37,63 $\pm$ 0,42	0,9990
100	600	37,55 $\pm$ 0,28	0,9993
100	1000	38,99 $\pm$ 0,32	0,9988
150	200	61,61 $\pm$ 0,17	0,9989
150	600	61,67 $\pm$ 0,13	0,9993
150	1000	61,69 $\pm$ 0,15	0,9990
200	200	58,59 $\pm$ 0,77	0,9987
200	600	58,06 $\pm$ 1,21	0,9995
200	1000	59,85 $\pm$ 0,53	0,9994

Dados obtidos a partir do perfil de dissolução realizado em 500 mL de meio aquoso contendo 0,5% de lauril sulfato de sódio e tempo de compressão de 30 segundos;  
<sup>1</sup>Média  $\pm$  DP; n=3.

Embora a farmacopeia americana recomende o uso da velocidade de rotação de 300 rpm para os estudos de dissolução intrínseca em geral (USP 34, 2011), este valor não é o comumente encontrado nos trabalhos de dissolução intrínseca, e a própria farmacopeia americana admite a faixa de velocidade de rotação de 50 a 500 rpm (USP 34, 2011). A maioria dos estudos de dissolução intrínseca descritos na literatura utilizam a velocidade de rotação de 100 rpm (YU *et al.*, 2004; AGRAWAL *et al.*, 2004; SEHIC *et al.*, 2010) ou 50 rpm (BARTOLOMEI *et al.*, 2006; PARK *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2012). Trabalhos utilizando as velocidades de rotação de 150 rpm (KOPARKAR *et al.*, 1990; KOBAYASHI *et al.*, 2000) e 200 rpm (LI *et al.*, 2005; TSUTSUMI *et al.*, 2011) são menos comuns.

Nesse sentido, optou-se pelo uso da velocidade de rotação de 100 rpm nos estudos de dissolução intrínseca de efavirenz, na tentativa de utilizar condições mais brandas de dissolução e, portanto, mais discriminativas. Como pode ser observado, esta velocidade de rotação é comumente utilizada nos estudos de dissolução

intrínseca, e foi capaz de proporcionar valores de massa de efavirenz dissolvido, aproximadamente 12 mg, superiores aqueles encontrados nos testes de dissolução intrínseca realizados na velocidade de rotação de 50 rpm, aproximadamente 9 mg.

#### 4.5.11. Meio de Dissolução

O meio de dissolução foi avaliado considerando-se a composição do meio, pH e concentração do tensoativo. A VDI do efavirenz foi analisada nos meios suco gástrico simulado pH 1,2, tampão acetato pH 4,5, água e suco entérico simulado pH 6,8, e o efeito da adição do tensoativo LSS nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% p/v na VDI do efavirenz foi avaliado em todos os meios considerados. Foram utilizados 900 mL de meio, velocidade de rotação de 100 rpm e as pastilhas foram preparadas com a força de compressão de 600 psi por 30 segundos.

A Figura 40 e as Tabelas 30 e 31 representam o perfil de dissolução intrínseca do efavirenz nos meios suco gástrico simulado, tampão acetato, água, e suco entérico simulado, nas três concentrações do tensoativo avaliadas. A massa média de fármaco liberado ao final das 5 horas da dissolução intrínseca nas concentrações do tensoativo LSS 0,5%, 1,0% e 2,0%, considerando os quatro meios avaliados, foi respectivamente, em torno de 12 mg, 21 mg e 40 mg. O meio suco entérico proporcionou maior massa de efavirenz liberada ao final do teste de dissolução intrínseca para todas as concentrações do tensoativo avaliadas, exceto na concentração de LSS 2,0%, na qual o meio tampão acetato pH 4,5 proporcionou a maior massa de fármaco liberada.

Estes resultados encontram-se de acordo os valores de solubilidade do efavirenz, demonstrados no item 4.2.3, os quais indicam que a solubilidade do fármaco foi maior no meio suco entérico para as três concentrações do tensoativo avaliadas. Considerando a massa de 180 mg do efavirenz utilizada no preparo das pastilhas para realização do teste de dissolução intrínseca e 900 mL de meio de dissolução, foram observadas *condições sink* para todos os meios avaliados na dissolução intrínseca. A diferença observada entre os meios suco entérico simulado e tampão acetato pH 4,5 na concentração de LSS 2,0%, conforme demonstrado na Tabela 32, não foi estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ).

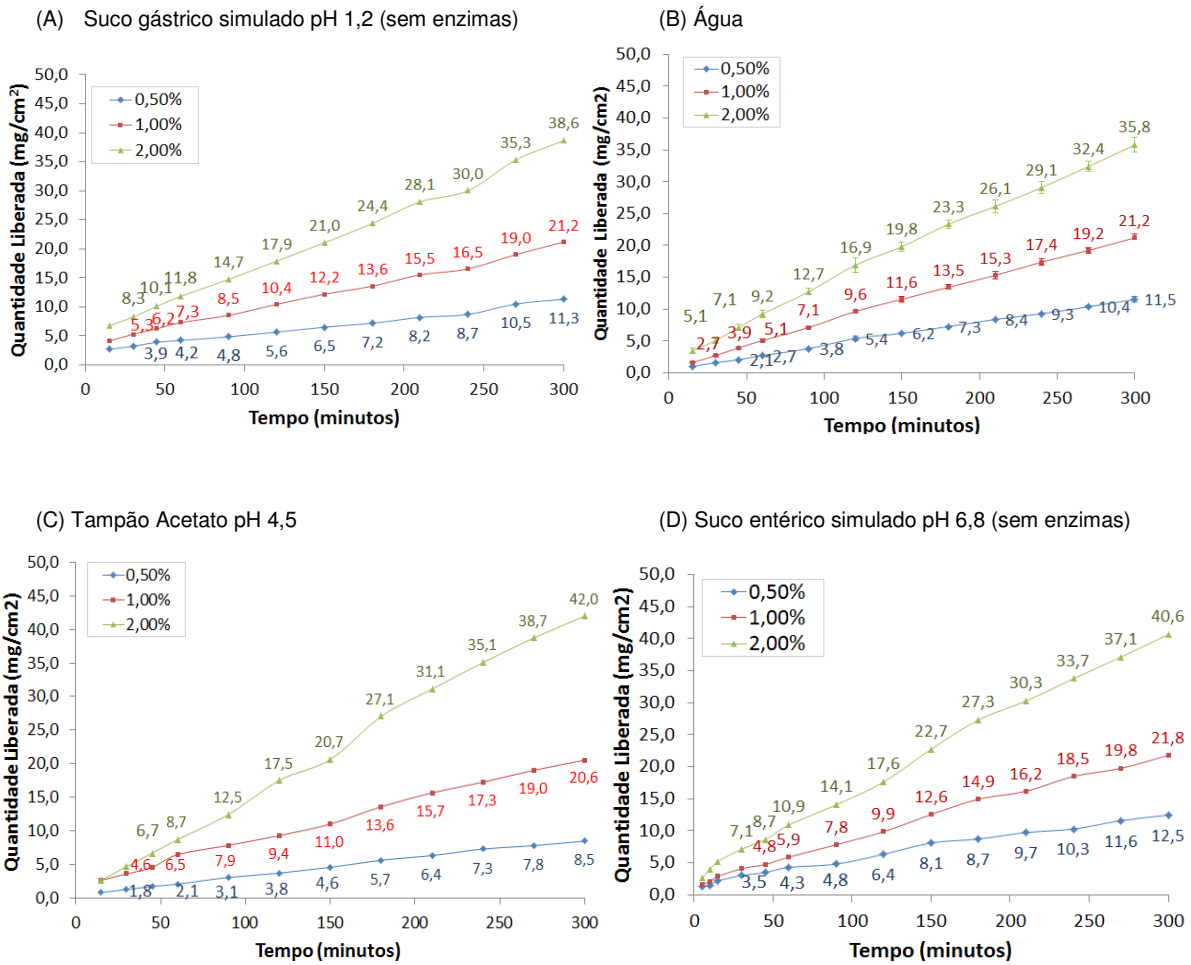


Figura 40. Perfil de dissolução intrínseca de efavirenz do lote D nos meios suco gástrico simulado pH 1,2 (A), água (B), tampão acetato pH 4,5 (C) e suco entérico simulado pH 6,8 (D) nas concentrações do tensoativo LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0%.

Tabela 30. Massa liberada (mg) do lote D nos meios suco gástrico e tampão acetato nas concentrações de LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0% em 100 rpm

Tempo (minutos)	Gástrico LSS 0,5%	Gástrico LSS 1,0%	Gástrico LSS 2,0%	Acetato LSS 0,5%	Acetato LSS 1,0%	Acetato LSS 2,0%
15	2,68	4,12	6,73	1,95	2,68	2,71
30	3,21	5,27	8,25	2,47	3,65	4,74
45	3,90	6,23	10,12	2,99	4,62	6,72
60	4,21	7,28	11,81	3,59	6,50	8,72
90	4,85	8,54	14,75	4,63	7,89	12,47
120	5,64	10,43	17,86	5,64	9,35	17,54
240	8,69	16,54	30,02	9,50	17,29	35,73
300	11,31	21,15	38,64	12,09	20,57	41,98

Tabela 31. Massa liberada (mg) do lote D nos meios água e suco entérico nas concentrações de LSS de 0,5%, 1,0% e 2,0% em 100 rpm

Tempo (minutos)	Água LSS 0,5%	Água LSS 1,0%	Água LSS 2,0%	Entérico LSS 0,5%	Entérico LSS 1,0%	Entérico LSS 2,0%
15	0,98	1,61	3,47	2,18	2,87	5,22
30	1,61	2,73	5,08	3,03	4,08	7,12
45	2,08	3,95	7,11	3,49	4,76	8,65
60	2,72	5,06	9,21	4,29	5,89	10,90
90	3,82	7,12	12,75	4,81	7,85	14,09
120	5,40	9,64	16,91	6,36	9,87	17,65
240	9,29	11,57	29,08	10,28	18,50	33,75
300	11,53	21,21	35,77	12,48	21,79	40,63

Na Tabela 32 é possível observar o comparativo entre os meios de dissolução e entre as concentrações do tensoativo. Na concentração de LSS 0,5% foi

observada diferença estatística entre o meio água e os meios suco gástrico ( $P < 0,05$ ), tampão acetato ( $P < 0,01$ ) e suco entérico ( $P < 0,001$ ). O perfil de dissolução intrínseca realizado em suco entérico também foi estatisticamente diferente daquele realizado nos meios suco gástrico ( $P < 0,01$ ) e tampão acetato ( $P < 0,01$ ). A diferença observada na concentração de LSS 0,5% entre os meios água e suco gástrico, e entre os meios água e suco entérico, também foi observada nas concentrações de 1,0% e 2,0% de LSS, como pode ser observado na Tabela 32. Na concentração de LSS 2,0%, foi observada diferença estatística entre os meios água e tampão acetato ( $P < 0,01$ ), em função do elevado percentual de fármaco dissolvido em tampão acetato nesta concentração.

Os valores médios de VDI de efavirenz nas concentrações de LSS 0,5%, 1,0%, e 2,0%, considerando-se os meios suco gástrico, tampão acetato, água e suco entérico, conforme demonstrados na Tabela 33, foram, respectivamente, de  $34,23 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ,  $63,98 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , e  $123,42 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . As VDI em suco gástrico foram inferiores aquelas observadas nos meios tampão acetato, água e suco entérico para as três concentrações do tensoativo.

Na concentração de LSS 0,5%, a ordem crescente dos valores de VDI entre os meios de dissolução foi de  $28,76 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  em suco gástrico pH 1,2,  $35,23 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  em tampão acetato pH 4,5,  $38,08 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  em suco entérico pH 6,8, e  $36,87 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  em água. As diferenças estatísticas encontradas pelo método de Tukey ANOVA/One Way entre os meios suco gástrico e água ( $P < 0,05$ ), suco gástrico e suco entérico ( $P < 0,01$ ), tampão acetato e água ( $P < 0,01$ ), e tampão acetato e suco entérico ( $P < 0,01$ ) foram confirmadas pela análise dos valores de VDI, como pode ser observada na Tabela 33. Entretanto, os valores de VDI entre os meios suco gástrico e tampão acetato na concentração de LSS 0,5% foram diferentes, e os valores de VDI entre os meios água e suco entérico na concentração de LSS 0,5% foram iguais. Estes dois fatos podem ser explicados pelo baixo coeficiente de correlação (R) encontrado, respectivamente, no meio suco gástrico com LSS 0,5% e suco entérico LSS a 0,5%, conforme observado na Tabela 33.

Tabela 32. Análise de variância entre meios de dissolução intrínseca de efavirenz

Meios	LSS 0,5%	LSS 1,0%	LSS 2,0%
Gástrico x Água	<b>P &lt; 0,05</b>	<b>P &lt; 0,01</b>	<b>P &lt; 0,01</b>
Gástrico x Acetato	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
Gástrico x Entérico	<b>P &lt; 0,01</b>	P > 0,05	P > 0,05
Acetato x Água	<b>P &lt; 0,01</b>	P > 0,05	<b>P &lt; 0,01</b>
Acetato x Entérico	<b>P &lt; 0,01</b>	P > 0,05	P > 0,05
Água x Entérico	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,01</b>	<b>P &lt; 0,001</b>

Tabela 33. Velocidade de dissolução intrínseca em diferentes meios de dissolução

Meio de dissolução	Concentração do tensoativo LSS	VDI ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) <sup>1</sup>	R
Suco gástrico simulado pH1,2 (sem enzimas)	0,5%	28,76 $\pm$ 0,97	0,9898
	1,0%	56,92 $\pm$ 1,04	0,9974
	2,0%	110,37 $\pm$ 4,68	0,9972
Tampão acetato pH 4,5	0,5%	35,23 $\pm$ 0,59	0,9973
	1,0%	63,09 $\pm$ 0,52	0,9972
	2,0%	142,32 $\pm$ 1,29	0,9979
Água	0,5%	36,87 $\pm$ 0,67	0,9984
	1,0%	68,34 $\pm$ 1,44	0,9987
	2,0%	114,32 $\pm$ 1,29	0,9975
Suco entérico simulado pH 6,8 (sem enzimas)	0,5%	36,08 $\pm$ 0,47	0,9896
	1,0%	67,56 $\pm$ 0,58	0,9968
	2,0%	126,85 $\pm$ 3,35	0,9981

Dados obtidos a partir do perfil de dissolução realizado em 900 mL de meio, velocidade de rotação de 100 rpm, força de compressão de 600 psi e tempo de compressão de 30 segundos. <sup>1</sup>Média  $\pm$  DP; n=3.

Na concentração LSS 1,0%, os valores de VDI nos meios suco gástrico (56,92  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ), tampão acetato (63,09  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) e água (36,87  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) foram comparativamente diferentes, enquanto que o valor de VDI no meio suco entérico (67,56  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) foi semelhante ao encontrado no meio água. Utilizando-se 2,0% de LSS, os valores de VDI nos meios suco gástrico (110,37  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ),

tampão acetato ( $142,14 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ), água ( $114,32 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) e suco entérico ( $126,85 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ) foram diferentes. Destaca-se na concentração de LSS 2,0%, a elevada massa de fármaco dissolvida em tampão acetato ao final das 5 horas da dissolução intrínseca, 42 mg, em detrimento de 35 mg de efavirenz liberado da pastilha ao final das 5 horas no meio água.

De maneira geral, foi observada diferença estatística nos perfis de dissolução intrínseca entre todos os meios de dissolução na concentração do tensoativo LSS 0,5%, exceto entre os meios suco gástrico simulado pH 1,2 e tampão acetato pH 4,5 ( $P > 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 32. Tal fato demonstra que a concentração de LSS 0,5% é a que leva a maior discriminação entre os meios. Nesta concentração de tensoativo, os maiores valores de VDI foram encontrados nos meios água e suco entérico simulado.

Os resultados da avaliação entre meios de dissolução realizados nos ensaios de dissolução por dispersão, demonstrados no item 4.4.3, demonstraram, também, que o meio água contendo 0,5% de LSS, mesmo não sendo capaz de atender as *condições sink*, no caso da dissolução por dispersão, demonstrou-se mais discriminativo entre as concentrações de LSS, o que permite inferir que este meio pode ser capaz de verificar diferenças entre as características dos diferentes lotes de efavirenz, como tamanho de partícula e área superficial.

A dissolução de comprimidos de efavirenz produzidos com os lotes A e B do fármaco foi avaliada no meio água utilizando-se diferentes concentrações do tensoativo LSS, conforme demonstrado no item 4.3, e o comportamento dos lotes A a G foi analisado por dissolução por dispersão também no meio água nas três concentrações do tensoativo, conforme demonstrado no item 4.4. Nesse sentido, a avaliação da VDI do efavirenz no meio água contendo LSS foi priorizada. Dessa forma, buscou-se compreender melhor o impacto das características físico-químicas dos diferentes lotes do efavirenz na dissolução intrínseca através da avaliação dos lotes A a G nas mesmas condições da dissolução por dispersão e da dissolução de comprimidos, ou seja, meio água contendo LSS nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0%.



#### 4.5.12. Avaliação do Resíduo da Dissolução Intrínseca

O resíduo da dissolução intrínseca do lote D, utilizado em todos os testes de desenvolvimento da metodologia de dissolução foi avaliado através da técnica de difração de raios-X, como pode ser observado na Figura 42. Foi obtido difratograma correspondente a forma cristalina I do fármaco, demonstrado na Figura 11, o que indica que não houve alteração no polimorfismo do fármaco durante a dissolução intrínseca. Diferenças nos difratogramas antes e depois da dissolução, foram observadas em três dos seis analisados do ácido p-aminosalicílico (FORBES *et al.*, 1995), indicando a importância da análise do estado sólido durante o processo de dissolução.

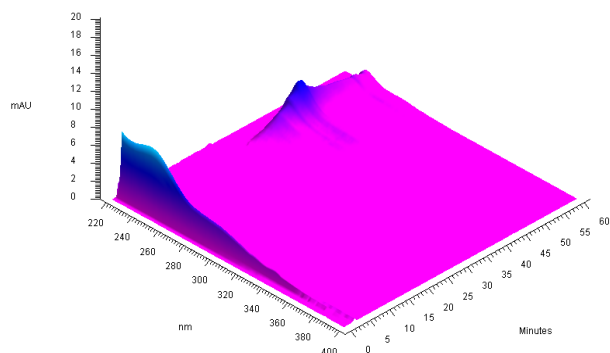


Figura 42. Resíduo da dissolução intrínseca do Lote D.

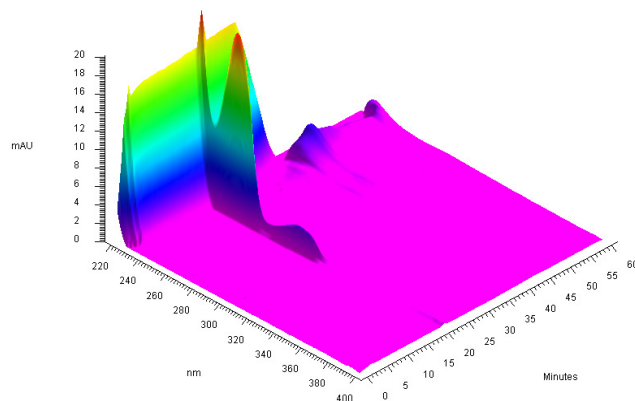
#### 4.5.13. Pesquisa por Substâncias Relacionadas

A Figura 43 representa o espectro em fotodiodos obtido após 5 horas de dissolução intrínseca em meio água contendo 0,5% de LSS. Através da análise comparativa entre o branco, a amostra e o padrão, conclui-se que não houve degradação do fármaco durante o período do teste.

(A) Branco (Meio de dissolução: água + LSS 0,5%)



(B) Padrão Efavirenz



(C) Amostra do teste de dissolução intrínseca após 5 horas

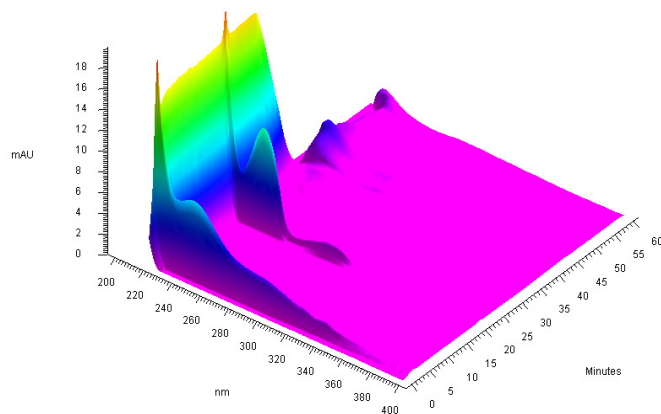


Figura 43. Espectro em fotodiodos na pesquisa por substâncias relacionadas no perfil de dissolução intrínseca. (A) Branco. (B) Padrão efavirenz. (C) Amostras de 5 horas.

## 4.5. PERFIL DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE LOTES DE EFAVIRENZ

### 4.6.1. Lotes do Fármaco Efavirenz

De acordo com os testes realizados, referentes ao desenvolvimento da metodologia por dissolução intrínseca, descritos no item 4.5, foram selecionados os parâmetros os seguintes parâmetros: meio água, volume de 900 mL, 100 rpm, força de compressão de 600 psi por 30 segundos. Uma vez que as metodologias oficiais de dissolução para comprimidos e cápsulas de efavirenz utilizam diferentes concentrações do tensoativo LSS, os lotes A a G do efavirenz foram analisados nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% de LSS, visando verificar a condição ideal para análise comparativa entre lotes. .

A Figura 44 e Tabela 34 representam o perfil de dissolução intrínseca obtido na velocidade de rotação de 100 rpm e concentração do tensoativo LSS 0,5%. A Figura 45 e Tabela 35 demonstram os dados obtidos em 100 rpm e LSS 1,0%, enquanto que a Figura 46 e Tabela 36 indicam os resultados encontrados na velocidade 100 rpm e concentração de LSS de 2,0%.

Considerando-se os resultados descritos na Figura 44 e Tabela 34, notou-se que os lotes de efavirenz liberaram, ao final das 5 horas de dissolução intrínseca nestas condições, aproximadamente 12 mg de fármaco, e foi observado maior percentual de fármaco dissolvido através das pastilhas para os lotes A, D e F. Os lotes B e G apresentaram menor quantidade de fármaco liberada ao longo de todo o perfil de dissolução intrínseca, com destaque para o lote B. Os lotes B e E foram estatisticamente diferentes de todos os lotes ( $P < 0,001$ ) e ligeiramente diferentes ( $P < 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 37. Também foi observada diferença estatística entre os lotes F e G ( $P < 0,05$ ).

Na concentração de LSS 1,0%, como pode ser observado na Figura 45 e Tabela 35, os lotes liberaram uma média de 20,7 mg ao final das 5 horas do teste. Os lotes A, C e D liberaram comparativamente a maior quantidade de fármaco, e os lotes B e E apresentaram a menor quantidade de fármaco dissolvido. Os lotes B e E foram estatisticamente diferentes dos lotes A, C, D e G ( $P < 0,001$ ) e semelhantes ( $P > 0,05$ ), como pode ser observado na Tabela 37. Nesta concentração do tensoativo, o lote F foi estatisticamente diferente dos lotes A ( $P < 0,001$ ), C ( $P < 0,001$ )

D ( $P < 0,001$ ) e G ( $P < 0,05$ ). Também foi observada diferença entre os lotes C e G ( $P < 0,05$ ).

Na concentração de LSS 2,0%, descrita na Figura 46 e Tabela 36, a massa média de 34,81 mg foi obtida ao final das 5 horas do teste de dissolução intrínseca. O lote F proporcionou maior quantidade de fármaco dissolvido e o lote B, por sua vez, obteve comparativamente os menores valores de massa liberada. Foi observada diferença estatística entre o lote B e os lotes A, C, D, E, F e G ( $P < 0,001$ ), assim como entre o lote F e os lotes A e G ( $P < 0,001$ ). Este meio de dissolução, em função da elevada quantidade do tensoativo LSS 2,0%, demonstrou-se menos discriminativo que os demais meios nos quais os lotes de efavirenz foram avaliados, como pode ser observado na Tabela 37, justificando o fato das massas de fármaco liberadas entre os diferentes lotes serem relativamente parecidas ao longo de todo o perfil de dissolução.

A tabela 38 permite a comparação da velocidade de dissolução intrínseca dos diferentes lotes do efavirenz nas três condições de dissolução intrínseca selecionadas. Utilizando-se 100 rpm e LSS 0,5%, foram encontrados valores de VDI comparativamente superiores nos lotes A, D e F, que foram, respectivamente, de  $39,13 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ,  $36,87 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , e  $37,33 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . O lote B apresentou o menor valor de VDI, que foi de  $31,26 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . Os valores de VDI nesta condição de dissolução foram proporcionais a massa de fármaco liberada dos lotes de efavirenz avaliados, conforme Figura 44 e Tabela 33, e confirmaram a análise estatística realizada pelo método de Tukey ANOVA/One Way e descrita na Tabela 37.

Na concentração de LSS 1,0% e 100 rpm, os valores de VDI dos lotes A, D e F, também foram superiores, e respectivamente de  $71,08 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ ,  $68,55 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ , e  $68,30 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . A VDI encontrada para o lote B foi de  $59,53 \mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  e foi a menor dentre todos os lotes avaliados. Nesta concentração do tensoativo também foi observada correlação entre os valores de VDI e a massa de fármaco liberada das pastilhas, como pode ser observado na Figura 45 e Tabela 34.

Comparativo entre lotes a 100 rpm e LSS 0,5%

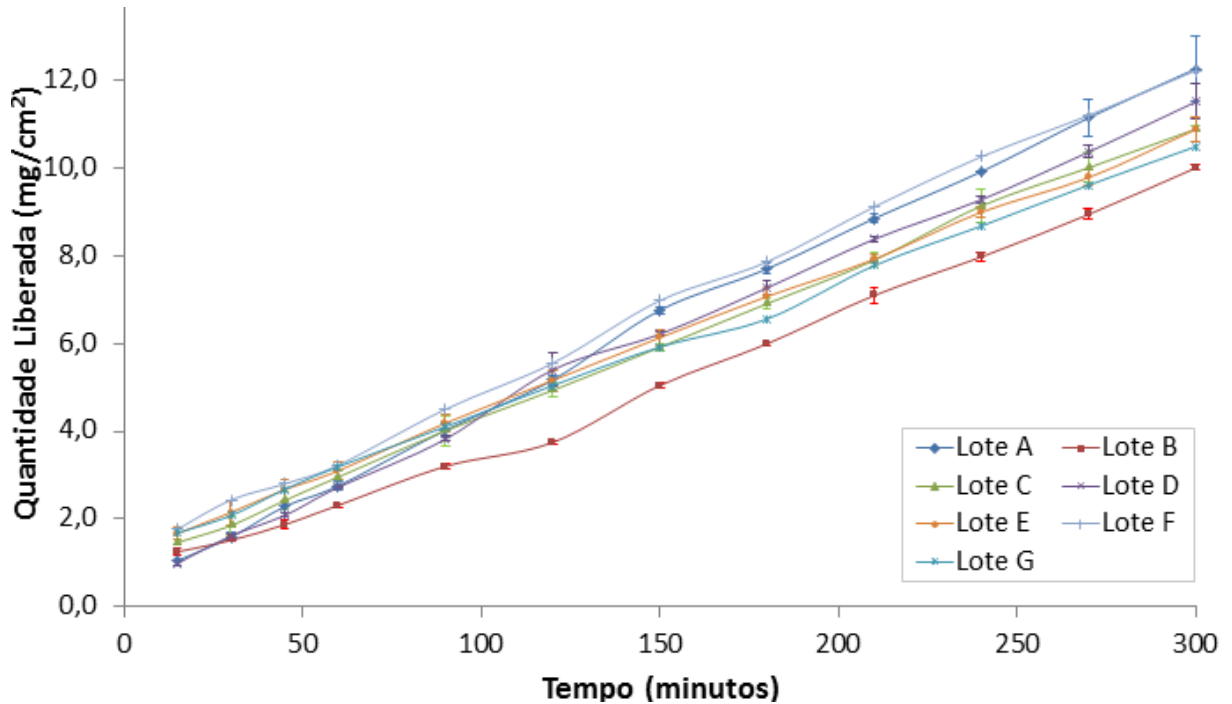


Figura 44. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 0,5%.

Tabela 34. Massa liberada (mg) dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 0,5% e 100 rpm

Tempo (minutos)	A	B	C	D	E	F	G
15	1,05	1,25	1,46	0,98	1,67	1,76	1,68
30	1,59	1,51	1,85	1,61	2,15	2,43	2,08
45	2,28	1,87	2,42	2,08	2,67	2,80	2,67
60	2,76	2,31	2,96	2,72	3,10	3,23	3,19
90	4,03	3,20	4,01	3,82	4,19	4,51	4,10
120	5,17	3,75	4,93	5,40	5,16	5,55	5,04
240	9,92	7,98	9,15	9,29	9,01	10,27	8,69
300	12,28	10,02	10,90	11,53	10,89	12,24	10,50

Comparativo entre lotes a 100 rpm e LSS 1,0%

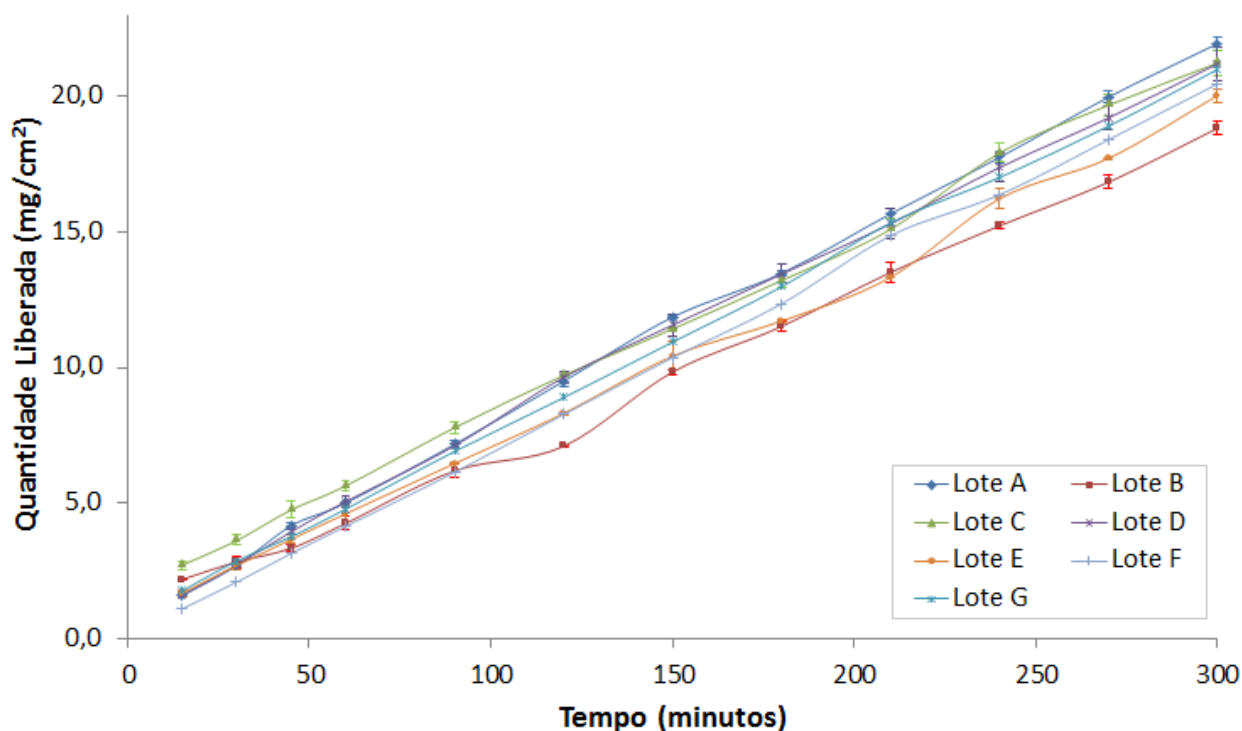


Figura 45. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 1,0%.

Tabela 35. Massa liberada (mg) dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 1,0% 100 rpm

Tempo (minutos)	A	B	C	D	E	F	G
15	1,60	2,19	2,72	1,61	1,69	1,11	1,77
30	2,70	2,84	3,63	2,73	2,70	2,09	2,87
45	4,17	3,34	4,76	3,95	3,67	3,15	3,77
60	5,01	4,26	5,64	5,06	4,61	4,15	4,79
90	7,17	6,19	7,78	7,12	6,47	6,14	6,91
120	9,50	7,10	9,72	9,64	8,31	8,27	8,89
240	17,75	15,23	17,92	17,38	16,23	16,37	17,01
300	21,95	18,83	21,23	21,21	20,03	20,46	21,00

Comparativo entre lotes a 100 rpm e LSS 2,0%

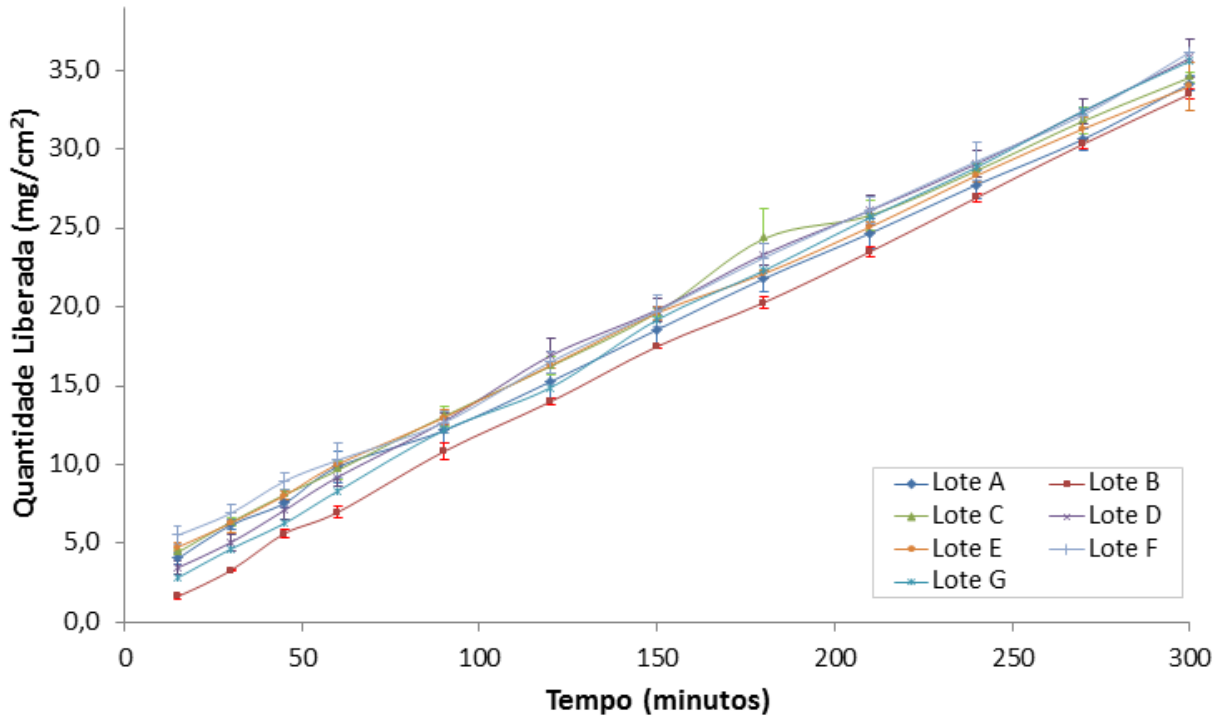


Figura 46. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre lotes de efavirenz a 100 rpm e concentração de LSS de 2,0% .

Tabela 36. Massa liberada (mg) dos diferentes lotes de efavirenz em LSS 2,0% 100 rpm

Tempo (minutos)	A	B	C	D	E	F	G
15	4,05	1,63	4,44	3,46	4,77	5,53	2,83
30	6,18	3,31	6,36	5,08	6,31	6,93	4,66
45	7,56	5,63	8,08	7,11	8,04	8,95	6,28
60	9,85	6,98	9,65	9,21	10,02	10,28	8,32
90	12,17	10,84	13,07	12,74	12,99	12,68	12,18
120	15,27	14,00	16,24	16,91	16,29	16,52	14,89
240	27,76	30,34	28,65	29,08	28,34	29,23	28,86
300	34,16	33,49	34,54	35,77	33,98	36,14	35,59

Tabela 37. Análise de variância dos lotes de efavirenz

Lotes		100 rpm	100 rpm	100 rpm
		LSS 0,5%	LSS 1,0%	LSS 2,0%
B	A	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0, 01</b>
B	E	<b>P &lt; 0,05</b>	P > 0,05	<b>P &lt; 0,001</b>
B	D	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>
B	C	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>
B	G	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>
B	F	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05	<b>P &lt; 0,001</b>
A	E	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05
A	D	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
A	C	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
A	G	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
A	F	P > 0,05	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>
E	D	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05
E	C	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05
E	G	<b>P &lt; 0,001</b>	<b>P &lt; 0,01</b>	P > 0,05
E	F	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05	P > 0,05
D	C	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
D	G	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
D	F	P > 0,05	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05
C	G	P > 0,05	<b>P &lt; 0,05</b>	P > 0,05
C	F	P > 0,05	<b>P &lt; 0,001</b>	P > 0,05
G	F	<b>P &lt; 0,05</b>	<b>P &lt; 0,05</b>	<b>P &lt; 0,001</b>

Com o uso de LSS 2,0%, foram observados maiores valores de velocidade de dissolução intrínseca para os lotes D e G, respectivamente, de 114,39  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$  e 115,24  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ . Este meio de dissolução não foi capaz de perceber as diferenças entre os diferentes lotes de efavirenz. O elevado valor de VDI encontrado no lote D pode estar relacionado ao fato deste lote possuir pequeno valor de média, 2,037  $\mu\text{m}$ , e de  $d(0,1)$ , 0,975  $\mu\text{m}$ , e a presença de partículas de tamanhos comparativamente menores. No lote G, conforme citado anteriormente, o elevado



índice de polidispersão justificaria o elevado valor de VDI através da dissolução das partículas de menores tamanho deste lote.

A Figura 48 compara os lotes A e B nas três condições de dissolução intrínseca avaliadas. O lote A liberou maior massa de fármaco e obteve, ao final das 5 horas do ensaio de dissolução intrínseca, 12,28 mg, 21,95 mg e 34,16 mg, respectivamente, nos meios LSS 0,5%, 1,0% e 2,0%. Foi observada diferença estatística entre os lotes nestes meios, notoriamente nas concentrações de LSS de 0,5% e 1,0%.

Tabela 38. Comparativo entre lotes das velocidades de dissolução intrínseca ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ )

Lote	Rotação	Tensoativo	VDI ( $\mu\text{g}/\text{min}/\text{cm}^2$ )	R
A			39,13 $\pm$ 1,60	0,9991
B			31,26 $\pm$ 1,77	0,9990
C			33,57 $\pm$ 0,30	0,9966
D	100 rpm	LSS 0,5%	36,87 $\pm$ 1,77	0,9990
E			31,92 $\pm$ 1,15	0,9994
F			37,33 $\pm$ 2,16	0,9982
G			30,87 $\pm$ 2,34	0,9992
A			71,08 $\pm$ 0,69	0,9993
B			59,53 $\pm$ 0,79	0,9996
C			65,64 $\pm$ 0,63	0,9973
D	100 rpm	LSS 1,0%	68,55 $\pm$ 2,00	0,9997
E			63,09 $\pm$ 0,21	0,9986
F			68,30 $\pm$ 0,93	0,9986
G			67,63 $\pm$ 1,38	0,9981
A			103,45 $\pm$ 3,41	0,9993
B			110,95 $\pm$ 1,20	0,9993
C			106,30 $\pm$ 0,26	0,9992
D	100 rpm	LSS 2,0%	114,39 $\pm$ 2,00	0,9994
E			102,76 $\pm$ 2,41	0,9967
F			106,97 $\pm$ 1,05	0,9976
G			115,24 $\pm$ 1,31	0,9990

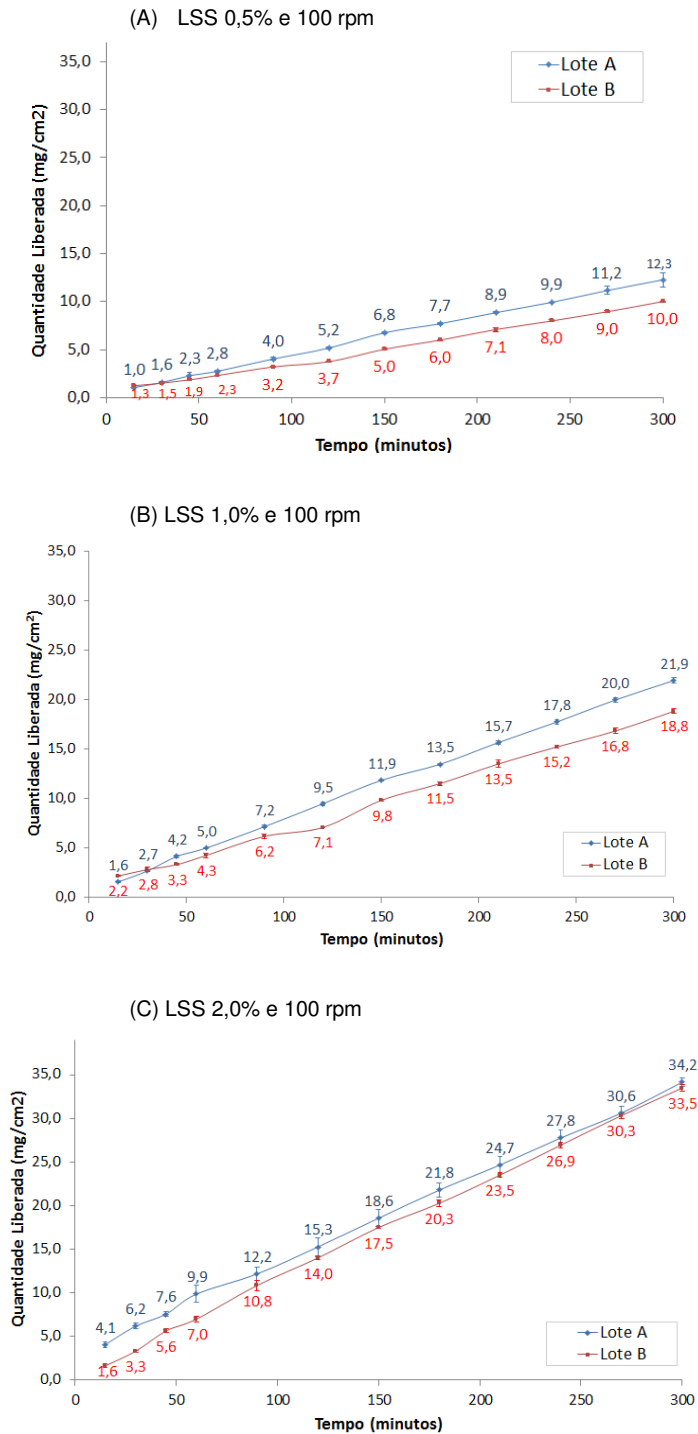


Figura 47. Perfil de dissolução intrínseca comparativo entre os lotes A e B em 100 rpm nas concentrações de LSS de 0,5% (A), 1,0% (B) e 2,0% (C).

#### 4.6.2. Classificação dos Lotes em Grupo 1 e 2

Os lotes do efavirenz foram classificados em dois grupos de acordo com o seu perfil de dissolução intrínseca e seus valores de VDI, como pode ser observado na Tabela 39. A classificação baseou-se na avaliação da análise de variância

descrita na Tabela 37 e nos valores de VDI descritos na Tabela 38, e permitiu a divisão dos lotes em dois grupos estatisticamente iguais entre si e diferente um do outro. Os lotes A, D e F foram classificados como lotes com maior massa de fármaco liberada da pastilha e com maiores de VDI, enquanto que os lotes B e E foram classificados como lotes com menor massa de fármaco liberada da pastilha e com menores valores de VDI.

Tabela 39. Classificação dos lotes do fármaco efavirenz de acordo com o perfil de dissolução intrínseca e valores de VDI

Grupo 1	Lotes com maior massa de fármaco liberada e maiores valores de VDI	Lote A Lote D Lote F
Grupo 2	Lotes com menor massa de fármaco liberada e menores valores de VDI	Lote B Lote E

A análise conjunta da dissolução por dispersão e da dissolução intrínseca permitiu classificar os lotes do fármaco em dois grupos estatisticamente diferentes um do outro e semelhante entre si, como foi apresentado nas Tabelas 23 e 39. Os lotes A, D e F, do grupo 1, proporcionaram elevado percentual de fármaco dissolvido por dispersão e valores de VDI comparativamente superiores. Os lotes classificados como grupo 2 foram diferentes nas metodologias de dissolução por dispersão e dissolução intrínseca. O lote B gerou tanto percentual de fármaco dissolvido por dispersão menor, quanto obteve comparativamente menores valores de VDI. Entretanto, o lote C foi classificado como grupo 2 apenas através da dissolução por dispersão, e o lote E foi classificado como grupo 2 apenas na metodologia de dissolução intrínseca.

Embora diversos fatores relacionados a formulação e ao uso de excipientes farmacêuticos influenciem na dissolução e na biodisponibilidade de formas farmacêuticas, a seleção de matérias-primas com características físico-químicas adequadas para produção destas formas farmacêuticas é relevante. Nesse sentido, pode-se inferir que comprimidos produzidos com os lotes C e E podem não proporcionar biodisponibilidade adequada, uma vez que foi obtida performance destes lotes semelhante a observada no lote B, reprovado na bioequivalência. De

forma semelhante, infere-se que comprimidos produzidos com os lotes D e F podem proporcionar biodisponibilidade adequada.

#### 4.6.3. Avaliação do Resíduo de Dissolução

A avaliação do resíduo da dissolução intrínseca dos lotes de efavirenz foi demonstrado na Figura 48 e indicam que não houve transição polimórfica ao longo do teste.

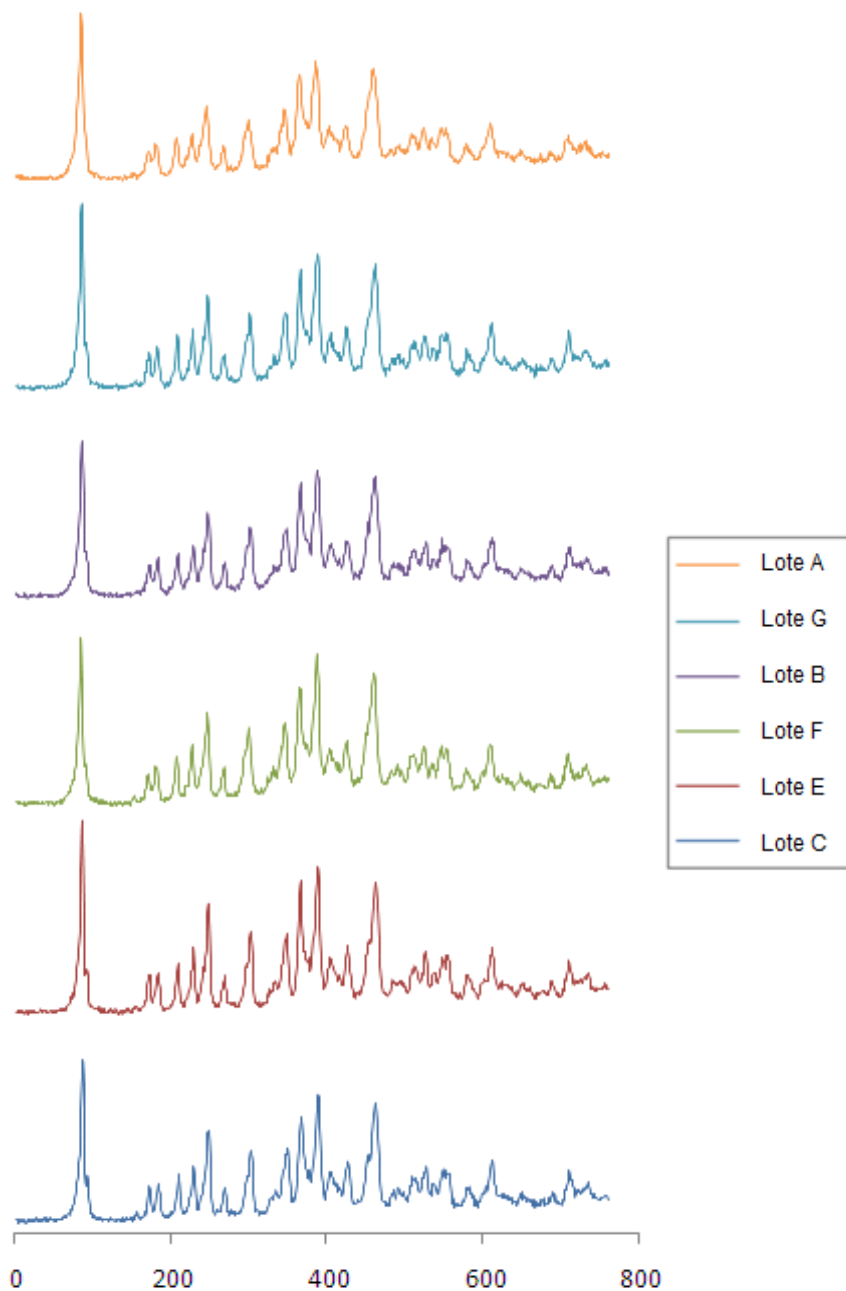


Figura 48. Resíduo da dissolução intrínseca dos lotes de efavirenz.

#### 4.7. AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE METODOLOGIAS DE DISSOLUÇÃO

Conforme citado anteriormente, os lotes A e B do fármaco efavirenz representam lotes de diferentes procedências farmoquímicas e com diferentes características físico-químicas, notoriamente tamanho de partícula e área superficial, como foi apresentado nas Figuras 11 e 12. Estas características tiveram impacto direto na dissolução de comprimidos produzidos com estes lotes do fármaco, uma vez que culminaram na aprovação do lote A no teste de biodisponibilidade, e na reprovação do lote B.

Neste trabalho, os lotes A e B foram avaliados utilizando-se três técnicas distintas de dissolução: a dissolução dos comprimidos produzidos com estes lotes, a dissolução por dispersão e a dissolução intrínseca. Os estudos foram realizados no sentido de verificar a capacidade dessas metodologias de dissolução em discriminar entre os lotes A e B e, com isso, verificar a aplicabilidade destes métodos na diferenciação de outros lotes do fármaco, e, caso possível, inferir sobre o comportamento destes lotes na biodisponibilidade.

As condições mais discriminativas observadas em cada uma destas técnicas foram apresentada na Figura 49, a qual permite correlacionar as três metodologias de dissolução. O lote A apresentou comparativamente percentual elevado de dissolução de comprimidos e de dissolução por dispersão, assim como massa de fármaco liberado das pastilhas significativamente superior ao lote B.

Os comprimidos produzidos com os lotes A e B foram analisados pelas metodologias da FA, FB e Far, como demonstrado na Figura 28. Não foi observada diferença entre os lotes na metodologia da FA. A metodologia da FB demonstrou diferença no perfil de dissolução entre os lotes A e B, entretanto a condição mais discriminativa foi obtida com a metodologia de Far.

No caso da dissolução por dispersão, os lotes A e B foram avaliados nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,0% de LSS, e embora em todas estas concentrações tenham sido observadas diferenças estatísticas entre ambos os lotes, conforme Tabela 24, a concentração de LSS 0,5% representa uma condição mais branda de dissolução e, por isso, foi selecionada.

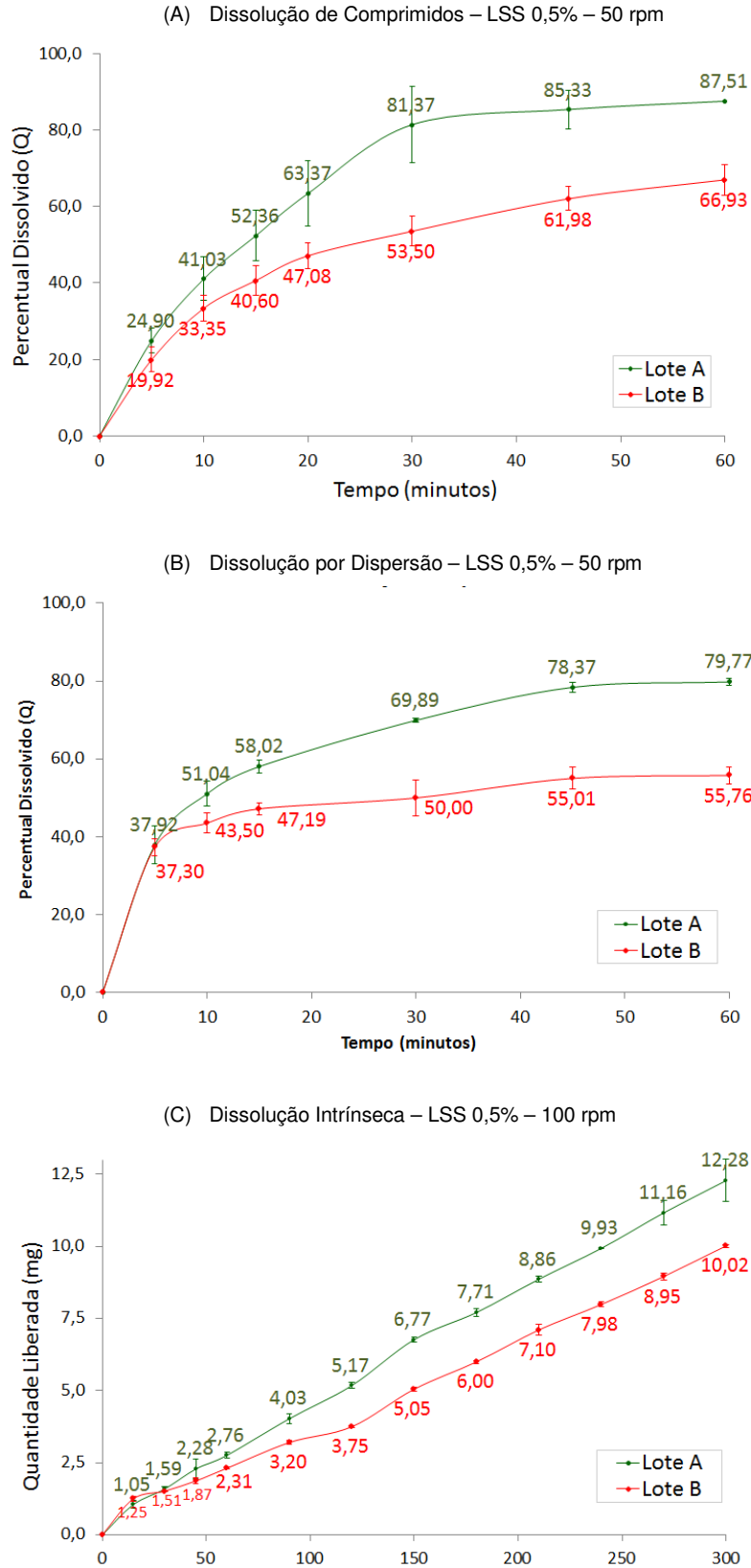


Figura 49. Comparativo entre metodologias de dissolução com os lotes A e B: (A) Dissolução de comprimidos pela metodologia de Far a 50 rpm e LSS 0,5%, (B) Dissolução por dispersão a 50 rpm e LSS 0,5%, (C) Dissolução Intrínseca a 100 rpm e LSS 0,5%.

Os perfis de dissolução intrínseca dos lotes A e B foram distintos nas três concentrações do tensoativo, conforme representado na Tabela 37. De forma semelhante ao observado na dissolução por dispersão, a dissolução intrínseca na concentração de LSS 0,5% proporcionou maior diferença entre os lotes A e B, como foi apresentado na Figura 49.

Nesse sentido, as três técnicas podem ser utilizadas na avaliação de lotes do fármaco. As técnicas de dissolução por dispersão e dissolução intrínseca representam metodologias com aplicação principalmente na etapa de pré-formulação e de desenvolvimento de formas farmacêuticas. Diferentes lotes de matérias-primas podem ser avaliados através destas técnicas, em condições discriminativas e, com isso, permitir a seleção de lotes do fármaco com características físico-químicas que permitam a produção de formas farmacêuticas com dissolução adequada e, possivelmente, predizer a performance *in vivo*.

## **5 CONCLUSÕES**



## 5. CONCLUSÕES

- Na caracterização dos lotes de efavirenz, através das técnicas de DRX, DSC, TGA e IV-TF, foi confirmada a presença apenas do polimorfo I em todos os lotes avaliados.
- A análise de distribuição de tamanho de partícula demonstrou variabilidade nos tamanhos médios de partícula, nos valores de moda e nos índices de polidispersão entre os lotes de efavirenz. Os lotes A e D possuem os menores valores de tamanho de partícula, enquanto que os lotes B e E apresentam os maiores tamanhos de partícula. A diferença observada nos valores de área superficial e de MEV foram correspondentes aos valores de tamanho de partícula encontrados.
- A solubilidade do efavirenz foi maior no meio suco entérico nas três concentrações de LSS avaliadas em comparação aos meios: tampão acetato, água e suco gástrico. A análise comparativa entre lotes demonstrou semelhança entre os lotes avaliados, exceto o lote C que proporcionou valores de solubilidade superiores aos demais lotes.
- A dissolução de comprimidos produzidos com os lotes A e B do fármaco, utilizando-se as metodologias da FA, FB e Far, indicaram que apenas as metodologias da FB e Far foram capazes de discriminar entre estes lotes. A metodologia de Far foi a mais discriminativa dentre as metodologias avaliadas.
- A técnica da dissolução por dispersão permitiu relacionar o percentual de fármaco dissolvido por dispersão e características do fármaco, como tamanho de partícula e área superficial, principalmente na concentração de LSS 0,5%. Diferenças estatísticas no percentual de fármaco dissolvido por dispersão entre os lotes A e B foram observadas nas três concentrações do tensoativo LSS.
- A força de compressão não exerceu efeito na VDI do efavirenz e os valores de VDI foram maiores com o aumento da velocidade de rotação, exceto em

200 rpm, cujo valor de VDI foi semelhante ao encontrado em 150 rpm. Dentre os meios avaliados, a VDI foi menor no suco gástrico, e foram encontrados valores de VDI semelhantes entre os meios água e suco entérico nas concentrações do tensoativo de 0,5% e 1,0%.

- O método de preparo das pastilhas desenvolvido não alterou a estrutura cristalina do efavirenz, conforme demonstrado nos testes de DRX. De forma semelhante, a análise dos resíduos de dissolução intrínseca revelou a presença do polimorfo I do efavirenz, indicando que não houve transição polimórfica.
- A dissolução intrínseca foi capaz de demonstrar diferenças entre os lotes A e B nas concentrações de LSS 0,5% e 1,0% a 100 rpm. O lote A, aprovado na bioequivalência, proporcionou valores de VDI significativamente superiores aqueles encontrados no lote B, reprovado na bioequivalência.
- A classificação dos lotes de efavirenz nos grupos 1 e 2, permitiu inferir que comprimidos produzidos com fármaco dos lotes D e F podem proporcionar biodisponibilidade adequada, enquanto que comprimidos produzidos com os lotes C e E podem não obter a performance *in vivo* desejada.
- As condições mais discriminativas observadas nas metodologias de dissolução de comprimidos, dissolução por dispersão e dissolução intrínseca foram obtidas utilizando-se o tensoativo LSS na concentração de 0,5%. Na dissolução de comprimidos e dissolução por dispersão, a velocidade de rotação de 50 rpm foi adequada na discriminação entre os lotes, enquanto que na metodologia de dissolução intrínseca a velocidade de rotação foi de 100 rpm.
- As matérias-primas de efavirenz disponíveis no mercado nacional possuem diferentes características físico-químicas, notoriamente tamanho de partícula e área superficial.

## **6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABURUB, A.; RISLEY, D.S.; MISHRA, D. **A critical evaluation of fasted state simulating gastric fluid (FaSSGF) that contains sodium lauryl sulfate and proposal of a modified recipe.** *Int. J. Pharm.*, 327, p.16-22, 2008.

ADVEEF, A.; TSINMAN, O. **Miniaturized rotating disk intrinsic dissolution rate measurement: Effects of buffer capacity in comparison to tradicional Wood's apparatus.** *Pharm. Res.*, 25, p. 2613-2627, 2008.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P.V.; PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. **Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance.** *Eur. J. Pharm. Sci.*, 22, p.127-144, 2004.

ALLESØ, M.; CHIENG, N.; REHDER, S.; RANTANEN, J.; RADES, T.; AALTONEN, J. **Enhanced dissolution rate and synchronized release of drugs in binary systems through formulation: Amorphous naproxen-cimetidine mixtures prepared by mechanical activation.** *J. Control. Rel.*, 136, p.45-53, 2009.

ALSENZ, J.; KANSY, M. **High throughput solubility in drug discovery and development.** *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 59, p.546-567, 2007.

AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. **A theoretical basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability.** *Pham. Res.*, 12, p.413-420,1995.

ANSARI, M.A.; STEPANEK, F. **The effect of granule microstructure on dissolution rate.** *Powder Technol.*, 181, p.104-114, 2008.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**, 2ª edição, Editora Artmed, Porto Alegre, 2005.

AYRES, C. B.; DICKINSON, W.; KIRK, P.; PUGH, R.; SHARMA-SINGH, G.; KITTLETY, R. **Intrinsic dissolution rate determinations in early development and relevance to in vivo performance.** *Am. Pharm. Rev.*, v.10, 2, p.74-79, 2007.

AZARMI, S.; ROA, W.; LÖBENBERG, R. **Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms.** *Int. J. Pharm.*, 328, p.12-21, 2007.

BABU, R.J.; BROSTOW, W.; KALOGERAS, I.M.; SATHIGARI, S. **Glass transitions in binary drug + polymer systems.** *Materials Letters*, 63, p. 2666-2668, 2009.

BALASUBRAMANIAM, J.; BEE, T. **Influence of superdisintegrants on the rate of drug dissolution from oral solid dosage forms.** *Pharm. Technol.*, Supplement to the April 2009 Issue. Disponível em:

<<http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=590450&sk=&date=&pageID=3>>. Acesso em: 29/06/10, 12:20.

BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; ANTONIELLA, E.; RODOMONTE, A. **Physico-chemical characterization and intrinsic dissolution studies of a new hydrate form of diclofenac sodium: comparison with anhydrous form.** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 40, p.1105-1113, 2006.

BERGER, C.M.; TSINMAN, O.; VOLOBOY, D.; LIPP, D.; STONES, S.; AVDEEF, A. **Technical Note: Miniaturized intrinsic dissolution rate (Mini-IDRTM) measurement of griseofulvin and carbamazepine.** *Dissolution Technol.*, 14, p.39-41, 2007.

BERGSTRÖM, C.A.S; WASSVIK, C.M.; JOHANSSON, K.; HUBATSCH, I. **Poorly Soluble Marketed Drugs Display Solvation Limited Solubility.** *J. Med. Chem.*, 50, 23, p 5858–5862, 2007.

BRASIL, Resolução RE n.1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Diário Oficial da União de 01 de agosto de 2005.

BRASIL, Resolução RDC n.31. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 11 de agosto de 2010 . Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo.

BREWSTER, M.E.; LOFTSSON, T. **Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers.** *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 59, p.645-666, 2007.

BROWN, C.K.; CHOKSHI, H.P; NICKERSON, B.; REED, R.A.; ROHRS, B.R.; SHAH, P.S. **Acceptable analytical practices for dissolution testing of poorly soluble compounds.** *Pharm. Technol.*, 28, 56-65, 2004.

CARINI, J.P; PAVEI, C.; SILVA, A.P.C.; MACHADO. G; MEXIAS, A.S.; PEREIRA, V.P.; FIALHO, S.L.; MAYORGA, P. **Solid state evaluation of some thalidomide raw materials.** *Int. J. Pharm.*, 372, p.17-23, 2009.

CHAN, H.; GRANT, D. J. W. **Influence of compaction on the intrinsic dissolution rate of modified acetaminophen and adipic acid crystals.** *Int. J. Pharm.*, 57, p.117-124, 1989.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKA, A. **Preparation and characterization of etoricoxib solid dispersions using lipid carriers by spray drying technique.** *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 6, p.405-409, 2005.

CHIAPPETTA, D.A.; ALVAREZ-LORENZO, C.; REY-RICO, A.; TABOADA, P.; CONCHEIRO, A.; SOSNIK, A. **N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antirretroviral efavirenz.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 78, p.24-37, 2010a.

CHIAPPETTA, D.A.; FACORRO, G.; CELIS, E.R.; SOSNIK, A. **Synergistic encapsulation of the anti-HIV agente efavirenz within mixed poloxamine/poloxamer polymeric micelles.** *Nanomedicine*, 7, p.624-637, 2011a.

CHIAPPETTA, D.A.; HOCHT, C.; TAIRA, C.; SOSNIK, A. **Efavirenz-loaded polymeric micelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability.** *Nanomedicine*, 5, p.11-23, 2010b.

CHIAPPETTA, D.A.; HOCHT, C.; SOSNIK, A. **A highly concentrated and taste-improved aqueous formulation of efavirenz for a more appropriate pediatric management of the anti-HIV therapy.** *Curr. HIV Res.*, 8, p.23-31, 2010c.

CHIAPPETTA, D.A.; HOCHT, C.; TAIRA, C.; SOSNIK, A. **Oral pharmacokinetics of the anti-HIV efavirenz encapsulated with polymeric micelles.** *Biomaterials*, 32, p.2379-2387, 2011b.

CHOW, A.H.L.; HSIA, C.K.; GORDON, J.D.; YOUNG, J.W.M.; VARGA-BUTLER, E.I. **Assessment of wettability and its relationship to the intrinsic dissolution rate of doped phenytoin crystals.** *Int. J. Pharm.*, 126, p.21-28, 1995.

CHOWDARY, K.P.R.; ENTURI, V. **Enhancement of dissolution rate and formulation development of efavirenz tablets employing starch citrate – A new modified starch.** *J. Applied Pharm. Sci.*, 1, 5, p. 119-123, 2011.

CHOWDARY, K.P.R.; NARESH, A. **Formulation development of efavirenz tablets employing  $\beta$  cyclodextrin-PVP K30-SLS: A factorial study.** *J. Applied Pharm. Sci.*, 1, 9, p.130-134, 2011.

DELANEY, J.S. **Predicting aqueous solubility from structure.** *Drug Discov. Today*, 10, p.289-295, 2005.

DE VILLIERS, M.M. **Influence of agglomeration of cohesive particles on the dissolution behavior of furosemide powder.** *Int. J. Pharm.*, 136, p.175-179, 1996.

DOKOUMETZIDIS, A.; MACHERAS, P. **A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System.** *Int. J. Pharm.*, 321, p.1-11, 2006.

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.** *Pharm. Res.*, 15, p.11-22,1998.

DRUG BANK. **Efavirenz.** Disponível em: <<http://www.drugbank.ca/drugs/DB00625>>. Acesso em: 19/01/12, 14:35.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5.ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

FLICKER, F.; EBERLE, A.; BETZ, G. **Variability in commercial carbamazepine samples – Impact on drug release.** *Int. J. Pharm.*, 410, p.99-106, 2011.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Dissolution Methods.** Disponível em: <[http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp\\_SearchResults\\_Dissolutions.cfm?PrintAll=1](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm?PrintAll=1)>. Acesso em: 19/05/10, 14:30.

GALIA, E.; NICOLAIDES, E.; HÖRTER, D.; LÖBENBERG, R.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J.B.; **Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of Class I and II drugs.** *Pham. Res.*, v.15, n.5, p.698-705, 1998.

GAO, J. Z.; HUSSAIN,M.A.; MOTHERAM, R.; GRAY, D.A.B.; BENEDEK, I.H.; FISKE, W.D.; DOLL, W.J.; SANDEFER, E.; PAGE,R.C.; DIGENIS, G.A. **Investigation of human pharmacoscintigraphic behavior of two tablets and a capsule formulation of high dose, poorly water soluble/high permeable drug (efavirenz).** *J. Pharm. Sci.*, 96, 11, p.2970-2977, 2007.

GHAZAL, H.S.; DYAS, A.M; FORD, J.L.; HUTCHEON, G.A. ***In vitro* evaluation of the dissolution behavior of itraconazole in bio-relevant media.** *Int. J. Pharm.*, 366, p.117-123, 2009.

GILCHRIST, S.E.; LETCHFORD, K.; BURT, H.M. **The solid-state characterization of fusidic acid.** *Int. J. Pharm.*, 422, p.425-433, 2012.



GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 11ª edição, Editora McGraw-Hill Interamerica do Brasil, Rio de Janeiro, 2006.

GRAY, V.; KELLY, G.; XIA, M.; BUTLER, C.; THOMAS, S.; MAYOCK, S. **The science of USP 1 and 2 dissolution: Present challenges and future relevance**. *Pharm. Res.*, v.26, n.6, p.1289-1302, 2009.

HE, Z.; ZHONG, D.; CHEN, X.; LIU, X.; TANG, X.; ZHAO, L. **Development of medium for nimodipine tablets based on bioavailability evaluation**. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 21, p.487-491, 2004.

HENDRIKSEN, B.A. **Characterization of calcium fenopfen: 3. Mechanism of dissolution from rotating discs**. *Int. J. Pharm.*, 75, p.63-72.

ISSA, M.G.; FERRAZ, H.G. **Intrinsic dissolution as a tool for evaluating drug solubility in accordance with the Biopharmaceutics Classification System**. *Dissolution Technol.*, 18, p.6-13, 2011.

ITO, S.; NISHIMURA, M.; KOBAYASHI, Y.; ITAI, S.; YAMAMOTO, K. **Characterization of polymorphs and hydrates of GK-128, a serotonin 3 receptor antagonist**. *Int. J. Pharm.*, 151, p.133-143, 1997.

JINNO, J.; OH, D.; CRISON, J.R.; AMIDON, G.L. **Dissolution of ionizable water-insoluble drugs: The combined effect of pH and surfactant**. *J. Pharm. Sci.*, 89, p.268-274, 2000.

JUN, S.W.; KIM, M.; JO, G.H.; LEE, S.; WOO, J.S.; PARK, J.; HWANG, S. **Cefuroxime axetil solid dispersions prepared using solution enhanced dispersion by supercritical fluids**. *J. Pharm. Pharmacol.*, 12, p.1529-1537, 2005.

JUNICHI, J.; OH, D.; CRISON, J.R.; AMIDON, G.L. **Dissolution of ionizable water-insoluble drugs: The combined effect of the pH and surfactant**. *J. Pharm. Sci.*, 89, p.268-274.

KASIM N.A., WHITEHOUSE M., RAMACHANDRAN C., BERMEJO M., LENNERNA H., HUSSAIN A. S., JUNGINGER H. E., STAVCHANSKY S. A., MIDHA K. K., SHAH V. P., AMIDON G. L. **Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification.** *Mol. Pharm.*, v.1, n. 1, 85-96, 2004.

KESAVAN, K.; RAO, U.V.; RAJINIKANTH, P.S.; WANI, M.; BALASUBRAMANIAM, J. **Immediate release tablets of valsartan and efavirenz: Role of concentration of superdisintegrants.** *Ars. Pharm.*, 49, 3, p.229-243, 2008.

KIM, J.; KIM, M.; PARK, H.J.; JIN, S.; LEE, S.; HWANG, S.; **Physicochemical properties and oral bioavailability of amorphous atorvastatin hemi-calcium using spray-drying and SAS process.** *Int. J. Pharm.*, 359, p.211-219, 2008.

KOBAYASHI, Y.; ITO, S.; ITAI, S.; YAMAMOTO, K. **Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dehydrate.** *Int. J. Pharm.*, 193, p.137-146, 2000.

KORPARKAR, A.D.; AUGSBURGUER, L.L.; SHANGRAW, R.F. **Intrinsic dissolution rates of tablet filler-binders and their influence on the dissolution of drugs from tablet formulations.** *Pharm. Res.*, 7, p.80-86, 1990.

LAIHANEN, N.; MUTTONEN, E.; LAAKSONEN, M. **Solubility and intrinsic dissolution rate of alprazolam crystal modifications.** *Pharm. Dev. Tech.*, 1, p.373-380, 1996.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. **Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.50, 1, p.47-56, 2000.

LI, S.; WONG, S.; SETHIA, S.; ALMOAZEN, H.; JOSHI, Y.M.; SERAJUDDIN, A.T.M. **Investigation of solubility and dissolution of a free base and two different salt forms as a function of pH.** *Pharm. Res.*, 22, p.628-635, 2005.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. **Classification of orally administered drugs on the World Model list of Essential Medicines according**

**to the biopharmaceutics classification system.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, p.265-278, 2004.

LÖBENBERG, R.; AMIDON, G.L. **Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, p.3-12, 2000.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. **A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada.** *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 38, 2002.

MAGGIOLO, F. **Efavirenz: a decade of clinical experience in the treatment of HIV.** *J. Antimicrob. Chemother.*, 64, p.910-928, 2009.

MADHAVI, B.B.; KUSUM, B.; CHARANYA, C.K.; MADHU, M.N; HARSA, V.S.; BANJI, D. **Dissolution enhancement of efavirenz by solid dispersion and PEGlation techniques.** *Int. J. Pharm. Invest.*, 1, 1, p. 29-34, 2011.

MAUGER, J.; BALLARD, J.; BROCKSON, R.; DE, S.; GRAY, V.; ROBINSON, D. **Intrinsic dissolution performance testing of the USP dissolution apparatus 2 (rotating paddle) using modified salicylic acid calibrator tables: Proof of principle.** *Dissolution Technol.*, 10, 3, p.6-14, 2003.

MAURIN, M.B.; ROWE, S.M.; BLOM, K.; PIERCE, M.E. **Kinetics and mechanism of hydrolysis of efavirenz.** *Pharm. Res.*, 19, n.4, p.517-521, 2002.

MÜLLER, C.E. **Prodrug approaches for enhancing the bioavailability of drugs with low solubility.** *Chem. Biodiv.*, 6, p.2071-2083, 2009.

MUÑOZ-MORENO, J.; FUMAZ, C.R.; FERRER, M.J.; GONZÁLEZ-GARCIA, M.; MOLTO, J.; NEGREDO, E.; CLOTED, B. **Neuropsychiatric symptoms associated with efavirenz: Prevalence, correlates, and management. A neurobehavioral review.** *AIDS*, 11, p.103-109, 2009.

NAJIB, N.M.; SULEIMAN, M.S. **Determination of some parameters influencing the dissolution rate of famotidine.** *Int. J. Pharm.*, 61, p.173-178, 1990.

OKUMU, A.; DIMASO, M.; LÖBENBERG, R. **Computer simulations using GastroPlus™ to justify a biowaiver for etoricoxib solid oral drug products.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 72, p.91-98, 2009.

PABLA, D.; AKHLAGHI, F.; ZIA, H. **A comparative pH-dissolution profile study of selected commercial levothyroxine products using inductively couple plasma mass spectrometry.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 72, p.105-110, 2009.

PAPP, R.; LUK, P.; MULLETT, W.M.; KWONG, E.; DEBNATH, S.; THIBERT, R. **Development of a discriminating in vitro dissolution method for a poorly soluble NO-donating selective cyclooxygenase-2 inhibitor.** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 47, p.16-22, 2008.

PARK, H.J.; KIM, M.; KIM, J.; CHO, W.; PARK, J.; CHA, K.; KANG, Y.; HWANG, S. **Solid-state carbon NMR characterization and investigation of intrinsic dissolution behavior of fluconazole polymorphs, anhydrate forms I and II.** *Chem. Pharm. Bull.*, 58, p.1243-1247, 2010.

PARK, S.; CHOI, H. **The effects of the surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs.** *Int. J. Pharm.*, 321, p.35-41, 2006.

PERSSON, A.M.; PETTERSSON, C.; SOKOLOWSKI, A. **Correlation of in vitro dissolution rate and apparent solubility in buffered media using a miniaturized rotating disk equipment: Part I. Comparison with a traditional USP rotating disk apparatus.** *Drug Discov. Ther.*, 3, p.104-113, 2009.

POUTON, C. W. **Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and lipid formulation classification system.** *Eur. J. Pharm. Sci.*, 29, p.278-287, 2006.

QURESHI, S.A. **Developing discriminatory drug dissolution tests and profiles: Some thoughts for consideration on the concept and its interpretation.** *Dissolution Tech.*, 13, 4, p.18-23, 2006.

RABEL, S.R.; MAURIN, M.B.; ROWE, S.M.; HUSSAIN, M. **Determination of the p<sub>ka</sub> and pH-solubility behavior of an ionizable cyclic carbamate (S)-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one.** *Pharm. Dev. Tech.*, 1, p.91-95, 1996.

RABEL, S.R.; SUN, S.; MAURIN, M.B. **Electronic and resonance effects on the ionization of structural analogues of efavirenz.** *AAPS Pharm. Sci.*, v.3., 4, p.1-4, 2001.

RAJESH, Y.V.; BALASUBRAMANIAM, J.; BINDU, K.; SRIDEVI, R.; SWETHA, M.; RAO, V.U. **Impact of superdisintegrants on efavirenz release from tablet formulations.** *Acta Pharm.*, 60 p.185-195, 2010.

RASENACK, N.; HARTENHAUER, H.; MÜLLER, B.W.; **Microcrystals for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs.** *Int. J. Pharm.*, 254, 2, p.137-145, 2003.

ROHRS, B.R. **Dissolution method development for poorly soluble compounds.** *Dissolution Tech.*, 8, 3, p.6-12, 2001.

ROSSI, R.C.; DIAS, C.L.; BAJERSKI, L.; BERGOLD, A.M.; FRÖEHLICH, P.E. **Development and validation of discriminating method of dissolution for fosamprenavir tablets based on in vivo data.** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 54, p.439-444, 2011.

ROSSI, R.C.; DIAS, C.L.; DONATO, E.M.; MARTINS, L.A.; BERGOLD, A.M.; FRÖEHLICH, P.E. **Development and validation of dissolution test for ritonavir soft gelatin capsules based on *in vivo* data.** *Int. J. Pharm.*, 338, p.119-124, 2007.

SAMI, F.; PHILIP, B.; PATHAK, K. **Effect of auxiliary substances on complexation efficiency and intrinsic dissolution rate of gemfibrozil- $\beta$ -CD complexes.** *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 11, 1, p.27-35, 2009.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y. L.; WRIGHT, N.; PARSONS, D.L.; RANGARI, V.K.; FASINA, O.; BABU, R.J. **Physicochemical characterization of efavirenz-cyclodextrin inclusion complexes.** *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 10, 1, p.81-87, 2009.

SEHIC, S.; BETZ, G.; HADZIDEDIC, S.; EL-ARINI, S.K.; LEUENBERGUER, H. **Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine samples.** *Int. J. Pharm.*, 386, p.77-90, 2010.

SHAH, V.P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J. **In vitro dissolution profile comparison – Statistics and analysis of similarity factor, F2.** *Pharm. Res.*, 15, p.889-896, 1998.

SHENG, J.J.; KASIM, N.A.; CHANDRASEKHARAN, R.; AMIDON, G.L.; **Solubilization and dissolution of insoluble weak acid, ketoprofen: Effects of pH combined with surfactant.** *Eur. J. Pharm. Sci.*, 29, p.36-314, 2006.

SHETE, G.; PURI, V.; KUMAR, L.; BANSAL, A.K. **Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples.** *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 11, p.598-609, 2010.

SHIMPI, S.L.; CHAUHAN, B.; MAHADIK, K.R.; PARADKAR, A. **Stabilization and improved *in vivo* performance of amorphous etoricoxib using Gelucire 50/13.** *Pharm. Res.*, 22, p.1727-1734.

SHOWN, I.; BANERJEE, S.; RAMCHANDRAN, A.V.; GECKELER, K.E. **Synthesis of Cyclodextrin and Sugar-Based Oligomers for Efavirenz Drug Delivery.** *Macromol, Symp.*, 287, p. 51-59, 2010.

SILVA, R.L.; VOLPATO, N.M. **Meios de dissolução para comprimidos de nimesulida: Ação dos tensoativos.** *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 38, 2, 2002.

SINGLA, N.; GUPTA, G.D.; KOHLI, K; SINGLA, A.K. **A discriminatory and biorelevant dissolution test method for simvastatin drug products.** *Dissolution Tech.*, 16, 4, p.11-13, 2009.

SKINNER, M.; KANFER, I. **Intrinsic dissolution rate and solubility studies on josamycin, a macrolide antibiotic.** *Int. J. Pharm.*, 88, p.151-158, 1992.

SOSNIK, A.; CHIAPPETTA, D. A.; CARCABOSO, A. M. **Drug delivery systems in HIV pharmacotherapy: What has been done and the challenges ahead.** *J. Control. Release*, 138, p.2-15, 2009.

STELLA, V.J.; NTI-ADDAE, K.W.; **Prodrug strategies to overcome poor water solubility.** *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 50, p.677-694, 2007.

TAKANO, R.; SUGANO, K.; HIGASHIDA, A.; HAYASHI, Y.; MACHIDA, M.; ASO, Y.; YAMASHITA, S. **Oral absorption of poorly water-soluble drugs: Computer simulation of fraction absorbed in humans from miniscale dissolution test.** *Pharm. Res.*, 23, 6, p.114-1156, 2006.

TSINMAN, K.; AVDEEF, A.; TSINMAN, O.; VOLOBOY, D. **Powder dissolution method for estimating rotating disk intrinsic dissolution rates of low solubility drugs.** *Pharm. Res.*, 26, 9, p.2093-2100, 2009.

TSUTSUMI, S.; IIDA, M.; TADA, N.; KOJIMA, T.; IKEDA, Y.; MORIWAKI, T.; HIGASHI, K.; MORIBE, K.; YAMAMOTO, K. **Characterization and evaluation of miconazole salts and cocrystals for improved physicochemical properties.** *Int. J. Pharm.*, 421, p.230-236, 2011.

THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEA, 4<sup>th</sup> edition, 2011.

THE MERK INDEX: an encyclopedia of chemicals, drugs and biological. 13<sup>a</sup> Ed. New Jersey: Merck & Co, 2001, p.621-622.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL FORUM (USP FORUM). **Efavirenz**. Authorized Pending Monograph, 2007. Disponível em: <<http://www.usp.org/pdf/EN/nonUSStandards/efavirenz.pdf>>. Acesso em 19/05/10, 13:50.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL FORUM (USP FORUM). **Efavirenz Capsules**. Authorized Pending Monograph, 2009a. Disponível em: <<http://www.usp.org/pdf/EN/pendingStandarts/m4047.pdf>> Acesso em 19/05/10, 13:40.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL FORUM (USP FORUM). **Efavirenz Tablets**. Authorized Pending Monograph, 2009. Disponível em: <<http://www.usp.org/pdf/EN/pendingStandarts/m3428.pdf>> Acesso em 19/05/10, 13:45.

**UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP)**. 33<sup>a</sup> Ed. Rockivale: U.S.P. Convention, 2010.

**UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP)**. 34<sup>a</sup> Ed. Rockivale: U.S.P. Convention, 2011.

VALIZADEH, H.; NOKHODCHI, A.; QARAKHANI, N.; ZAKERI-MILANI, P.; AZARMI, S.; HASSANZADEN, D.; LÖBENBERG, R. **Physicochemical characterization of solid dispersions of indomethacin with PEG 6000, Myrj 52, lactose, sorbitol, dextrin, and Eudragit E100**. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 30, p.303-317, 2004.

VAN EERDENBRUGH, B.; FROYEN, L.; MARTENS, J.A.; BLATON, N.; AUGUSTIJNS, P.; BREWSTER, M., VAN DER MOOTER, G. **Characterization of physical-chemical properties and pharmaceutical performance of sucrose co-freeze-dried solid nanoparticulate powders of the anti-HIV agent loviride prepared by media milling**. *Int. J. Pharm.*, 338, p.198-206, 2007.



VON ORELLI, J.; LEUENBERGER, H. **Search for technological reasons to develop a capsule or a tablet formulation with respect to wettability and dissolution.** *Int. J. Pharm.*, 287, p. 135-145, 2004.

VARSHOSAZ, J.; TALARI, R.; MOSTAFAVI, S.A.; NOKHODCHI, A. **Dissolution enhancement of gliclazide using *in situ* micronization by solvent change method.** *Powder Tech*, v. 187, 3, p.222-230, 2008.

VIEGAS, T.X.; CURATELLA, R.U.; VANWINKLE, L.L.; BRINKER, G. **Intrinsic drug dissolution testing using the stationary disk system.** *Dissolution Technol.*, 8, 3, p.1-4, 2001a.

VIEGAS, T.X.; CURATELLA, R.U.; VANWINKLE, L.L.; BRINKER, G. **Measurement of intrinsic drug dissolution rates using two types of apparatus.** *Pharm. Tech.*, 6, p.44-53, 2001b.

WASSVIK, C.M.; HOLMÉN, A.G.; DRAHEIM, R.; ARTURSSON, P.; BERGSTRÖM, C.A.S. **Molecular characteristics for solid-state limited solubility.** *J. Med. Chem.*, 51, p.3035-3039, 2008.

WEI, H.; LÖBENBERG, R. **Biorelevant dissolution media as predictive tool for glyburide a class II drug.** *Eur. J. Pharm. Sci.*, 29, p.45-52, 2006.

WILLIAMS, A.C.; TIMMINS, P.; LU, M.; FORBES, R.T. **Disorder and dissolution enhancement: Deposition of ibuprofen into insoluble polymers.** *Eur. J. Pharm. Sci.*, 26, p.288-294, 2005.

WOOD, J.H.; SYARTO, J.E.; LETTERMAN, H. **Improved holder for intrinsic dissolution rate studies.** *J. Pharm. Sci.*, v.54, p.1068, 1965.

YANG, J.; GREY, K.; DONEY, J. **An improved kinetics approach to describe the physical stability of amorphous solid dispersions.** *Int. J. Pharm.*, 384, p.24-31, 2010.

YU, L.X.; AMIDON, G.L.; POLLI, J.E.; ZHAO, H.; MEHTA, M.U.; CONNER, D.P.; SHAH., V.P.; LESKO, L.J.; CHEN, M.; LEE, V.H.L.; HUSSAIN, A.S. **Biopharmaceutics Classification System: The scientific basis for biowaiver extensions.** *Pharm. Res.*, 19, 7, p.921-925, 2002.

YU, L.X.; CARLIN, A.S.; AMIDON, G.L.; HUSSAIN, A.S; **Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs.** *Int. J. Pharm.*, 270, p. 221-227, 2004.

ZAKERI-MILANI, P.; BARZEGAR-JALALI, M.; AZIMI, M.; VALIZADEH, H. **and rat intestinal permeability.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 73, p.102-106, 2009.

ZHANG, G.G.Z.; LAW, D.; SCHMITT, E.A.; QIU, Y. **Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms.** *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 56, p.371-390, 2004.

ZHANG, H.; YU, L.X.; **Dissolution testing for solid oral drug products: Theoretical considerations.** *J. Am. Pharm. Rev.*, 7, p.26-31, 2004.