UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós - Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Comparação de perfis de dissolução de cápsulas
contendo itraconazol

Valeska Cristina Azevedo Martinello

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a Dr^a Cristina Helena dos Reis Serra

São Paulo
2007

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós - Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Comparação de perfis de dissolução de cápsulas
contendo itraconazol**

Valeska Cristina Azevedo Martinello

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a Dr^a Cristina Helena dos Reis Serra

São Paulo
2007

DEDALUS - Acervo - CQ

30100013318

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Martinello, Valeska Cristina Azevedo
M385c Comparação de perfis de dissolução de cápsulas contendo
itraconazol / Valeska Cristina Azevedo Martinello. -- São
Paulo, 2007.
69p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Serra, Cristina Helena dos Reis

1. Cápsula : Farmacotécnica 2. Fármaco : Cinética de
dissolução : Química farmacêutica I. T. II. Serra, Cristina
Helena dos Reis, orientador.

615.43 CDD

Valeska Cristina Azevedo Martinello

Comparação de perfis de dissolução de cápsulas
contendo itraconazol

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, 30 outubro de 2007.

"A mente humana, uma vez
ampliada por uma nova idéia,
nunca mais volta ao seu tamanho
original".

Oliver Wendell Holmes

Agradecimentos

À Deus por me conceder à graça de viver plenamente cada dia, com saúde, paz e harmonia.

Aos meus pais, Benedito e Rita Helena, pelos ensinamentos, amor e dedicação.

Aos meus irmãos, Vanessa e Vinicius, pelo companheirismo, amizade e apoio.

Ao meu esposo Tiago, pelo amor, paciência, dedicação e por ser o maior incentivador na realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra, por sua maneira tão especial de orientar, com competência, amizade e carinho.

À empresa Janssen-Cilag que disponibilizou seu laboratório, forneceu reagentes, padrões e amostras.

Aos colegas da Janssen-Cilag Rubens Vinha, Fabiana Trevizoli e Alexandre Reichenbach, pela credibilidade, suporte e incentivo na concretização deste trabalho.

Resumo

O estudo de dissolução *in vitro* é uma ferramenta importante utilizada para o controle de qualidade lote-a-lote dos medicamentos, como guia no desenvolvimento de novas formulações e para assegurar a qualidade e performance do produto após certas alterações. O itraconazol é um fármaco com baixa solubilidade em meio aquoso (classe II), dessa forma, alguns problemas de solubilidade podem ser detectados no ensaio de dissolução. A proposta deste trabalho foi a realização de uma avaliação biofarmacêutica *in vitro* de cápsulas contendo péletes de itraconazol comercializadas no mercado brasileiro por laboratórios farmacêuticos e farmácias magistrais. O medicamento de referência, registrado com o nome de Sporanox® (Janssen-Cilag), uma formulação genérica, duas formulações similares e quatro formulações magistrais, foram submetidas a ensaios de doseamento, perfil de dissolução, eficiência de dissolução, cinética de dissolução, fator de diferença (f_1) e fator de semelhança (f_2). Os resultados demonstraram diferenças de liberação entre as formulações sugerindo que as mesmas não são equivalentes ao medicamento de referência.

Palavras chaves: itraconazol, cápsulas, perfil de dissolução, cinética de dissolução, biofarmácia.

Abstract

Dissolution testing is an important tool used as a quality control procedure in pharmaceutical production, as guide in the development of new formulations and to assure the quality and performance of the product after certain modifications. Itraconazole is a poorly water-solubility drug (class II) and the dissolution studies are very important to detect solubility problems. The purpose of this work was the *in vitro* biopharmaceutical evaluation of capsules containing Itraconazole pellets manufactured by Brazilian pharmaceutical laboratories and compounding pharmacies. The reference product, registered as Sporanox[®] (Janssen-Cilag), a generic product, a similar formulation and four compounding formulations were submitted to assay, dissolution profile, dissolution efficiency, dissolution kinetics, difference factor (f_1) and similarity factor (f_2). The results demonstrated different releases among the formulations suggesting that they are not equivalent to the reference product.

Key words: itraconazole, capsules, dissolution profile, biopharmacy, dissolution kinetics.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1.	ITRACONAZOL.....	3
2.1.1.	Propriedades Físico-Químicas.....	3
2.1.2.	Propriedades Farmacológicas.....	5
2.2.	FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO ITRACONAZOL.....	6
2.2.1.	Péletes.....	6
2.2.2.	Cápsulas.....	8
2.2.3.	Apresentações no Mercado Nacional.....	9
2.3	ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO.....	10
2.3.1	Classificação biofarmacêutica.....	10
2.3.2	Solubilidade como fator limitante para a absorção.....	11
2.3.3	Ensaio.....	12
2.3.4	Comparação dos perfis.....	13
3.	OBJETIVOS.....	16
3.1.	OBJETIVO GERAL.....	16
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
4.	MATERIAL E MÉTODO.....	17
4.1.	MATERIAL.....	17
4.1.1.	Substância Química de Referência itraconazol.....	17
4.1.2.	Placebo.....	17
4.1.3.	Amostra.....	17
4.1.4.	Reagentes.....	18
4.1.5.	Equipamentos e Acessórios.....	18
4.2.	MÉTODO.....	19
4.2.1	Preparo das soluções empregadas no estudo.....	19
4.2.2.	Desenvolvimento do Método de Dissolução para Quantificação do Itraconazol por Espectrofotometria UV.....	23
4.2.3.	Validação do método de dissolução para quantificação do itraconazol por espectrofotometria UV empregado para os estudos de dissolução.....	24
4.2.4.	Ensaio de Dissolução.....	26
4.2.5.	Avaliação Físico-Química.....	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1.	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO.....	33
5.1.1	Seleção do meio de dissolução.....	33
5.1.2	Seleção do aparato e velocidade de agitação.....	37
5.1.3.	Meio de dissolução e condições selecionadas.....	41

5.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO UTILIZADO NO ESTUDO DE DISSOLUÇÃO.....	41
5.2.1. Especificidade e seletividade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução	41
5.2.2. Linearidade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução	43
5.2.3. Limite de quantificação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.	45
5.2.4. Exatidão do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.	45
5.2.5. Precisão do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução	46
5.3. COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO.....	47
5.3.1. Fatores de diferença (f_1) e semelhança (f_2).....	48
5.3.2. Eficiência de dissolução.....	49
5.3.3. Estudos cinéticos de dissolução	51
5.4. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	56
6. CONCLUSÕES	61
7. REFERÊNCIAS	62
8. ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição do placebo de Sporanox® utilizado na validação analítica do método de dissolução de cápsulas de itraconazol.....	17
Tabela 2. Porcentagens de fármaco dissolvido em suco gástrico artificial, tampão fosfato pH 6,8 e tampão acetato pH 4,5, utilizando aparato pá a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo Itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvios-padrão	35
Tabela 3. Porcentagens de itraconazol dissolvido em suco gástrico artificial (SG), suco gástrico artificial adicionado de Tween 20 e suco gástrico artificial adicionado de Lauril Sulfato de Sódio (LSS), utilizando pá (aparato II) a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvio padrão	36
Tabela 4. Porcentagens de fármaco dissolvido em suco gástrico artificial (SG) adicionado de 1% de Tween 20, utilizando cesta (aparato I) a 100 rpm, pá (aparato II) a 50 rpm, a 75 rpm e a 100 rpm e pá + âncora a 75 rpm e a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvio padrão	38
Tabela 5. Valores de fator de semelhança (f_2) calculados a partir dos perfis de dissolução de cápsulas de Itraconazol 100 mg, medicamento referência, durante o desenvolvimento do método analítico.....	40
Tabela 6. Validação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução	44
Tabela 7. Recuperação, média das recuperações e coeficiente de variação (CV) nas etapas de exatidão e precisão da validação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.....	46
Tabela 8. Média das porcentagens de itraconazol dissolvido ($\pm$ desvios-padrão) em função do tempo, a partir dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D.....	47
Tabela 9. Valores de f_1 resultantes da comparação do produto R com os produtos G, S1, S2, A, B, C e D.....	49
Tabela 10. Valores de f_2 resultantes das comparações entre os produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D.....	49

Tabela 11. Eficiência de dissolução (ED%) de itraconazol cápsulas (100 mg), obtidas a partir dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D. Os valores correspondem à média de 12 determinações $\pm$ desvio-padrão.....	49
Tabela 12. Índices de significância (p) resultantes das comparações entre os produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D, para ED%. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos	51
Tabela 13. Parâmetros estatísticos da análise de regressão, aplicando os modelos de ordem zero e primeira ordem, calculados a partir dos valores de médios dos perfis de dissolução dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D	52
Tabela 14. Equações obtidas a partir dos perfis de dissolução dos produtos R, G, A, B e C seguindo cinética de primeira ordem	54
Tabela 15. Valores médios dos parâmetros cinéticos (desvios-padrão) a partir do modelo de cinética de primeira ordem, derivados dos perfis de dissolução dos produtos R, G, A, B e C	54
Tabela 16. Índices de significância (p) resultantes das comparações entre os produtos R, G, A, B e C, para os seguintes parâmetros: $t_{50\%}$ (min); Q 30 (%) e k (min^{-1}). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos	54
Tabela 17. Ensaios físicos de peso médio, teor e uniformidade de dosagem (UD) das cápsulas contendo 100mg de itraconazol, provenientes dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D	57
Tabela 18. Valores de teor de itraconazol e dissolução em 60 minutos, provenientes dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D	58

Figura 12. Aplicação do modelo de ordem zero. Quantidade de itraconazol não dissolvida <i>versus</i> tempo, a partir de cápsulas (100 mg), produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D em suco gástrico artificial, pH 1,2, velocidade de agitação das pás a 100 rpm. Os valores correspondem à média de doze determinações.	53
Figura 13. Aplicação do modelo de primeira ordem. Transformação logarítmica da porcentagem de itraconazol não dissolvida a partir das cápsulas (100 mg), produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D em suco gástrico artificial, pH1,2, velocidade de agitação das pás a 100 rpm. Os valores correspondem à média de doze determinações.	53
Figura 14. Cromatograma da solução padrão (157,5 µg/mL), na determinação do teor de itraconazol.	57
Figura 15. Cromatograma da solução amostra (200µg/mL), na determinação do teor de itraconazol.	57
Figura 16. Fotografia das cápsulas do produto Referência (R).	59
Figura 17. Fotografia das cápsulas do produto Genérico (G).	59
Figura 18. Fotografia das cápsulas do produto Similar 1 (S1).	59
Figura 19. Fotografia das cápsulas do produto Similar 2 (S2).	59
Figura 20. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral A.	59
Figura 21. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral B.	60
Figura 22. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral C.	60
Figura 23. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral D.	60
Figura 24. Fotografia das cápsulas do produto Similar (S), contidas em blisters.	60

1. INTRODUÇÃO

O estudo de dissolução *in vitro* é uma ferramenta fundamental que vem sendo utilizada para o controle de qualidade lote-a-lote dos medicamentos, como guia no desenvolvimento de novas formulações e para assegurar a qualidade e desempenho do produto após alterações (MARQUES & BROW, 2002).

Existem três categorias de ensaios de dissolução para medicamentos de liberação imediata: ensaio de dissolução de um único ponto; ensaio de dissolução de dois pontos e perfis de dissolução, que permitem avaliar e comparar a cinética de dissolução e a eficiência de dissolução de um determinado produto (BRASIL, 2002; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2006; SERRA, 1998; STORPIRTIS & RODRIGUES, 1998).

O itraconazol é um composto de rápida absorção, mas por ser praticamente insolúvel em água, a velocidade de dissolução deste fármaco é certamente um fator limitante de absorção oral. Devido ao fato de apresentar alta permeabilidade, é classificado como classe II pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (AMIDON *et al.*, 1995; SIX, *et al.*, 2004, SIX, *et al.*, 2005; VERRECK *et al.*, 2003a).

O medicamento de referência é registrado com o nome de Sporanox® (Janssen-Cilag Brasil). No mercado brasileiro existem similares e genéricos do produto referência e também cápsulas manipuladas em farmácias magistrais.

O mercado saturado de produtos torna a concorrência acirrada e, desta forma, o fator preço influencia substancialmente a seleção do produto no processo de aquisição do medicamento. Fatores econômicos tornam interessante a utilização de genéricos, similares e de formulações magistrais como alternativas aos produtos de referência, desde que garantam segurança e eficácia equivalentes (PORTA *et al.*, 2002).

Os medicamentos industrializados possuem registro no ministério da saúde o que em tese, garante a segurança e eficácia dos medicamentos. Segundo as Resoluções RDC Nº 135 e RDC Nº 157, da ANVISA a aprovação e

registro dos produtos genéricos e similares são dependentes do ensaio de dissolução (BRASIL, 2002, BRASIL 2003). Entretanto, não existe tal exigência para as cápsulas contendo 100 mg de itraconazol manipuladas nas farmácias magistrais.

A Resolução-RDC Nº 214, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias, prevê os ensaios: descrição, aspecto, caracteres organolépticos e peso médio para todas as formulações sólidas manipuladas. Adicionalmente devem ser realizadas análises de teor e uniformidade de conteúdo do princípio ativo em formulações cuja unidade farmacotécnica contenha fármaco(s) em quantidade igual ou inferior a vinte e cinco miligramas. O ensaio de dissolução é previsto apenas para formulações que constam no formulário nacional e que sejam estocadas de acordo com o estoque mínimo previsto na mesma resolução (BRASIL, 2006).

O itraconazol é um fármaco de baixa solubilidade em água, sendo assim, este pode apresentar problemas relacionados à solubilidade que podem ser detectados no ensaio de dissolução, a proposta deste trabalho é realizar um estudo de dissolução comparativo de formulações contendo itraconazol comercializadas no mercado brasileiro, tais como os produtos: referência, similar, genérico e alguns manipulados em farmácias magistrais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ITRACONAZOL

O itraconazol é um fármaco antifúngico de administração oral, que possui espectro de ação mais amplo em relação aos outros agentes antifúngicos, além de características farmacocinéticas interessantes em relação à distribuição tecidual. Estas propriedades resultam na diminuição do tempo de tratamento da candidíase vaginal, dermatomicose e onicomicose, assim como no tratamento oral de várias micoses de pele, incluindo aspergillose, criptomicose, histoplasmoses e várias micoses endêmicas como esporotricose, paracoccidioidomicose e cromoblastomicose (BEULE, 1996).

2.1.1. Propriedades Físico-Químicas

O itraconazol é um antifúngico sintético, composto de uma mistura racêmica de quatro estereoisômeros (1:1:1:1), sendo que dois pares são enantiômeros.

2.1.1.1. Nome Químico

(+)-*cis*-4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,2-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2,4-dihidroxi-2-(1-metoxipropil)-3*H*-1,2,4-triazol-3-ona.

2.1.1.2. Fórmula Molecular

2.1.1.3. Peso Molecular

705,64

2.1.1.4. Ponto de Fusão

166 ° C

2.1.1.5. Fórmula Estrutural

Figura 1. Fórmula estrutural do itraconazol.

2.1.1.6. Solubilidade e Lipofilicidade

Praticamente insolúvel (solubilidade em água, pH 7,0 aproximadamente de 1,0 ng/ml; solubilidade em HCl 0,1N = 6,0 µg/ml), altamente lipofílico (coeficiente de partição octanol/água em pH 6 - log P > 5), apresenta rápida absorção oral. É uma base fraca (pka = 3,7), praticamente não ionizável em pH fisiológico, encontra-se ionizado e solúvel em baixa faixa de pH logo, a acidez gástrica é requerida para dissolução do fármaco e sua adequada absorção (BEULE, 1996; BREWSTER *et al.*, 2004; KAPSI & AYRES, 2001; KOKS, *et al.*, 2002; SHIVAKUMAR & JAMES 2001; SINSWAT, *et al.*, 2005).

De acordo com o sistema de Classificação Biofarmacêutica, o itraconazol é um exemplo de composto de Classe II, o que significa que sua biodisponibilidade oral é determinada pela velocidade de dissolução no trato gastrintestinal (AMIDON *et al.*, 1995; SINSWAT, *et al.*, 2005; SIX, *et al.*, 2004; SIX, *et al.*, 2005; VERRECK *et al.*, 2003a).

2.1.2. Propriedades Farmacológicas

2.1.2.1. Farmacodinâmica

Os nitrogênios azólicos livres da molécula do itraconazol competem pelo oxigênio no heme férrico catalítico das enzimas do citocromo P-450 da célula fúngica. A inibição das enzimas do citocromo P-450 previne a síntese do ergosterol na membrana fúngica através de limitação da desmetilação do C14, o qual é crítico para a síntese de ergosterol. A falta de ergosterol altera a fluidez da membrana e as relações estéricas de enzimas associadas a membranas e também resulta em um acúmulo de fosfolípidos e ácidos graxos insaturados entre as células fúngicas (BEULE, 1996; KOKS *et al.*, 2002).

A inibição das enzimas oxidativas e peroxidativas do citocromo da célula fúngica também tem sido sugerida como uma possível alternativa do mecanismo de ação (SIX *et al.*, 2005).

2.1.2.2. Farmacocinética

As concentrações máximas do fármaco ocorrem em 1,5 a 4 horas e a ingestão concomitante de alimentos aumenta sua absorção. O itraconazol é bem distribuído no corpo e acumula-se preferencialmente nos tecidos em percentagens superiores a 10 vezes a do plasma. Sua meia-vida terminal é de 20 horas, aumentando para 30 horas após duas semanas de tratamento (SILVA, 1998).

A administração oral de itraconazol apresenta 55% ($\pm$ 15%) de biodisponibilidade absoluta. A administração do fármaco em jejum reduz sua biodisponibilidade. A biodisponibilidade é diretamente afetada pela acidez gástrica, assim a ingestão do fármaco com bebidas ácidas aumenta efetivamente a biodisponibilidade do itraconazol (BEULE, 1996; KOKS *et al.*, 2002).

O itraconazol exibe farmacocinética dose-dependente após administração oral, o que conduz a um aumento dose-proporcional dos níveis plasmáticos, especialmente após doses múltiplas. O volume médio de distribuição tecidual é de 10,7 L/kg e o clearance total é de 5,1 mL/kg (excreção renal desprezível). É

altamente lipofílico e extensivamente distribuído nos tecidos (99,8% ligado a proteínas). As concentrações teciduais excedem as concentrações plasmáticas correspondentes a um fator de 2,5 a 20 (BEULE, 1996, KOKS *et al.*, 2002).

Após o processo de absorção, o itraconazol é extensivamente metabolizado na cadeia hidroxilada, formando o hydroxiitraconazol. O metabólito hidroxí é biologicamente ativo e pode aparecer em concentrações superiores, aproximadamente o dobro, em relação ao fármaco no estado inalterado (CARRIER, PARENT, 2000).

2.2. FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO ITRACONAZOL

2.2.1. Péletes

O comportamento da solubilidade, bem como da permeabilidade do fármaco no trato gastrintestinal são de fundamental importância para assegurar a biodisponibilidade. São vários os exemplos de fármacos que apresentam baixa solubilidade e que a ciência utiliza de estratégias para obter produtos com maior solubilidade em água. Assim, algumas técnicas, tais como: micronização, obtenção de nanopartículas, complexação, dispersão sólida, têm sido sugeridas para aumentar a biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis (BREWSTER *et al.*, 2004, MIZUNO *et al.*, 2005).

O Itraconazol encontra-se comercialmente disponível na forma de cápsulas contendo péletes do fármaco. Os péletes são produzidos com a finalidade de promover o aumento da solubilidade do itraconazol, através da obtenção de dispersão sólida do fármaco em hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) pela utilização de solventes orgânicos. Este processo promove a redução do tamanho da partícula do fármaco resultando em um aumento da solubilidade (JUNG *et al.*, 1999; KAPSI, AIRES, 2001; SIX *et al.*, 2003; SIX *et al.*, 2004; SIX *et al.*, 2005).

Por outro lado, fármacos dispersos em matrizes macromoleculares, podem apresentar partículas finas e formas amorfas quimicamente instáveis, sujeitas a gerarem produtos de degradação durante o período de estocagem dos medicamentos. Neste sentido, as dispersões sólidas constituem alvo de

mudanças estruturais durante o armazenamento, devido à sua instabilidade física (SIX *et al.*, 2004).

Assim, as dispersões sólidas devem ser produzidas com cuidados especiais a fim de manter suas características até o final do prazo de validade do produto.

A Figura a seguir apresenta uma microfotografia do itraconazol em seu estado puro (1) e em dispersão sólida (2).

Figura 2. Microfotografia eletrônica de (1) itraconazol puro e (2) dispersão sólida (adaptada de JUNG *et al.*, 1999).

2.2.2. Cápsulas

As cápsulas são formas farmacêuticas sólidas, onde um ou mais fármacos são acondicionados e envolvidos por um preparado à base de gelatina que podem ser de dois tipos: cápsulas de gelatina dura, que são mais utilizadas para fármacos sólidos (pós, grânulos) e as cápsulas de gelatina mole, que são mais utilizadas para fármacos líquidos ou em solução (ANSEL, POPOVICH, ALLEN, 2000; PRISTA, ALVES, MORGADO, 1991).

Tornaram-se uma forma aceitável por mascarar sabor e odor desagradáveis inerentes a certos fármacos, possuem configurações variadas de cor o que facilita a identificação do medicamento pelo paciente, são formas de fácil formulação e facilmente digestíveis, liberando assim o(s) fármaco(s) logo após sua ingestão. Podem ainda constituir revestimentos gastro-resistentes, para que sua degradação não ocorra no estômago e sim no intestino (LACHMAN, LIEBERMAN, KANIG, 2001; PRISTA, ALVES, MORGADO, 1991).

Contudo apresentam desvantagens, como o custo elevado de produção, não são fracionáveis; pacientes com dificuldade de deglutição não conseguem engoli-las; são incompatíveis com substâncias higroscópicas, delíquescientes, eflorescentes que formam misturas eutéticas, exceto se estas substâncias forem previamente diluídas em excipientes adequados ou então forem revestidas; aderem mais facilmente à parede do estômago, o que pode causar irritação, principalmente se o paciente ingerir a cápsula com pouca água e o fármaco for agressivo ao estômago e existe ainda a dificuldade de se conseguir uniformidade de dosagem (FERREIRA, BRANDÃO, 2002; LACHMAN, LIEBERMAN, KANI, 2001).

As cápsulas de gelatina dura podem apresentar o fenômeno de ligação cruzada sob certas condições de estocagem como temperatura e/ou umidade elevada e exposição a traços de aldeído. Este processo causa a formação de uma película translúcida ao redor das cápsulas, formando uma barreira que prolonga o tempo de desintegração *in vitro* e restringe a liberação do fármaco contido no interior das cápsulas (DIGENIS *et al.*, 1994, MARCHAIS *et al.*, 2003).

2.2.3. Apresentações no Mercado Nacional

O medicamento de referência contendo 100 mg do fármaco itraconazol na forma farmacêutica de cápsulas é registrado com o nome de Sporanox ® (Janssen-Cilag). No mercado brasileiro existem produtos genéricos, produtos similares e cápsulas manipuladas em farmácias magistrais.

O mercado saturado de produtos torna a concorrência acirrada e, desta forma, o fator preço influencia substancialmente a seleção do produto no processo de aquisição do medicamento. Assim, fatores econômicos tornam interessante a utilização de genéricos, similares e de formulações magistrais como alternativa aos produtos de referência, desde que garantam segurança e eficácia equivalentes (PORTA *et al.*, 2002).

Os medicamentos industrializados possuem registro no ministério da saúde o que em tese, garante a segurança e eficácia dos medicamentos. Segundo as Resoluções RDC Nº 135 e RDC Nº 157, da ANVISA a aprovação e registro dos produtos genéricos e similares são dependentes do ensaio de dissolução (BRASIL, 2002, BREASIL 2003). Entretanto, não existe tal exigência para as cápsulas contendo 100 mg de itraconazol manipuladas nas farmácias magistrais.

A Resolução-RDC Nº 214, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias, prevê os ensaios: descrição, aspecto, caracteres organolépticos e peso médio para todas as formulações sólidas manipuladas. Adicionalmente devem ser realizadas análises de teor e uniformidade de conteúdo do princípio ativo em formulações cuja unidade farmacotécnica contenha fármaco(s) em quantidade igual ou inferior a vinte e cinco miligramas. O ensaio de dissolução é previsto apenas para formulações que constam no formulário nacional e que sejam estocadas de acordo com o estoque mínimo previsto na mesma resolução (BRASIL, 2006).

2.3 ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO

Embora as formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata sejam rotineiramente submetidas a testes tais como: uniformidade de conteúdo do princípio ativo, peso médio, dureza, friabilidade e desintegração, os estudos de dissolução são os que permitem fazer uma avaliação mais precisa e mais associada com o desempenho *in vivo* do produto (DRESSMAN *et al.*, 1998).

2.3.1 Classificação biofarmacêutica

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) tem como base a solubilidade e a permeabilidade dos fármacos, estes podem ser categorizados dentro de quatro grupos de acordo com suas propriedades de solubilidade e permeabilidade na mucosa do trato gastrointestinal:

Classe I: alta solubilidade, alta permeabilidade;

Classe II: baixa solubilidade, alta permeabilidade;

Classe III: alta solubilidade, baixa permeabilidade;

Classe V: baixa solubilidade, baixa permeabilidade (DRESSMAN *et al.*, 1998; FDA, 1997).

Os fármacos de Classe I devem estar em solução rapidamente quando estão incorporados em formas farmacêuticas de liberação imediata, e também são rapidamente transportados através da parede intestinal. Por esta razão é esperado que estes compostos sejam bem absorvidos, a menos que sejam instáveis, formem complexos insolúveis, sejam secretados diretamente da parede intestinal ou sofram metabolismo de primeira passagem. A obtenção de 85% de dissolução em HCl 0,1M, em até 15 minutos, pode garantir que a biodisponibilidade do fármaco não seja limitada pela dissolução. Nestes casos, o passo limitante da velocidade de absorção do fármaco é o esvaziamento gástrico (DRESSMAN *et al.*, 1998; FDA, 1997).

Para os fármacos de Classe II, a velocidade de dissolução do fármaco é certamente o principal fator limitante de absorção oral. Características como polimorfismo, cristalinidade, tamanho da partícula, solubilidade e quantidade de fármaco incorporado na forma farmacêutica podem influenciar a velocidade de dissolução (COSTA *et al.*, 2001; DRESSMAN *et al.*, 1998).

Para fármacos da Classe III, a permeabilidade é o passo limitante da velocidade de absorção, podendo-se esperar, no máximo, uma correlação *in vitro/in vivo* limitada, dependente das velocidades relativas de dissolução e do trânsito intestinal. A formulação deve liberar o fármaco em meio aquoso rapidamente, a fim de aumentar o tempo de contato entre o fármaco dissolvido e a mucosa de absorção, e consequentemente a biodisponibilidade do fármaco (DRESSMAN *et al.*, 1998; FDA, 1997).

Os fármacos da Classe IV geralmente apresentam problemas significativos para liberação a partir de formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata, é esperado haver absorção lenta em geral, mas como no caso dos fármacos de Classe II, uma formulação ruim pode influenciar negativamente a velocidade e a extensão de absorção do fármaco (DRESSMAN *et al.*, 1998; FDA, 1997).

2.3.2 Solubilidade como fator limitante para a absorção

Fármacos pouco solúveis são bons candidatos para a obtenção de correlação *in vitro* - *in vivo*, se a permeabilidade intestinal é elevada e a dissolução do fármaco controla o mecanismo de liberação do fármaco da forma farmacêutica. Durante a etapa de desenvolvimento de formulação, os dados de dissolução precisam ser gerados a fim de comparar formulações ou lotes para estimar a velocidade de absorção *in vivo*, ou qualquer outra informação que possa vir a ser utilizada como guia no desenvolvimento de um método de dissolução discriminativo (ROHRS, 2001).

A baixa solubilidade de muitos fármacos, especialmente os recentemente desenvolvidos é um desafio à pesquisa farmacêutica. Devido à sua baixa biodisponibilidade, muitos fármacos potenciais são abandonados nos estágios de delineamento de novos fármacos. Cerca de 40% do insucesso no desenvolvimento de novos fármacos são relacionados às propriedades biofarmacêuticas pobres, incluindo baixa biodisponibilidade associada à baixa solubilidade dos fármacos. A velocidade de dissolução é o fator limitante na maioria dos casos, pois fármacos com elevada lipofilicidade são capazes de permear as biomembranas rapidamente (RASENACK & MULLER, 2002).

2.3.3 Ensaios

Os resultados obtidos a partir dos ensaios de dissolução auxiliam no desenvolvimento e avaliação de novas formulações; permitem verificar a estabilidade dessas formulações; possibilitam possível correlação *in vivo* - *in vitro*; e fazem parte da documentação para registro de novos produtos junto às autoridades regulatórias (MARQUES & BROW, 2002).

Na área de produção e controle de qualidade, os resultados destes estudos podem ser utilizados para: detectar desvios de fabricação; assegurar uniformidade durante a produção de um lote e reprodutibilidade lote a lote; avaliar a qualidade da formulação em função do tempo e condições de armazenagem durante o período de validade do produto; avaliar mudanças após o registro do produto e auxiliar na decisão para a realização de estudos de bioequivalência (MARQUES & BROW, 2002).

Existem três categorias de ensaios de dissolução para medicamentos de liberação imediata: ensaio de dissolução de um único ponto; ensaio de dissolução de dois pontos e perfis de dissolução, que permitem avaliar e comparar a cinética e eficiência de dissolução de um determinado produto. A determinação do perfil de dissolução do fármaco a partir de sua forma farmacêutica tem se constituído em ferramenta útil durante o desenvolvimento farmacotécnico, bem como na avaliação de medicamentos já utilizados na terapêutica (BRASIL, 2002; SERRA, 1998; STORPIRTIS & RODRIGUES, 1998; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2006).

O método de dissolução ideal é aquele que permite obter correlação *in vitro-in vivo* e que seja capaz de avaliar a consistência entre lotes de produtos. Porém este ainda é um grande desafio, pois nem sempre é possível atingir as duas condições para todas as classes de fármacos, principalmente para aqueles que apresentam baixa solubilidade (BROWN *et al.*, 2004).

2.3.4 Comparação dos perfis

Os perfis de dissolução, os quais são obtidos a partir da porcentagem dissolvida de fármaco em diferentes tempos de amostragem, permitem uma análise mais conclusiva. Entretanto, a grande dificuldade está em relação à forma como estas curvas serão comparadas (BRASIL, 2002; MARCOLONGO, 2003; O'HARA, 1998; SERRA, 1998; SERRA, STORPIRTIS, 2007; STORPIRTIS, RODRIGUES, 1998).

Vários métodos têm sido propostos para a avaliação comparativa entre perfis de dissolução, estes podem ser classificados em: (1) método baseado na análise de variância (ANOVA); (2) método modelo independente; (3) método modelo dependente. Os métodos baseados na análise de variância determinam, através de repetidos ensaios, as fontes de variação (tempo, produto e interação entre tempo *versus* produto) (YUKSEL *et al.*, 2000). Dentre os métodos modelo independente destacam-se os testes combinados como os fatores f_1 (fator de diferença) e f_2 (fator de similaridade) que comparam diretamente a diferença entre a porcentagem de fármaco dissolvida em uma unidade de tempo para os produtos teste e referência. Por sua vez, os métodos modelo dependente são baseados em funções matemáticas distintas que, após seleção de uma função adequada, permitem a avaliação dos perfis em relação aos parâmetros derivados dos modelos aplicados. Os exemplos mais comuns encontrados na literatura são: ordem zero, primeira ordem, Hixon-Crowell, Higushi, quadrático, Weibull, entre outros (O'HARA *et al.*, 1998, POLLI, 1996; SERRA, 2007).

O modelo independente que emprega um fator de diferença (f_1) e um fator de semelhança (f_2) é aplicado para comparação de dois perfis de dissolução obtidos em condições idênticas, designados teste e referência. O fator f_1 calcula a porcentagem de diferença entre dois perfis avaliados a cada tempo de coleta e corresponde a uma medida de erro relativo entre os perfis. O fator f_2 corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas em ambos os perfis (ANVISA, 2004; BARTOSZYNSKI *et al.*, 2001;

COSTA *et al.*, 2003; FDA, 1997; FLANNER, 2001; MOORE & FLANNER, 1996; O'HARA *et al.*, 1997).

A obtenção de modelos cinéticos de dissolução possibilitam conclusões a respeito do processo de dissolução de uma determinada formulação, uma vez que permitem conhecer: a velocidade do processo; a quantidade máxima dissolvida e pontos nos quais podem ocorrer mudanças significativas da dissolução (MOORE, FLANNER, 1996; O'HARA *et al.*, 1998; POLLI *et al.*, 1996; SERRA 2007). Nesse tipo de análise, avalia-se a quantidade de fármaco dissolvida em diferentes intervalos de tempo, obtendo-se um perfil definido por tempo *versus* porcentagem de fármaco dissolvida. Vários parâmetros cinéticos podem ser descritos a partir desta relação, tais como: constante de velocidade de dissolução (k); meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$); e, quantidade dissolvida em determinado tempo (Q_t) (CID, 1981; O'HARA *et al.*, 1998; POLLI *et al.*, 1996; SERRA, 2007).

Além dos modelos cinéticos traçados a partir do perfil de dissolução, a eficiência de dissolução (ED%) sugerida inicialmente por Khan e Rhodes (1975), pode ser incluída como um importante parâmetro de cinética de dissolução. Este termo pode ser definido como a área sob a curva de dissolução em um determinado intervalo de tempo. A ED% permite uma comparação mais fidedigna entre dois produtos, pois está relacionada com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvida no meio e, desta forma, pode-se ter um melhor prognóstico dos resultados *in vivo* (OFOEFULE *et al.*, 2001; SERRA 2007, SKOUG *et al.*, 1997). Alguns pesquisadores têm defendido a utilização deste recurso matemático para comparar formulações farmacêuticas, uma vez que a biodisponibilidade é estimada por integração da área sob a curva de concentrações plasmáticas e os resultados de dissolução *in vitro* são expressos através da área sob a curva de concentrações dissolvidas do fármaco (KHAN E RHODES, 1975; OFOEFULE *et al.*, 2001; SERRA, STORPIRTIS, 2007).

Mesmo se forem observadas diferenças *in vitro* entre formulações, a realização de ensaios *in vivo* podem apresentar bioequivalência entre as mesmas. Estudos *in vitro* são úteis à detecção de diferenças entre produtos além de fornecer indicações sobre o provável comportamento *in vivo*.

Entretanto, somente os estudos de bioequivalência e biodisponibilidade podem fornecer conclusões definitivas a respeito das diferenças existentes entre os produtos avaliados (PORTA *et al.*, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliação biofarmacêutica *in vitro*, através dos estudos de dissolução de cápsulas contendo itraconazol, comercializadas no mercado brasileiro provenientes de: laboratório farmacêutico que produz a formulação referência; laboratório farmacêutico que produz formulação genérica, dois laboratórios farmacêuticos que produzem formulação similar e quatro formulações magistrais produzidas por farmácias de manipulação.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolvimento de método para o estudo de dissolução dos produtos contendo itraconazol;
- Validação do método analítico empregado nos estudos de dissolução;
- Determinação da cinética de dissolução das amostras de cápsulas contendo itraconazol.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. MATERIAL

4.1.1. Substância Química de Referência itraconazol

Foi empregada como padrão de referência secundário a matéria-prima itraconazol com pureza superior a 99%, fornecido pela Janssen-Cilag, padronizada contra o padrão primário USP.

4.1.2. Placebo

Para a validação do método de dissolução foi utilizado placebo de cápsulas de Sporanox®, fornecido pela Janssen-Cilag, contendo todos os componentes da formulação menos o fármaco itraconazol. A composição do placebo está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição do placebo de Sporanox® utilizado na validação analítica do método de dissolução de cápsulas de itraconazol

Componentes	Quantidade
Pélete inerte	192 mg
Hidroxipropilmetilcelulose	150 mg
Polietilenoglicol	18 mg
Cápsula vazia	1 unidade

4.1.3. Amostra

Durante as etapas de desenvolvimento do método de dissolução e validação analítica foram utilizadas cápsulas de Sporanox®, lote: 400148, os ensaios foram realizadas após aproximadamente 1 ano de fabricação deste lote.

Os estudos comparativos dos perfis de dissolução de diferentes produtos comercialmente disponíveis foram realizados utilizando lotes recém fabricados de cápsulas contendo 100 mg de itraconazol dos seguintes produtos:

- Referência (R) – Laboratório Janssen-Cilag (Sporanox®), lote: 400143;
- Genérico (G) – Laboratório Ranbaxy, lote: 1514410;
- Similar (S1) – Laboratório EMS-Sigma Farma. (Itraspor ®), lote: 05D426;
- Similar (S2) – Laboratório União Química (Itrazol ®), lote: 606218;
- Amostras obtidas de Farmácias de Manipulação (A, B, C e D).

4.1.4. Reagentes

Foram empregados os seguintes reagentes de grau analítico de pureza:

- Ácido clorídrico fumegante 37%; J.T.Baker, lote: Y01C08;
- Metanol grau HPLC, Merck, lote: MX0488;
- Cloreto de Sódio, Merck, lote: K31519804;
- Tween 20, Merck, lote: S36980;
- Lauril sulfato de sódio, Merck, lote: L816360;
- Fosfato de potássio monobásico, J. T. Baker, lote: Y09C19;
- Acetato de sódio, Merck, lote: K32635168;
- Metanol grau HPLC, J. T. Baker;
- Acetonitrila grau HPLC, J. T. Baker.

4.1.5. Equipamentos e Acessórios

- Aparelho de dissolução HANSON RESEARCH CORP, modelo SR8 Plus;
- Amostrador automático de dissolução HANSON RESEARCH CORP, modelo Auto Plus Multifill;
- Preparador de meio de dissolução HANSON RESEARCH CORP, modelo Media Mate;
- Espectrofotômetro UV-visível AGILENT 8453;
- Cubeta de quartzo 0,2 cm para análise espectrofotométrica;

- Balança analítica METTLER TOLEDO, modelo AT201;
- Filtro para amostragem de dissolução, Technicon, 10 μ m;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência, AGILENT HP1100.

4.2. MÉTODO

4.2.1 Preparo das soluções empregadas no estudo

Os meios de dissolução descritos nos itens 4.2.1.1., 4.2.1.2., 4.2.1.3., 4.2.1.4., 4.2.1.5., 4.2.1.6. e 4.2.1.7., foram degaseificados no equipamento preparador de meio de dissolução (HANSON RESEARCH CORP, modelo Media Mate).

4.2.1.1. Meio de dissolução - suco gástrico artificial

Dissolveu-se 2,0 g de cloreto de sódio em cerca de 200 mL de água deionizada. Adicionou-se 7 mL de ácido clorídrico concentrado e completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada.

4.2.1.2. Meio de dissolução - suco gástrico artificial com adição de 1% de Tween 20

Dissolveu-se 2,0 g de cloreto de sódio em cerca de 200 mL de água deionizada. Adicionou-se 10 mL de Tween 20 e 7 mL de ácido clorídrico concentrado e completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada.

4.2.1.3. Meio de dissolução - suco gástrico artificial com adição de 0,5% de Tween 20

Dissolveu-se 2,0 g de cloreto de sódio em cerca de 200 mL de água deionizada. Adicionou-se 5 mL de Tween 20 e 7 mL de ácido clorídrico concentrado e completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada.

4.2.1.4. Meio de dissolução - suco gástrico artificial com adição de 0,5% de lauril sulfato de sódio

Dissolveu-se 2,0 g de cloreto de sódio em cerca de 200 mL de água deionizada. Adicionou-se 5,0 g de lauril sulfato de sódio e 7 mL de ácido clorídrico concentrado e completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada.

4.2.1.5. Meio de dissolução - suco gástrico artificial com adição de 0,25% de lauril sulfato de sódio

Dissolveu-se 2,0 g de cloreto de sódio em cerca de 200 mL de água deionizada. Adicionou-se 5,0 g de lauril sulfato de sódio e 7 mL de ácido clorídrico concentrado e completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada.

4.2.1.6. Meio de dissolução - tampão fosfato pH 6,8

Dissolveu-se 27,22 g de fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4) em água deionizada e completou-se o volume para 1000 mL. (Solução A).

Transferiu-se 250 mL da Solução A para um balão volumétrico de 1000 mL, adicionou-se 22,4 mL de solução de hidróxido de sódio 0,2M e completou-se o volume (Solução B).

4.2.1.7. Meio de dissolução - tampão acetato pH 4,5

Dissolveu-se 8,2 g de acetato de sódio em água deionizada e completou-se o volume para 1000 mL em um balão volumétrico. O pH foi acertado para 4,5 com ácido acético glacial.

4.2.1.8. Solução padrão referência para etapa de desenvolvimento analítico

Pesou-se exatamente cerca de 55,55 mg de Itraconazol, substância química de referência, transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 500 mL, adicionou-se cerca de 20 mL de metanol, aqueceu-se

em Banho Maria a 60°C até dissolução do Itraconazol. Adicionou-se cerca de 200 mL de meio de dissolução. Agitou-se a solução por 30 minutos em agitador mecânico e completou-se o volume com o meio de dissolução preparado conforme itens 4.2.1.1., 4.2.1.2., 4.2.1.3, 4.2.1.4., 4.2.1.5., 4.2.1.6. e 4.2.1.7.

4.2.1.9. Solução padrão referência para etapa de comparação dos perfis de dissolução (reta de calibração)

Pesou-se exatamente, em duplicata, quantidades de itraconazol substância química de referência para se obter as concentrações finais de: 11,11 µg/mL, 22,22 µg/mL, 88,89 µg/mL, 100,00 µg/mL, 111,11 µg/mL, 122,22 µg/mL e 133,33 µg/mL respectivamente. Transferiu-se quantitativamente para balões volumétricos de 500 mL, adicionou-se cerca de 20 mL de metanol, aqueceu-se em Banho Maria a 60°C até dissolução do Itraconazol. Adicionou-se cerca de 200 mL de meio de dissolução. Agitou-se a solução por 30 minutos em agitador mecânico e completou-se o volume com o meio de dissolução preparado conforme item 4.2.1.1.

4.2.1.10. Solução padrão para etapa de validação - especificidade

Pesou-se exatamente cerca de 55,55 mg de Itraconazol, substância química de referência, transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 500 mL, adicionou-se cerca de 20 mL de metanol, aqueceu-se em Banho Maria a 60°C até dissolução do Itraconazol. Adicionou-se cerca de 200 mL de meio de dissolução. Agitou-se a solução por 30 minutos em agitador mecânico e completou-se o volume com o meio de dissolução preparado conforme item 4.2.1.1.

4.2.1.11. Solução placebo para etapa de validação - especificidade

Pesou-se exatamente cerca de 192 mg de péletes inertes, 150 mg de hidroxipropilmetilcelulose e 18 mg de polietilenoglicol, transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 900 mL. Adicionou-se cerca de 700 mL do meio de dissolução preparado conforme item 4.2.1.1. Agitou-se utilizando agitador mecânico de plataforma horizontal em velocidade de 300

rpm durante 30 minutos. Diluiu-se e completou-se o volume do balão volumétrico. Filtrou-se a solução em filtro Technicon 10 μ m.

4.2.1.12. Solução amostra para etapa de validação - especificidade

Adicionou-se uma cápsula contendo do medicamento referência Sporanox®, em um balão volumétrico de 900 mL. Adicionou-se cerca de 700 mL do meio de dissolução preparado conforme item 4.2.1.1. Aqueceu-se em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Posteriormente agitou-se utilizando agitador mecânico de plataforma horizontal em velocidade de 300 rpm durante 30 minutos. Diluiu-se e completou-se o volume do balão volumétrico. Filtrou-se a solução em filtro Technicon 10 μ m.

4.2.1.13. Soluções para análise de teor de itraconazol

4.2.1.13.1. Solução de acetato de amônio 0,5%, pH 6,3

Dissolveu-se 5 g de acetato de amônio em água deionizada e completou-se o volume para 1000 mL em um balão volumétrico. O pH foi acertado para 6,3 com ácido acético 10%.

4.2.1.13.2. Solução fase móvel

Obtida pela mistura de 500 mL de acetonitrila e 500 mL da solução preparada no item 4.2.1.13.1. Filtrou-se a fase móvel em membrana Sartorius 0,45 μ m.

4.2.1.13.3. Solução diluente

Obtida pela mistura de 500 mL de metanol grau HPLC e acetonitrila grau HPLC.

4.2.1.13.4. Solução padrão de referência (reta de calibração)

Pesou-se exatamente, em duplicata, cerca de 105,0 mg de itraconazol e transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume do balão com a solução diluente preparada conforme

item 4.2.1.13.3., obtendo-se a concentração final de 1050 µg/mL (Solução A). A partir da Solução A, realizou-se diluições para se obter as concentrações finais de itraconazol de: 52,5 µg/mL, 105 µg/mL, 157,5 µg/mL, 210 µg/mL, 262,5 µg/mL, respectivamente e construiu-se uma reta de calibração.

4.2.1.13.5. Solução amostra

Esgotou-se o conteúdo de 20 cápsulas e pesou-se exatamente cerca de 460 mg de amostra, transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 500 mL. Adicionou-se cerca de 300 mL de solução diluente preparada conforme item 4.2.1.13.3. Agitou-se a amostra utilizando agitador mecânico de plataforma horizontal em velocidade de 300 rpm durante 30 minutos. Diluiu-se e completou-se o volume com solução diluente preparada conforme item 4.2.1.13.3. Filtrou-se a solução em filtro Gelman 0,45 µm e transferiu-se cerca de 1,5 mL para um vial limpo e seco.

4.2.2. Desenvolvimento do Método de Dissolução para Quantificação do Itraconazol por Espectrofotometria UV

4.2.2.1. Condições Experimentais do Desenvolvimento do Método

Cápsulas de Itraconazol do medicamento referência Sporanox® foram submetidas aos ensaios de dissolução sob diversas condições experimentais apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1. Condições experimentais para a determinação do perfil de dissolução de itraconazol

Temperatura	37 ± 0,5 ° C
Sistemas de agitação	1 (cesta), 2 (pá)
Velocidades	50, 75 e 100 rpm
Acessório	âncora
Meios de dissolução	suco gástrico artificial; suco gástrico artificial + Tween 0,5%; suco gástrico artificial + Tween 1%; suco gástrico artificial + LLS 0,25%; suco artificial + Tween LLS 0,5%; tampão fosfato pH 6,8; tampão acetato pH 4,5
Volume do meio	900 mL
Alíquota amostrada	15 mL
Tempo de amostragem	10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos
Detecção	Espectrofotometria UV (255 nm)

4.2.3. Validação do método de dissolução para quantificação do itraconazol por espectrofotometria UV empregado para os estudos de dissolução

O método espectrométrico UV para quantificação de itraconazol no teste de dissolução foi validado de acordo com a Resolução RE 899 (BRASIL, 2003). Os parâmetros analisados foram: especificidade e seletividade, linearidade, limite de quantificação (sensibilidade), exatidão e precisão.

4.2.3.1. Especificidade e seletividade

Foram obtidos espectros de absorção na região UV-Visível das soluções placebo, padrão e amostra a fim de verificar se havia interferência das formulações na determinação espectrofotométrica do itraconazol.

4.2.3.2. Linearidade

Para a avaliação da linearidade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol utilizado nos ensaios de dissolução foi construída uma reta de calibração nas concentrações equivalentes a: 1, 5, 10, 20, 80, 90, 100, 110 e 120% da concentração do conteúdo de uma cápsula (100 mg) de itraconazol contida em 900 mL de meio de dissolução. As soluções foram preparadas conforme descrito no item 4.2.1.10., realizando alteração na massa pesada de itraconazol para se obter as concentrações finais de: 1,11 µg/mL, 5,56 µg/mL, 11,11 µg/mL, 22,22 µg/mL, 88,89 µg/mL, 100,00 µg/mL, 111,11 µg/mL, 122,22 µg/mL e 133,33 µg/mL respectivamente. Todas as soluções foram preparadas em triplicata. Os resultados obtidos foram avaliados utilizando o software Minitab®, versão 14.

4.2.3.3. Limite de quantificação

Para a avaliação do limite de quantificação do método espectrofotométrico UV empregado no estudo de dissolução, foram avaliadas as porcentagens de recuperação de soluções correspondentes a: 0,05%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 20%, 80%, 90%, 100%, 110% e 120% da concentração do conteúdo de uma cápsula (100 mg) de itraconazol contida em 900 mL de meio de dissolução. As soluções foram preparadas conforme descrito no item 4.2.1.10., realizando alteração na massa pesada de itraconazol para se obter as concentrações finais de: 0,06 µg/mL, 0,56 µg/mL, 1,11 µg/mL, 5,56 µg/mL, 11,11 µg/mL, 22,22 µg/mL, 88,89 µg/mL, 100,00 µg/mL, 111,11 µg/mL, 122,22 µg/mL e 133,33 µg/mL respectivamente. Todas as soluções foram preparadas em triplicata. Os resultados obtidos foram avaliados utilizando o software Minitab®, versão 14.

4.2.3.4. Exatidão

As soluções correspondentes a 1%, 20%, 80% e 120% da concentração da solução padrão referência de itraconazol foram avaliadas quanto à sua concentração obtida e calculou-se média das três concentrações.

A exatidão (E) pode ser calculada pela fórmula a seguir:

$$E = \frac{Co \times 100}{Ct} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Co = Concentração obtida

Ct = Concentração teórica

4.2.3.5. Precisão - Repetibilidade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Para a avaliação da precisão - repetibilidade, as soluções correspondentes a 1, 20, 80 e 120% da concentração da solução padrão de referência de Itraconazol foram avaliadas quanto ao coeficiente de variação (CV), conforme a equação 2.

$$CV = \frac{DP \times 100}{Média} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

DP = Desvio padrão

4.2.4. Ensaios de Dissolução

4.2.4.1. Obtenção dos perfis de dissolução

Os perfis de dissolução foram obtidos conforme Resolução RE 310 (Brasil, 2004) para os produtos: Referência (R); Genérico (G); Similar 1 (S1); Similar 2 (S2) e Farmácias Magistrais (A, B, C e D). As concentrações de itraconazol dissolvido no meio foram obtidas por comparação dos valores de absorbância, determinados por espectrofotometria UV em comprimento de

onda de 255 nm, com a reta de calibração preparada conforme item 4.2.1.9. As condições de dissolução utilizadas se encontram descritas no Quadro 2.

Quadro 2. Especificações para a determinação do perfil de dissolução de itraconazol.

Temperatura	37 ± 0,5 ° C
Sistema de agitação	2 (pá)
Velocidade	100 rpm
Meio de dissolução	Suco gástrico artificial
Volume do meio	900 mL
Alíquota amostrada	15 mL
Tempo de amostragem	10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos
Detecção	Espectrofotometria UV (255 nm)

Para obtenção dos perfis de dissolução dos produtos em estudo, foram utilizadas 12 cápsulas de cada produto. Padronizou-se a coleta de alíquotas (15 mL) do meio nos tempos: 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, e, a cada tomada de ensaio, o meio de dissolução foi repostado. As alíquotas amostradas foram filtradas em filtro Technicon 10µm. Os valores obtidos, para cada intervalo de coleta foram corrigidos considerando-se as alíquotas retiradas e expressos através de porcentagem em função do tempo.

4.2.4.2. Comparação dos Perfis de Dissolução

Os perfis de dissolução obtidos durante o desenvolvimento do método foram comparados através do cálculo do fator de semelhança (f_2). Os perfis obtidos dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C, e D foram comparados através de: fator de diferença (f_1) semelhança (f_2), eficiência de dissolução (ED%) e através dos parâmetros cinéticos $t_{50\%}$, Q_{60} e k .

4.2.4.2.1. Fatores de diferença (f_1) e semelhança (f_2)

A comparação dos perfis de dissolução foi determinada pelo método modelo independente através dos cálculos dos fatores f_1 e f_2 . O fator (f_1) calcula a porcentagem de diferença entre dois perfis de dissolução em cada ponto de coleta e é a medida do erro relativo entre duas curvas:

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

Onde n é o número de tempos de coleta, R_t é a porcentagem dissolvida do produto referência no tempo t e T_t é a porcentagem dissolvida do produto Teste no tempo t .

O fator de similaridade (f_2) é o logaritmo recíproco da transformação da raiz quadrada da soma do erro quadrado e indica a média da similaridade da porcentagem de dissolução entre duas curvas:

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

Onde n é o número de tempos de coleta, R_t é a porcentagem dissolvida do produto referência no tempo t e T_t é a porcentagem dissolvida do produto Teste no tempo t .

De acordo com a literatura, para duas curvas serem consideradas similares, os valores de f_1 devem ser próximos a zero e os valores de f_2 devem ser próximos a 100. Geralmente, valores de f_1 abaixo de 15 (0-15) e valores de f_2 acima de 50 (50-100) determinam a similaridade ou equivalência entre os perfis e assim, a desempenho dos produtos Teste e Referência (ANVISA, 2004; BARTOSZYNSKI *et al.*, 2001; COSTA *et al.*, 2003, FDA, 1997; FLANNER, 2001; MOORE & FLANNER, 1996 O'HARA *et al.*, 1997).

Os fatores f_1 e f_2 demonstram apenas a diferença entre duas curvas. Eles apresentam o mesmo resultado para uma curva teste que está afastada da curva referência, independente de estar acima ou abaixo desta. Além disso, os fatores não fornecem informações sobre possível cruzamento entre as curvas,

ou seja, eles são insensíveis ao formato da curva (MOORE, 1996; MARCOLONGO, 2003).

4.2.4.2.2. Eficiência de dissolução (ED%)

Para calcular ED%, os valores obtidos de porcentagens de dissolução *versus* tempo foram extrapolados a $t=0$. A partir da curva de dissolução obtida, foram determinados os valores de área sob da curva (ASC) dos perfis de dissolução de itraconazol no intervalo de tempo (t), pelo método dos trapezóides (KHAN, RHODES, 1975). A eficiência de dissolução foi determinada através da razão entre a área sob da curva de dissolução no intervalo de tempo entre 0 e 60 minutos (ASC_{0-60 minutos}) e a área total do retângulo (ATR) definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (tempo = 60 minutos). A ED% é expressa em porcentagem e pode ser definida pela equação:

$$DE (\%) = \frac{ASC_{0-60 \text{ minutos}}}{ATR} \times 100 \% \quad (\text{Equação 5})$$

Os resultados referentes à ED% para os produtos avaliados, foram submetidos à análise de variância *One-Way* (ANOVA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos (BOLTON, 1997).

4.2.4.2.3. Determinação dos parâmetros cinéticos

Os resultados obtidos a partir do perfil de dissolução foram submetidos a cálculos matemáticos e estatísticos com o objetivo de determinar a cinética de dissolução dos produtos avaliados. A equação de regressão da reta foi determinada através das porcentagens dissolvidas em função do tempo, utilizando-se dos modelos cinéticos de ordem zero e primeira-ordem (CID, 1981; NIKOLIC *et al*, 1992; SHIN, CHO, 1996). Para avaliar os perfis de dissolução através dos modelos propostos, estabeleceram-se as seguintes relações:

Modelo de ordem zero – para cada produto construiu-se um gráfico que relacionou tempo (minutos) *versus* quantidade da itraconazol não dissolvida (quantidade total - Q_{∞} subtraída da quantidade dissolvida de itraconazol - Q).

Modelo de primeira-ordem - para cada produto construiu-se um gráfico que relacionou tempo (minutos) *versus* logaritmo neperiano da porcentagem de itraconazol não dissolvida ($\ln \%ND$) em função do tempo (minutos).

O modelo matemático que melhor expressou o perfil de dissolução do itraconazol foi selecionado após a análise de regressão linear através da avaliação estatística por análise de variância *One-Way* (ANOVA), estabelecendo-se o índice de determinação (r^2) e o nível de significância da correlação através dos valores de p e de F .

As constantes cinéticas da dissolução foram determinadas a partir das equações definidas pelo modelo matemático que apresentou índice de correlação maior e mais significativo. Dentre os parâmetros cinéticos foram calculados:

Meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$): tempo no qual se dissolvem 50% de itraconazol. Este parâmetro foi calculado após a obtenção dos valores de k , em função do modelo cinético do processo e a partir da equação:

$$t_{50\%} = \frac{0,693}{k} \quad (\text{Equação 6})$$

Quantidade dissolvida de itraconazol após 60 minutos do início do ensaio de dissolução (Q_{60}): este valor foi definido matematicamente conforme a equação da reta de regressão que melhor definiu o perfil de dissolução.

Constante de velocidade de dissolução (k): foi calculada após a seleção do modelo cinético mais adequado para cada produto. Corresponde ao coeficiente angular da inclinação da reta de regressão.

Os resultados referentes à: $t_{50\%}$, Q_{60} e k , foram submetidos à análise de variância *One-Way* (ANOVA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados

estatisticamente significativos em um intervalo de 95% de confiança (BOLTON, 1997).

4.2.5. Avaliação Físico-Química

4.2.5.1. Determinação do peso médio

O peso médio foi determinado com a pesagem do conteúdo de 20 cápsulas individualmente, em balança analítica, como descreve a Farmacopéia Brasileira 4 ed. (1988). O peso médio foi obtido calculando-se a média aritmética das 20 determinações de peso. Também foram calculados os coeficientes de variação.

4.2.5.2. Uniformidade de dosagem

Foi realizado o ensaio de uniformidade de dosagem pelo método da variação de peso conforme descreve a Farmacopéia Americana 29 ed. (2006).

4.2.5.3. Determinação do teor de itraconazol

4.2.5.3.1. Parâmetros para análise CLAE

A determinação do teor foi realizada utilizando equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplado com detector UV, sendo a detecção feita em comprimento de onda de 260 nm. A coluna cromatográfica utilizada foi a Inertsil ODS-2, tamanho de partícula de 5 μm e diâmetro de 150 mm x 4,6 mm, com forno em temperatura de 32 ± 2 °C. A fase móvel utilizada foi solução de acetato de amônio 0,5 % em água deionizada, pH 6,3 e acetonitrila grau HPLC (1:1 v/v), fluxo de 1,7 ml/minuto em eluição isocrática. Foram injetados 15 μL das soluções padrão de referência e amostra.

4.2.5.3.2. Análise de aparência das cápsulas

Realizou-se uma inspeção visual das cápsulas quanto à aparência e material de acondicionamento.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO

Não há monografia de dissolução de cápsulas contendo itraconazol publicada em compêndios oficiais. Portanto, um dos objetivos deste trabalho foi o desenvolvimento de metodologia para ser empregada em estudos de dissolução deste medicamento.

Devido à baixa solubilidade em água, é provável que a solubilidade seja o fator limitante para a absorção do itraconazol (BEULE, 1996; BREWSTER *et al.*, 2004; KAPSI & AYRES, 2001; KOKS, *et al.*, 2002, SHIVAKUMAR & JAMES 2001, SINSWAT, *et al.*, 2005; VERRECK *et al.*, 2003b).

5.1.1 Seleção do meio de dissolução

O itraconazol é uma base fraca ($pK_a = 3,7$), portanto sua dissolução deve ocorrer em meio ácido. Muitos estudos de dissolução de itraconazol têm sido realizados utilizando um volume entre 500ml a 900ml de meio de dissolução. A maioria dos estudos utiliza suco gástrico (pH 1,2) como meio de dissolução e sistema de agitação de pás (aparato II), a 100 rpm (JUNG, *et al.*, 1999; KAPSI & AYRES, 2001; SIX, *et al.*, 2003; SIX, *et al.*, 2004; SIX, *et al.*, 2005; VERRECK, *et al.*, 2003a; VERRECK, *et al.*, 2005).

O FDA disponibiliza uma base de dados onde constam parâmetros de dissolução para algumas formas farmacêuticas registradas no mercado americano, nesta base de dados o itraconazol na forma farmacêutica cápsulas é registrado com os seguintes parâmetros de dissolução: i) meio de dissolução: suco gástrico artificial, ii) volume de meio: 900 mL, iii) aparato: pá, ii) velocidade de agitação: 100 rpm (FDA, 2005).

Sinswat (2005) e Overhoff, *et al.*, (2007) mencionam a adição de tensoativos ao meio de dissolução para aumentar a solubilidade dos péletes de itraconazol. Meios de dissolução aquosos sem adição de tensoativos são preferíveis, mas em alguns casos a adição de tensoativos é indicada para

aumentar a probabilidade de estabelecer correlação *in vitro-in vivo* (BROWM, *et al.*, 2005, ROHRS, 2001).

A escolha do meio de dissolução vai depender da finalidade do método que vai ser desenvolvido. Para controle de qualidade lote a lote, a seleção do meio de dissolução é baseada, em parte, nos dados de solubilidade e na faixa de dosagem em que o fármaco atenda *sink conditions*. O termo *sink conditions* é definido como o volume de meio de dissolução no mínimo três vezes maior que o volume requerido para formar uma solução saturada do fármaco. Um meio que não atende as *sink conditions* dever ser justificado, a menos que o meio demonstre maior poder discriminatório ou demonstre resultados de dissolução que só poderiam ser obtidos com *sink conditions* através de adição de tensoativos. Por outro lado, quando o teste de dissolução é utilizado para indicar propriedades biofarmacêuticas nas formas de dosagem é mais importante que o método se aproxime das condições encontradas no trato gastrointestinal do que necessariamente atenda as *sink conditions* (BROWN, *et al.*, 2004).

Segundo o Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução (BRASIL, 2004), quando não há monografia de dissolução publicada em farmacopéia, deve-se realizar o estudo de dissolução em 3 meios em faixa de pH fisiológico. Não há monografia de dissolução de itraconazol publicada em compêndios oficiais, desta forma, realizou-se inicialmente o estudo de dissolução em três meio: suco gástrico artificial (pH 1,2), tampão fosfato (pH 6,8) e tampão acetato (pH 4,5), utilizando o aparato pá e velocidade de agitação de 100 rpm.

As porcentagens de dissolução apresentadas na Tabela 2 e Figura 3, demonstram que as cápsulas de itraconazol não solubilizaram nas faixas de pH 4,5 e 6,8, as absorbâncias obtidas apresentaram valores muito baixos, próximos à absorbância da solução branco, o que torna os valores de porcentagem obtidos não significativos. Os resultados obtidos com a utilização de suco gástrico artificial pH 1,2 foram superiores a 80% e não houve variação do pH no decorrer do ensaio de dissolução.

Tabela 2. Porcentagens de fármaco dissolvido em suco gástrico artificial, tampão fosfato pH 6,8 e tampão acetato pH 4,5, utilizando aparato pá a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo Itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvios-padrão

Tempo (min)	SG	Tampão fosfato pH 6,8	Tampão acetato pH 4,5
10	28,4 $\pm$ 4,4	1,18 *	0,84 *
15	34,1 $\pm$ 4,0	1,21 *	0,58 *
20	43,8 $\pm$ 4,3	1,29 *	0,56 *
30	60,9 $\pm$ 3,2	1,09 *	0,63 *
40	73,3 $\pm$ 2,7	1,15 *	0,73 *
50	80,4 $\pm$ 3,0	1,16 *	0,73 *
60	84,8 $\pm$ 2,1	1,23 *	0,76 *

* Os desvios-padrão não foram calculados para estas condições, pois os resultados de dissolução obtidos não foram significativos.

Figura 3. Porcentagens de fármaco dissolvido em tampão acetato pH 4,5, tampão fosfato pH 6,8 e suco gástrico artificial, a partir de cápsulas contendo Itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações.

Considerando a baixa solubilidade do fármaco em estudo, também foi avaliada a influência de alguns tensoativos adicionados ao meio de dissolução, sobre as cápsulas contendo itraconazol na forma de péletes. Para isso, foram realizados ensaios utilizando os tensoativos: Tween 20 e lauril sulfato de sódio (LSS), os quais foram adicionados ao meio de dissolução suco gástrico artificial.

Os resultados apresentados na Tabela 3 e Figura 4 mostram que a adição de tensoativos aumentou a dissolução do itraconazol a partir de 15 minutos de ensaio. Porém após 40 minutos de dissolução, os resultados obtidos com a adição de tensoativos ao meio de dissolução apresentaram semelhança ao perfil de dissolução obtido com suco gástrico artificial como meio de dissolução. Todos os resultados foram superiores a 80%.

Dentre os meios de dissolução avaliados, o suco gástrico artificial é o mais recomendado, pois seus resultados foram considerados semelhantes aos obtidos com o emprego dos meios de dissolução adicionados de tensoativos (valores de f2 entre 50 e 100), apresentando, no entanto, um perfil mais gradual, portanto um maior poder discriminatório (Tabela 6).

Tabela 3. Porcentagens de itraconazol dissolvido em suco gástrico artificial (SG), suco gástrico artificial adicionado de Tween 20 e suco gástrico artificial adicionado de Lauril Sulfato de Sódio (LSS), utilizando pá (aparato II) a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvio padrão

Tempo (min)	SG	SG 0,5%Tween	SG 1%Tween	SG 0,25% LSS	SG 0,5% LSS
10	28,4 $\pm$ 4,4	26,4 $\pm$ 1,2	33,3 $\pm$ 4,9	24,4 $\pm$ 5,7	32,9 $\pm$ 5,1
15	34,1 $\pm$ 4,0	38,8 $\pm$ 3,3	44,5 $\pm$ 5,7	43,8 $\pm$ 4,7	51,2 $\pm$ 6,6
20	43,8 $\pm$ 4,3	49,5 $\pm$ 4,2	56,6 $\pm$ 7,4	58,3 $\pm$ 7,4	63,6 $\pm$ 6,5
30	60,9 $\pm$ 3,2	67,9 $\pm$ 5,9	73,8 $\pm$ 8,6	73,5 $\pm$ 2,4	80,5 $\pm$ 4,9
40	73,3 $\pm$ 2,7	77,6 $\pm$ 3,5	81,5 $\pm$ 7,7	79,7 $\pm$ 1,6	83,4 $\pm$ 4,1
50	80,4 $\pm$ 3,0	80,1 $\pm$ 2,7	84,5 $\pm$ 5,1	82,2 $\pm$ 1,2	83,8 $\pm$ 3,4
60	84,8 $\pm$ 2,1	80,5 $\pm$ 2,6	85,6 $\pm$ 3,2	84,7 $\pm$ 1,3	83,4 $\pm$ 3,0

Figura 4. Porcentagens de itraconazol dissolvido em suco gástrico artificial (SG), suco gástrico artificial adicionado de Tween 20 e suco gástrico artificial adicionado de Lauril Sulfato de Sódio (LSS), utilizando pá (aparato II) a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência.

5.1.2 Seleção do aparato e velocidade de agitação

Foram obtidos perfis de dissolução em meio suco gástrico artificial adicionado de tensoativo com a utilização de diversos aparatos e velocidades de agitação a fim de verificar se a adição de tensoativos ao meio possibilitaria a dissolução em condições de agitação mais brandas.

O perfil obtido com o sistema de agitação de cesta e velocidade de agitação de 100 rpm apresentou semelhança estatística (valores de f_2 entre 50 e 100) quando comparado aos perfis obtidos com a utilização do aparato pá a 100 rpm e 75 rpm (Tabela 5). Entretanto, observou-se que fragmentos de cápsulas obstruíram a malha das cestas dificultando o processo de dissolução das mesmas, o que gerou resultados de dissolução inferiores a 80% após 60 minutos de ensaio (Tabela 4 e Figura 5). Devido aos resultados baixos de

dissolução obtidos com a utilização de cestas, determinou-se o aparato pá como o mais adequado.

Para evitar a flutuação das cápsulas no meio de dissolução, foram obtidos perfis com sistema de rotação de pá e utilização de âncoras com velocidade de agitação de 75 rpm e 100 rpm. A análise estatística apontou semelhanças entre a maioria dos perfis avaliados no presente trabalho (Tabela 5). Porém, com a utilização de âncoras houve aglomeração dos péletes ao redor das mesmas, gerando resultados de dissolução inferiores a 80% após 60 minutos (Tabela 4 e Figura 5).

O emprego das velocidades de agitação de 50 rpm e 75 rpm não permitiu a total dissolução dos péletes contendo itraconazol. Após 60 minutos de ensaio os resultados foram menores que 80% (Tabela 4 e Figura 5). A utilização de velocidade de agitação de 50 rpm levou a diferenças em relação às outras condições de agitação e aparato avaliadas neste estudo, pois os valores de f_2 foram menores que 50 em todas as comparações (Tabela 5). Esse comportamento também foi observado para algumas condições em que a rotação de 75 rpm foi empregada. Dessa forma, em função dos resultados obtidos, pode-se sugerir que a rotação mais indicada para essa forma farmacêutica é 100 rpm.

Tabela 4. Porcentagens de fármaco dissolvido em suco gástrico artificial (SG) adicionado de 1% de Tween 20, utilizando cesta (aparato I) a 100 rpm, pá (aparato II) a 50 rpm, a 75 rpm e a 100 rpm e pá + âncora a 75 rpm e a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência. Os valores correspondem à média de 6 determinações $\pm$ desvio padrão

Tempo (min)	50rpm pá	75rpm pá	100rpm pá	75rpm pá/âncora	100rpm pá/âncora	100rpm Cesta
10	2,2 $\pm$ 2,1	19,9 $\pm$ 3,5	33,3 $\pm$ 4,9	16,9 $\pm$ 2,8	19,9 $\pm$ 4,3	32,7 $\pm$ 5,1
15	12,3 $\pm$ 4,0	31,3 $\pm$ 4,5	44,5 $\pm$ 5,7	34,3 $\pm$ 4,2	37,7 $\pm$ 6,9	46,8 $\pm$ 6,6
20	23,0 $\pm$ 4,0	41,9 $\pm$ 5,9	56,6 $\pm$ 7,4	49,9 $\pm$ 3,8	55,1 $\pm$ 6,5	56,8 $\pm$ 6,5
30	33,1 $\pm$ 1,5	59,7 $\pm$ 11,6	73,8 $\pm$ 8,6	63,7 $\pm$ 2,4	72,1 $\pm$ 5,4	69,0 $\pm$ 4,9
40	35,0 $\pm$ 1,9	69,8 $\pm$ 13,5	81,5 $\pm$ 7,7	66,1 $\pm$ 1,9	76,9 $\pm$ 5,3	74,6 $\pm$ 4,1
50	38,6 $\pm$ 2,5	76,2 $\pm$ 11,5	84,5 $\pm$ 5,1	67,1 $\pm$ 2,1	77,5 $\pm$ 5,1	75,8 $\pm$ 3,4
60	39,2 $\pm$ 2,4	78,6 $\pm$ 9,7	85,6 $\pm$ 3,2	68,0 $\pm$ 1,6	77,4 $\pm$ 4,6	75,6 $\pm$ 3,0

Figura 5. Porcentagens de fármaco dissolvido em suco gástrico artificial (SG) adicionado de 1% de Tween 20, utilizando cesta (aparato I) a 100 rpm, pá (aparato II) a 50 rpm, a 75 rpm e a 100 rpm e pá + âncora a 75 rpm e a 100 rpm, a partir de cápsulas contendo itraconazol 100 mg, medicamento referência.

Tabela 5. Valores de fator de semelhança (f2) calculados a partir dos perfis de dissolução de cápsulas de Itraconazol 100 mg, medicamento referência, durante o desenvolvimento do método analítico

Condição avaliada			f2
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	54,5
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	30,2
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	67,5
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	52,2
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	57,4
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	55,0
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	56,7
SG, 100 rpm, pá	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	55,0
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	27,2
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	48,3
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	45,6
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	58,5
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	62,3
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	67,6
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	72,8
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	32,4
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	33,8
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	29,6
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	29,1
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	26,2
SG + 1%Tween, 50 rpm, pá	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	27,8
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	60,4
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	57,1
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	51,5
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	43,3
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	50,7
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	56,9
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	52,3
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	42,8
SG + 1%Tween, 75 rpm, pá + âncora	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	13,0
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	x	SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	61,7
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	53,4
SG + 1%Tween, 100 rpm, pá + âncora	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	67,5
SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	x	SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	57,4
SG + 1%Tween, 100 rpm, cesta	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	62,4
SG + 0,25% LSS, 100 rpm, pá	x	SG + 0,5% LSS, 100 rpm, pá	63,5

5.1.3. Meio de dissolução e condições selecionadas

Em função dos resultados obtidos, foram padronizadas as seguintes condições para o presente estudo:

Meio de dissolução: Suco gástrico artificial

Volume: 900 mL

Aparato: II (pá)

Velocidade de rotação: 100 rpm

Tempos de amostragem: 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

Quantificação: espectrometria UV a 255 nm

5.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO UTILIZADO NO ESTUDO DE DISSOLUÇÃO

A análise do itraconazol dissolvido foi realizada através de método espectrofotométrico com detecção em ultravioleta (UV). O método analítico foi avaliado quanto às seguintes características: especificidade e seletividade, limite de quantificação (sensibilidade), linearidade, precisão e exatidão.

5.2.1. Especificidade e seletividade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Nas Figuras 7, 8 e 9 são apresentados os resultados de especificidade e seletividade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução utilizando suco gástrico artificial como meio de dissolução. Pode-se considerar este método específico e seletivo, pois não houve interferência do placebo no pico de absorção máxima do itraconazol que foi definido em 255 nm.

Figura 6. Espectro de absorção UV-Visível da solução placebo na validação do método do espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

Figura 7. Espectro de absorção UV-Visível da solução padrão na validação do método do espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

Figura 8. Espectro de absorção UV-Visível da solução amostra na validação do método do espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

5.2.2. Linearidade do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Para a construção da reta de calibração apresentada na Figura 10, foram utilizadas as concentrações teóricas versus absorbâncias obtidas, como mostra a Tabela 6. O método foi considerado linear, pois houve a formação de uma reta e obteve-se coeficiente de determinação - r^2 igual a 1,000. Verificou-se também que a reta passa pela origem, ou seja, a interseção da reta apresenta valor não significativo, $p > 0,05$ (teste t), com uma equação da reta: $y = 0,0059x - 0,0005$.

Figura 9. Reta de calibração do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução com concentrações teóricas variando de 1,11 a 133 $\mu\text{g/mL}$. Os pontos se referem à médias de três determinações.

Tabela 6. Validação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Amostras	Concentração teórica (µg/mL)	Absorbância obtida	Recuperação (%)	Média das Recuperações (%)
*0,05%	0,058	0,000025511	7,5	16,9
	0,058	0,00011754	34,2	
	0,057	0,000030279	9,0	
*0,5%	0,579	0,0030460	89,2	93,2
	0,582	0,00034122	99,3	
	0,571	0,0030673	91,0	
1%	1,157	0,0066686	97,6	97,8
	1,165	0,0065274	95,0	
	1,142	0,0067945	100,8	
5%	5,785	0,033810	99,0	99,5
	5,823	0,033838	98,4	
	5,712	0,034044	101,0	
10%	11,570	0,067931	99,5	99,7
	11,646	0,067973	98,9	
	11,424	0,067877	100,7	
20%	23,140	0,13578	99,4	99,6
	23,292	0,13581	98,8	
	22,848	0,13553	100,5	
80%	88,380	0,51996	99,7	99,6
	88,840	0,51985	99,1	
	88,060	0,51968	100,0	
90%	100,740	0,59142	99,5	99,5
	100,460	0,59123	99,7	
	100,820	0,59139	99,4	
100%	113,180	0,66490	99,5	99,5
	112,940	0,66427	99,6	
	113,220	0,66466	99,5	
110%	123,400	0,73303	100,6	100,4
	123,260	0,72981	100,3	
	123,480	0,73003	100,2	
120%	132,980	0,78663	100,2	100,0
	133,060	0,78366	99,8	
	132,900	0,78415	100,0	

* Soluções utilizadas apenas para determinar limite de quantificação.

5.2.3. Limite de quantificação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

O limite de quantificação estabelecido foi de 0,56 µg/mL para o método em questão, pois obteve-se recuperações de 89,2%, 99,3% e 91,0% para as amostras correspondentes a 0,5% da concentração teórica de uma cápsula de itraconazol 100 mg contida em 900 mL de meio de dissolução (Tabela 6).

5.2.4. Exatidão do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

As soluções correspondentes a 1, 20, 80 e 120% da concentração da solução padrão referência de itraconazol foram avaliadas quanto a sua concentração obtida e a média das três concentrações. Os resultados estão apresentados na Tabela 8. Verificou-se variação da recuperação individual de 97,6 a 100,8% e a média das recuperações foi de 97,8 a 100,0%. Estes valores segundo a USP 29 ed. (2006) e a RE 899 (BRASIL, 2003) são satisfatórios e comprovam a exatidão do método.

Tabela 7. Recuperação, média das recuperações e coeficiente de variação (CV) nas etapas de exatidão e precisão da validação do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Amostras	Recuperação (%)	Média das recuperações (%)	CV (%)
1%	97,6	97,8	3,0
	95,0		
	100,8		
20%	99,4	99,6	0,9
	98,8		
	100,5		
	99,7		
80%	99,1	99,6	0,4
	100,0		
	100,2		
120%	99,8	100,0	0,2
	100,0		

5.2.5. Precisão do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução

Os coeficientes de variação obtidos, demonstrados na Tabela 7, foram de 3,0%, 0,9%, 0,4% e 0,2% correspondentes às soluções de 1, 20, 80 e 120% da concentração da solução padrão referência de itraconazol. Coeficientes de variação menor que 5% são considerados aceitáveis (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2006; BRASIL, 2003), comprovando a precisão (repetibilidade) do método espectrofotométrico UV para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução.

5.3. COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO

Os perfis de dissolução para os produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D foram obtidos sob as seguintes condições: meio de dissolução – suco gástrico artificial ; velocidade – 100 rpm; aparato – pá; tempos de amostragem – 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

Os produtos avaliados apresentaram diferentes perfis de dissolução de itraconazol. As curvas de dissolução estão apresentas na Figura 11 e os valores de porcentagem de dissolução com os respectivos desvios-padrão para cada um dos produtos avaliados, estão apresentados na Tabela 8. A comparação dos perfis de dissolução obtidos a partir dos produtos avaliados no presente estudo foi estabelecida através de: estudo de cinética de dissolução, eficiência de dissolução (ED%) e fatores f_1 e f_2 .

Tabela 8. Média das porcentagens de itraconazol dissolvido ($\pm$ desvios-padrão) em função do tempo, a partir dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D

Tempo (min)	R	G	S1	S2	A	B	C	D
10	45,6 $\pm$ 3,9	28,0 $\pm$ 4,4	2,6 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 1,7	29,0 $\pm$ 5,5	26,3 $\pm$ 4,4	31,9 $\pm$ 6,4	2,8 $\pm$ 2,1
15	58,3 $\pm$ 3,3	40,1 $\pm$ 5,4	8,8 $\pm$ 4,6	7,9 $\pm$ 6,7	49,1 $\pm$ 6,0	41,8 $\pm$ 5,3	48,1 $\pm$ 6,9	6,9 $\pm$ 5,4
20	69,7 $\pm$ 2,8	54,6 $\pm$ 5,2	21,0 $\pm$ 9,8	16,2 $\pm$ 11,9	68,3 $\pm$ 5,0	56,4 $\pm$ 5,4	60,1 $\pm$ 6,5	15,4 $\pm$ 7,1
30	84,0 $\pm$ 3,2	76,0 $\pm$ 3,6	51,8 $\pm$ 12,4	36,8 $\pm$ 22,9	87,4 $\pm$ 3,0	73,5 $\pm$ 5,2	72,7 $\pm$ 7,1	34,0 $\pm$ 8,5
40	91,9 $\pm$ 2,9	87,6 $\pm$ 4,3	76,6 $\pm$ 9,1	59,3 $\pm$ 26,7	94,8 $\pm$ 1,9	79,3 $\pm$ 5,3	79,1 $\pm$ 6,0	54,8 $\pm$ 5,7
50	95,6 $\pm$ 2,7	93,2 $\pm$ 4,9	88,5 $\pm$ 7,4	77,2 $\pm$ 22,1	98,0 $\pm$ 1,8	81,7 $\pm$ 4,9	82,7 $\pm$ 5,2	69,1 $\pm$ 5,0
60	97,0 $\pm$ 1,9	96,1 $\pm$ 5,2	94,1 $\pm$ 6,0	88,4 $\pm$ 10,0	99,0 $\pm$ 1,7	82,6 $\pm$ 5,1	84,2 $\pm$ 4,8	76,5 $\pm$ 4,9

R – produto referência; G – produto genérico; S1 – produto similar 1; S2 – produto similar 2; A – Farmácia magistral A; B – Farmácia magistral B; C – Farmácia magistral C; D – Farmácia magistral D.

Figura 10. Perfis de dissolução de cápsulas contendo itraconazol (100 mg), a partir dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D, em suco gástrico artificial pH 1,2, a $37 \pm 0,5$ °C, com velocidade de agitação de 100 rpm utilizando o aparato pá. Os valores correspondem a media de 12 determinações.

5.3.1. Fatores de diferença (f_1) e semelhança (f_2)

O fator f_2 foi calculado comparando-se todos os produtos em pares, o que permitiu não somente uma avaliação dos produtos em relação ao medicamento de referência, mas uma avaliação mais ampla de todos os produtos. Para o fator f_1 a fórmula de cálculo não permite intercâmbio entre produto referência e teste (O'HARA *et al.*, 1998). Desta forma foi feita apenas a comparação do produto R com os produtos G, S1, S2, A, B, C e D.

De acordo com valores de f_1 e f_2 , apenas a farmácia magistral A possui perfil de dissolução semelhante ao produto de referência (R), pois o valor de f_1 foi inferior a 15 (Tabela 9) e o valor de f_2 foi superior a 50 (Tabela 10). Os demais produtos não possuem perfis de dissolução semelhantes ao produto referência (R), pois os valores de f_1 foram superiores a 15 e os valores de f_2 foram inferiores a 50.

O produto genérico apresentou similaridade aos produtos A, B e C. O produto S2 apresentou similaridade aos produtos S1 e D. Entre as farmácias magistrais avaliadas, a farmácia A *versus* B, A *versus* C e B *versus* C apresentaram similaridade de acordo com f_2 . (Tabela 10).

Tabela 9. Valores de f_1 resultantes da comparação do produto R com os produtos G, S1, S2, A, B, C e D

	R x G	R x S1	R x S2	R x A	R x B	R x C	R x D
f_1	18,1	54,0	64,8	6,0	20,7	16,5	67,4

Tabela 10. Valores de f_2 resultantes das comparações entre os produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D

	f_2						
	G	S1	S2	A	B	C	D
R	45,8	27,3	25,1	54,7	44,5	49,1	24,6
G		34,1	30,2	53,1	70,2	61,7	29,3
S1			51,2	29,3	34,3	32,1	47,2
S2				26,4	30,9	29,4	81,2
A					49,7	51,3	25,7
B						70,1	30,0
C							28,7

5.3.2. Eficiência de dissolução

Os resultados do percentual de eficiência de dissolução estão apresentados na Tabela 11 e Figura 12.

Tabela 11. Eficiência de dissolução (ED%) de itraconazol cápsulas (100 mg), obtidas a partir dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D. Os valores correspondem à média de 12 determinações $\pm$ desvio-padrão

Produtos	ED%
R	72,61 $\pm$ 2,14
G	64,47 $\pm$ 3,43
S1	47,67 $\pm$ 6,39
S2	39,29 $\pm$ 14,32
A	71,20 $\pm$ 2,42
B	59,78 $\pm$ 4,21
C	61,62 $\pm$ 5,08
D	35,55 $\pm$ 4,65

Figura 11. Eficiência de dissolução (ED%) de cápsulas de itraconazol (100 mg), obtidas a partir dos produtos R, G, S, A, B, C e D. Os valores correspondem à média de 12 determinações.

Na Tabela 11 e Figura 12 observa-se que o produto A apresentou maior resultados de ED%, seguido pelos produtos R, G, C, B, S1, S2 e D. O produto S2 apresentou a maior variabilidade de resultados (desvio-padrão = 14,32).

A partir dos resultados de ED% foi realizada a comparação estatística através de análise de variância (ANOVA) dos resultados obtidos de 12 determinações de ED% para cada produto.

Na Tabela 12, observa-se que análise de variância indicou diferenças significativas entre os produtos. De acordo com a ED% apenas a farmácia magistral A apresentou ED% semelhante ao produto referência (R), ou diferença não significativa ($p > 0,05$).

Os produtos G *versus* C, S1 *versus* S2, S2 *versus* D e B *versus* C apresentaram ED% semelhantes, ou diferenças não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 12. Índices de significância (p) resultantes das comparações entre os produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D, para ED%. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos

	ED%						
	G	S1	S2	A	B	C	D
R	0,000	0,000	0,000	0,145	0,000	0,000	0,000
G		0,000	0,000	0,000	0,007	0,123	0,000
S1			0,077	0,000	0,000	0,000	0,000
S2				0,000	0,000	0,000	0,399
A					0,000	0,000	0,000
B						0,347	0,000
C							0,000

5.3.3. Estudos cinéticos de dissolução

A partir dos perfis de dissolução obtidos, que relacionam porcentagem dissolvida *versus* tempo, foram determinados parâmetros cinéticos, os quais possibilitaram uma análise comparativa com relação ao comportamento *in vitro* desses produtos.

Alguns autores têm utilizado o modelo de primeira ordem, entre outros, como método de comparação modelo dependente de perfis de dissolução de formulações de liberação imediata. Para aplicar um método de comparação modelo dependente, a primeira etapa é a determinação do modelo cinético que melhor representa o processo de dissolução. Esta definição é obtida através da análise da regressão linear dos resultados obtidos a partir do perfil de dissolução, empregando-se modelos matemáticos, tais como: ordem zero, primeira ordem, entre outros. Os valores de coeficiente de determinação (r^2) e os índices de significância (F e p), obtidos na análise da regressão linear, indicaram o modelo cinético que melhor se ajustou ao perfil de dissolução dos produtos avaliados (BRAVO *et al.*, 2004; DOKOUMETZIDIS *et al.*, 2006; SERRA, STORPIRTIS, 2007; YUKSEL *et al.*, 2000).

A Figura 13 apresenta a aplicação do modelo de cinética de primeira ordem. Os coeficientes de determinação (r^2) para os produtos R, G, A, B e C, ficaram entre 0,966 e 0,999 e os valores de F e p indicaram um alto grau de significância para o modelo de primeira ordem (Tabela 14). De acordo com

descrição da literatura, o modelo de primeira ordem está principalmente relacionado às formulações de liberação convencional (CID, 1981; ISHII *et al.*, 1996).

Entretanto, para os produtos S1, S2 e D, os coeficientes de correlação (r^2) (valores entre 0,921 e 0,957) e os valores de F e p indicaram um alto grau de significância para o modelo de ordem zero (Figura 14 e Tabela 13). O modelo de liberação de ordem zero é relacionado às formulações de liberação modificada, o fato dos produtos S1, S2 e D apresentarem significância para o modelo de ordem zero pode ser explicado pela lenta dissolução destes produtos no intervalo inicial do ensaio de dissolução. Tal fato gerou perfis de dissolução com características de liberação modificada. Por este motivo, os produtos S1, S2 e D, não foram comparados quanto aos parâmetros cinéticos, para que não fossem gerados resultados incoerentes no estudo, apenas os produtos que apresentaram cinética de primeira ordem foram avaliados.

As equações de cinética de primeira ordem obtidas para os produtos R, G, A, B e C estão descritas na Tabela 14. A partir das equações foram determinados os parâmetros cinéticos: constante de velocidade de dissolução (k); meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$); quantidade dissolvida em 60 minutos do ensaio de dissolução (Q 60) (Tabela 16).

Tabela 13. Parâmetros estatísticos da análise de regressão, aplicando os modelos de ordem zero e primeira ordem, calculados a partir dos valores de médios dos perfis de dissolução dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D

Modelo	Ordem zero			Primeira ordem		
	r^2	F	p	r^2	F	P
R	0,840	26,30	0,004	0,999	7319,01	0,000
G	0,947	89,35	0,000	0,985	328,91	0,000
S1	0,951	97,39	0,000	0,903	46,46	0,001
S2	0,921	46,72	0,000	0,869	26,62	0,000
A	0,891	40,92	0,001	0,982	274,61	0,000
B	0,890	40,49	0,001	0,966	140,67	0,000
C	0,864	31,65	0,002	0,975	192,63	0,000
D	0,957	110,06	0,000	0,916	54,73	0,001

r^2 = coeficiente de determinação; F e p = índices de significância

Figura 12. Aplicação do modelo de ordem zero. Quantidade de itraconazol não dissolvida *versus* tempo, a partir de cápsulas (100 mg), produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D em suco gástrico artificial, pH 1,2, velocidade de agitação das pás a 100 rpm. Os valores correspondem à média de doze determinações.

Figura 13. Aplicação do modelo de primeira ordem. Transformação logarítmica da porcentagem de itraconazol não dissolvida a partir das cápsulas (100 mg), produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D em suco gástrico artificial, pH 1,2, velocidade de agitação das pás a 100 rpm. Os valores correspondem à média de doze determinações.

Tabela 14. Equações obtidas a partir dos perfis de dissolução dos produtos R, G, A, B e C seguindo cinética de primeira ordem

Produtos	Equação de primeira ordem
R	$\ln \%ND = 4,64 - 0,062t$
G	$\ln \%ND = 4,72 - 0,053t$
A	$\ln \%ND = 4,89 - 0,077t$
B	$\ln \%ND = 4,63 - 0,041t$
C	$\ln \%ND = 4,54 - 0,0411t$

ln %ND = logaritmo da porcentagem de itraconazol não dissolvida; t = tempo (min).

Tabela 15. Valores médios dos parâmetros cinéticos (desvios-padrão) a partir do modelo de cinética de primeira ordem, derivados dos perfis de dissolução dos produtos R, G, A, B e C

Produtos	$t_{50\%}$ (min)	Q 60 (%)	k (min ⁻¹)
R	11,41 ± 1,83	97,16 ± 1,65	0,062 ± 0,009
G	14,40 ± 6,30	94,33 ± 4,42	0,053 ± 0,012
A	9,17 ± 1,07	98,50 ± 0,65	0,077 ± 0,010
B	17,43 ± 3,13	90,60 ± 3,43	0,041 ± 0,007
C	18,98 ± 7,27	90,06 ± 5,35	0,041 ± 0,013

Os valores representam os parâmetros cinéticos calculados, em que: k = constante de velocidade de dissolução (min⁻¹); $t_{50\%}$ = tempo no qual se dissolvem 50% da itraconazol (min); Q60 = quantidade de itraconazol dissolvida aos 60 minutos (%).

Tabela 16. Índices de significância (p) resultantes das comparações entre os produtos R, G, A, B e C, para os seguintes parâmetros: $t_{50\%}$ (min); Q 30 (%) e k (min⁻¹). Valores de p < 0,05 foram considerados estatisticamente significativos

	G			A			B			C		
	Q60 (%)	$t_{50\%}$ (min)	k (min ⁻¹)	Q60 (%)	$t_{50\%}$ (min)	k (min ⁻¹)	Q60 (%)	$t_{50\%}$ (min)	k (min ⁻¹)	Q60 (%)	$t_{50\%}$ (min)	k (min ⁻¹)
R	0,050	0,129	0,048	0,016	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
G				0,004	0,010	0,000	0,031	0,151	0,009	0,044	0,113	0,030
A							0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
B										0,770	0,504	0,924

A comparação dos parâmetros $t_{50\%}$, Q₆₀, k, através da análise de variância (ANOVA) apontou semelhança estatística entre os produtos R *versus* G e B *versus* C, (p > 0,05) (Tabela 17).

Os produtos G *versus* B e G *versus* C apresentaram semelhança estatística apenas para o parâmetro cinético $t_{50\%}$ (p > 0,05) (Tabela 16).

Todas as metodologias de comparação de perfis de dissolução (f_2 , ED%, $t_{50\%}$, Q_{60} e k) apontaram semelhança entre os perfis de dissolução dos produtos B *versus* C.

Realizando uma análise em relação ao medicamento referência, apenas o produto A foi considerado semelhante quando foi empregado o método modelo independente f_1 e f_2 . Este resultado também foi observado na análise da eficiência de dissolução. Por fim, os estudos cinéticos apontaram apenas o produto genérico como semelhante ao de referência.

Considerando que a ferramenta de comparação de perfis utilizada oficialmente pela ANVISA é a aplicação do modelo independente f_1 e f_2 , o produto Genérico estaria reprovado no estudo de equivalência farmacêutica de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2003; BRASIL 2004). Desta forma, sugere-se uma reavaliação do produto Genérico apresentado no presente trabalho.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que distintos métodos de comparação podem originar diferentes resultados. Portanto, a aplicação de diferentes métodos na comparação dos perfis de dissolução pode fornecer informações mais precisas sobre o comportamento de dissolução dos produtos em análise e facilitar o desenvolvimento ou otimização de formulações.

Devido ao fato do itraconazol pertencer à classe II do sistema de classificação biofarmacêutica (SIX *et al.*, 2004), cabe ressaltar que, a dissolução *in vivo* é a etapa limitante da absorção, e esta pode ser variável devido aos fatores relacionados às formulações. Assim, os estudos de dissolução *in vitro* são fundamentais para assegurar a qualidade das formulações, bem como para permitir a otimização das mesmas quando em desenvolvimento. Portanto, a definição do método utilizado para a comparação dos perfis obtidos deve ser cuidadosa.

Apesar das diferenças *in vitro* observadas entre as formulações, os ensaios *in vivo* podem indicar a bioequivalência entre os produtos. Estudos *in vitro* são fundamentais à detecção de diferenças entre produtos. Além disto, fornecem indicações sobre o provável comportamento *in vivo*. Entretanto,

somente os estudos de bioequivalência e biodisponibilidade vão permitir conclusões definitivas a respeito das diferenças existentes entre os produtos avaliados. (PORTA *et al.*, 2002).

5.4. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Na Tabela 17 estão apresentados os resultados dos ensaios de teor de itraconazol, peso médio e uniformidade de dosagem dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D. De acordo com a Farmacopéia Brasileira 4 ed. (1988) a variação aceitável de peso médio para cápsulas cuja unidade farmacotécnica contenha mais de 300 mg é de 7,5%. Desta forma, todos os produtos atenderam ao critério. A Farmacopéia Americana (USP 29 ed., 2006), no capítulo sobre uniformidade de dosagem, descreve que o coeficiente de variação para o ensaio de peso médio deve ser igual ou inferior a 6,0%, todas as formulações também atenderam a esse critério.

As cápsulas de itraconazol não estão descritas em farmacopéia, as monografias de cápsulas descritas na maioria das farmacopéias permitem uma variação do teor de 10% e 15% para uniformidade de dosagem, em relação ao declarado. Desta forma, utilizando este critério de aceitação para os produtos avaliados neste estudo, o teor das cápsulas provenientes da farmácia magistral C (84,1%), apresentou valor inferior a faixa de 90 -110%, bem como valores inferiores a faixa de 85-115% para uniformidade de dosagem, não atendendo aos critérios de aceitação. Os demais produtos avaliados no estudo foram aprovados. Os cromatogramas das soluções padrão e amostra estão apresentados nas Figuras 15 e 16.

Tabela 17. Ensaios físicos de peso médio, teor e uniformidade de dosagem (UD) das cápsulas contendo 100mg de itraconazol, provenientes dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D

Produto	Teor (%)	Peso médio (mg)	CV*	UD(%)	CV*
R	97,9	462,5 ± 5,1	1,1	97,9 ± 1,1	1,1
G	98,7	453,1 ± 20,5	4,3	99,1 ± 4,6	4,4
S1	103,4	483,2 ± 11,5	2,3	103,0 ± 2,4	2,3
S2	97,5	455,4 ± 10,0	2,2	97,8 ± 2,0	2,0
A	99,5	462,0 ± 4,4	1,0	99,5 ± 0,9	0,9
B	100,9	510,9 ± 13,1	2,5	100,9 ± 2,6	2,6
C	84,1	537,6 ± 14,5	2,7	83,9 ± 2,3	2,8
D	92,9	497,1 ± 12,9	2,6	93,1 ± 2,4	2,7

*CV = coeficiente de variação.

Figura 14. Cromatograma da solução padrão (157,5 µg/mL), na determinação do teor de itraconazol.

Figura 15. Cromatograma da solução amostra (200µg/mL), na determinação do teor de itraconazol.

Tabela 18. Valores de teor de itraconazol e dissolução em 60 minutos, provenientes dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D

Produto	Teor (%)	Dissolução em 60 minutos
R	97,9	97,0 ± 1,9
G	98,7	96,1 ± 5,2
S1	103,4	94,1 ± 6,0
S2	97,5	88,4 ± 10,0
A	99,5	99,0 ± 1,7
B	100,9	82,6 ± 5,1
C	84,1	84,2 ± 4,8
D	92,9	76,5 ± 4,9

A comparação entre os valores obtidos no perfil de dissolução após 60 minutos de ensaio e os valores de teor de itraconazol dos produtos R, G, S1, S2, A, B, C e D, estão apresentados na Tabela 18. Comparando os valores de dissolução do produto C em 60 minutos ($84,2 \pm 4,8$ %) com o valor obtido de teor (84,1%), observa-se que este produto apresentou baixo valor de dissolução, devido ao teor de itraconazol contido nas cápsulas e não por problemas relacionados à dissolução do produto.

A avaliação da aparência das cápsulas e material de acondicionamento estão ilustrados nas Figuras 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22. Os produtos R, G, S1, S2 e B foram acondicionados em blisters e os produtos A, C e D em frascos em frascos plásticos contendo sílica gel. As cápsulas dos produtos R e G apresentaram-se visualmente idênticas, fato que pode facilitar a troca dos produtos. O produto S1 apresentou os seguintes desvios: blister com uma bolha vazia, faltando uma cápsula (Figura 22), blisters contendo péletes soltos nas bolhas e alguns blisters contendo cápsulas quebradas e amassadas.

Figura 16. Fotografia das cápsulas do produto Referência (R).

Figura 17. Fotografia das cápsulas do produto Genérico (G)

Figura 18. Fotografia das cápsulas do produto Similar 1 (S1).

Figura 19. Fotografia das cápsulas do produto Similar 2 (S2).

Figura 20. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral A.

Figura 21. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral B.

Figura 22. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral C.

Figura 23. Fotografia das cápsulas da Farmácia magistral D.

Figura 24. Fotografia das cápsulas do produto Similar (S), contidas em blisters.

6. CONCLUSÕES

- O método de dissolução utilizando suco gástrico artificial como meio de dissolução é a opção mais recomendada para a comparação de cápsulas contendo itraconazol, pois este apresentou maior poder discriminatório.
- O método de dissolução empregado para quantificação de itraconazol no ensaio de dissolução mostrou-se específico, seletivo, linear, exato e preciso.
- Os resultados das análises físico-químicas de peso médio, teor e uniformidade de dosagem reprovaram a farmácia magistral C nos ensaios de teor e uniformidade de dosagem, pois esta apresentou teor e uniformidade de dosagem abaixo dos limites especificados na farmacopéia brasileira 4ª edição (1988).
- Através da comparação dos valores de dissolução em 60 minutos do produto C ($84,2 \pm 4,8 \%$) com o valor obtido de teor (84,1%), observa-se que este produto apresentou baixo valor de dissolução, devido ao baixo teor de itraconazol contido nas cápsulas e não por problemas relacionados à dissolução do produto.
- O produto Genérico não foi considerado semelhante ao produto de Referência através dos métodos de comparação f_1 , f_2 e ED%. Apenas a comparação dos parâmetros cinéticos $t_{50\%}$, Q_{60} , k , apontaram semelhança entre os mesmos.
- Apenas a Farmácia Magistral A apresentou perfil de dissolução semelhante ao produto de Referência através da comparação dos perfis de dissolução através dos parâmetros f_1 e f_2 e ED%.
- Todas as metodologias de comparação de perfis de dissolução apontaram semelhança entre os perfis de dissolução dos produtos B e C.

7. REFERÊNCIAS

ABDOU, H.M. Dissolution. In: REMINGTON: the science and practice pharmacy. 19.ed. Easton: Mack, 1995. p.593-604.

ADAMS, E.; COOMANS, D.; SMEYERS-VERBEKE, J.; MASSART, D.L. Application of linear mixed effects models to the evaluation of dissolution profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.226, p.107-125, 2001.

AMIDON, G.L.; LENNERNAS, 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. **Pharmaceutical Research**, v.12, p.413-420, 1995.

ANDERSON, N.H.; BAUER, M.; BOUSSAC, N.; KHAN-MALEK, R.; MUNDEN, P.; SARDARO, M. An evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of *in vitro* dissolution profiles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.17, p.811-822, 1998.

BARTOSZYNSKI, R.; POWDERS, J.D.; HERDERICK, E.E.; PULTTZ, J.A. Statistical comparison of dissolution curves. **Pharmacological Research**, n.4, v.43, p.369-387, 2000.

BEULE, K. Itraconazole: pharmacology, clinical experience and future development. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n.6, p.175-181, 1996.

BOLTON, S. **Pharmaceutical statistics**: practical and clinical applications. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1997. p.148-156. (Drugs and the pharmaceutical sciences, v.80).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Resolução RDC n.157, de 31 de maio de 2002**. Estabelece os requisitos para o registro de medicamentos similares. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=7251#> Acesso em: 02 jul. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Resolução RDC n.135, de 29 de maio de 2003**. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=7909&word=Gen%C3%A9ricos> Acesso em: 02 jul. 2007.

BRASIL. Resolução RE n.899, de 29 de maio de 2003. O adjunto da diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.104, 2 jun.2003. Seção I, p.56.

BRASIL. Resolução n.310, de 01 de setembro de 2004. O adjunto da diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece o Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 set. 2004. Seção 1, p.59-60.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. **Resolução RDC n.214, de 12 de dezembro de 2006**. Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25128&word=> Acesso em: 10 jan. 2006.

BREWSTER, M.E.; VERRECK, G.; CHUN, I.; ROSENBLATT, J.; MENSCH, A.; DIJCK, A.V.; NOPPE, M.; ARIEN, A.; BRUINING, M.; PEETERS, J. The use of polymer-based electrospun nanofibers containing amorphous drug dispersions for the delivery of poorly water-soluble pharmaceuticals. **Pharmazie**, n.5, v.59, p.387-391, 2004.

CARRIER, A.; PARENT, J. Liquid chromatographic-mass spectrometric determination of itraconazole and its major metabolite, hydroxyitraconazole, in dog plasma. **Journal of Chromatography, B: Biomedical Sciences and Applications**, v.745, n.2, p.413-420, 2000.

CID CÁRCAMO, E. **Cinética de dissolución de medicamentos**. Washington: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1981. 102p. (Serie de química: monografía, n.24).

COSTA, P. An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. **International Journal of Pharmaceutics**, v.220, p.77-83, 2001.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.13, p.123-133, 2001.

COSTA, F.O.; SOUSA, J.J.S.; PAIS, A.A.C.C.; FORMOSINHO, S.J. Comparison of dissolution profiles of Ibuprofen pellets. **Journal of Controlled Release**, v.89, p.199-212, 2003.

DIGENIS A., THOMAS B. G., SHAH V. P. Crosslinking of capsules and its relevance to their in vitro/in vivo performance. **Journal of Pharmaceutics Sciences**, v.83, n.7, p. 915-921, 1994.

DOKOUMETZIDIS, A.; PAPADOPOULOU, V.; MACHERAS, P. Analysis of dissolution data using modified versions of Noyes-Whitney equation and the Weibull function. **Pharmaceutical Research**, v.23, n.2, p.256-261, 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. **Pharmaceutical Research**, v.15, p.11-22, 1998.

DRESSMAN, J.; DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Qual é o futuro do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS)? **Pharmaceutical Technology: Edição Brasileira**, v.5, p.28-32, 2001.

EUROPEAN Pharmacopoeia. 3.ed. Strasbourg: Council of Europe, 2001. p.1026-1028.

FARMACOPEIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. v.1, p.v.1.1.-1-v1.1.-3.

FDA. **Guidance for industry**: immediate release solid oral dosage forms. Rockville: Center for Drug Evaluation and Research, 1997. 30p. Disponível em: <http://www.fda.gov/CDER/guidance/cmc5.pdf>. Acesso em: 02 jan 2004.

FDA. Dissolution Methods for Drug Products, Disponível em: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/index.cfm>, Acesso em: 09 nov. 2005

FLANNER, H. H.; VESEY, C.F.; LOEHE, J. R.; Dissolution Variables in Statistically Designed Experiments, **Dissolution Technologies**, p. 1-5, ago 2001.

FERRAZ, H.G. **Avaliação biofarmacêutica *in vitro* e *in vivo* (bioequivalência) de comprimidos de ampicilina 500 mg comercializadas no Brasil**. São Paulo, 1997. 135p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

FERREIRA, A. O., BRANDAO M.; **Guia Prático da Farmácia Magistral**. Pharmabooks editora, Juiz de Fora, 2ª ed., p. 21-23, 2002.

HANSON, W.A. **Handbook of dissolution testing**. 2.ed. Springfield: Aster Publishing, 1991. p.27-39, 93-119.

JUNG, J.Y.; YOO, S.D.; LEE, S.H.; KIM, K.H.; YOON, D.S.; LEE, K.H. Enhanced solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.187, n.2, p.209-218, 1999.

KANO, E.E. **Avaliação biofarmacêutica de formulações contendo cefadroxil**: estudos *in vitro* e *in vitro* (bioequivalência). São Paulo, 2002. 233p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

KAPSI, G.S.; AYRES, J.W. Processing factors in development of solid solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.229, p.193-203, 2001.

KHAN, K.A.; RHODES, C.T. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.27, p.48-49, 1975.

KOKS, C.H.W.; MEENHORST, P.L.; BULT, A.; BEIJNEN, J.H. Itraconazole solution: summary of pharmacokinetic features and review of activity in the treatment of fluconazole-resistant oral candidosis in HIV infected persons. **Pharmacological Research**, v.46, p.195-201, 2002.

LACHMAN, L.; HERBERT, A.; LIEBERMAN; KANIG, J.L.; **Teoria e prática na indústria farmacêutica**, 1.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2. cap.12, p.599-649.

MARCHAIS H.; CAYZEELEA, G.; LEGENDREB, J. Y.; ARNAUDA, M. S. P.; Cross-linking of hard gelatin carbamazepine capsules: effect of dissolution conditions on in vitro drug release, **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 19, n. 4, p. 129 -132, 2003.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos**: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. São Paulo, 2003. 114p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

MARQUES, M.R.C.; BROW, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Analytica**, v.1, p.48-51, 2002.

MIZUNO, M.; HIRAKURA, Y.; YAMANE, I.; MIYANISHI, H.; YOKOTA, S.; HATTORI, M.; KAJIYAMA, A. Inhibition of a solid phase reaction among excipients that accelerates drug release from a solid dispersion with aging. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.305, p.37-51, 2005.

MOORE, J.W.; FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v.20, n.6, p.64-74, 1996.

NIKOLIC, L.; DJURIC, Z.; JOVANOVIĆ, M. Influence of *in vitro* test conditions on release of aspirin from commercial tablets. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.81, n.4, p.386-391, 1992.

OFOEFULE, S.I.; UDEOGARANYA, P.O.; OKONTA, J.M. Prediction of *in vivo* bioavailability of six brands of ciprofloxacin film coated tablets using the concept dissolution efficiency (DE). **Bolletino Chimico Farmaceutico**, v.140, n.3, p.187-191, 2001.

O'HARA, T.; DUNNE, A.; BUTLER, J.; DENAVE, J. A review of methods used to compare dissolution profile data. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v.1, n.5, p.214-223, 1998.

OVERHOFF, K. A.; MORENO, A.; MILLER D. A.; JOHNSTON, K. P., WILLIAMS III, R. O.; Solid dispersions of itraconazole and enteric polymers made by ultra-rapid freezing **International Journal of Pharmaceutics**, v.336, p.122-132, 2007.

POLLI, J.E.; REKHI, G.S.; SHAH, V.P. Methods to compare dissolution profiles. **Drug Information Journal**, v.30, p.1113-1120, 1996.

PORTA, V.; YAMAMICHI, E.; STORPIRTIS, S. Avaliação biofarmacêutica *in vitro* de cápsulas de fluconazol. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, n.3, p.333-343, 2002.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.; **Tecnologia Farmacêutica**, 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1991. v. 3, p. 2025 - 2028.

RASENACK, N.; MUELLER, B.W. Dissolution rate enhancement by *in situ* micronization of poorly water-soluble drugs. **Pharmaceutical Research**, v.19, n.12, p.1894-1900, 2002.

ROHRS, B.R. Dissolution method development for poorly soluble compounds. **Dissolution Technologies**, v.8, p.1-5, ago. 2001. Disponível em: [http://www.dissolutiontech.com/DTresour/0801articles/Poorly Soluble Compound s.pdf](http://www.dissolutiontech.com/DTresour/0801articles/Poorly%20Soluble%20Compound%20s.pdf) Acesso em: 25 jul. 2005.

SERRA, C.H.R. **Avaliação biofarmacocinética de comprimidos contendo cefalexina**: cinética de dissolução e bioequivalência. São Paulo, 1998. 206p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

SERRA, C.H.R.; STORPIRTIS, S.; Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.1, p. 79-88, 2007.

SILVA, P., coord. **Farmacologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.1085.

SHAH, V.P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J-P. *In vitro* dissolution profile comparison – statistics and analysis of the similarity factor f2. **Pharmaceutical Research**, v.15, n.6, p.889-896, 1998.

SHIN, S.M.; CHO, S.-J. Kinetics of cephalexin release from eudragit-hydroxypropylcellulose membranes. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.22, n.4, p.299-305, 1996.

SHIVAKUMAR, G.K.; JAMES, W.B. Processing factors in development of solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.229, p.193-203, 2001.

SINSWAT, P.; GAOB, X.; YACAMAN, M.J.; WILLIAMS, R.; JOHNSTON, B. Stabilizer choice for rapid dissolving high potency itraconazole particles formed by evaporative precipitation into aqueous solution. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.302, p.113-124, 2005.

SIX, K.; BERGHMANS, H.; LEUNER, L.; DRESSMAN, J.; WERDE, K.F.; MULLENS, J.; BENOIST, L.; THIMON, M.; MEUBLAT, L.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWST, M.; MOOTER, G.V. Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion: part II. **Pharmaceutical Research**, v.20, n.7, p.1047-1054, 2003.

SIX, K.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.; MOOTER, G.V.D. Increased physical stability and improved dissolution properties of itraconazole, a class II drug, by solid dispersions that combine fast- and slow- dissolving polymers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.93, p.124-131, 2004.

SIX, K.; DAEMS, T.; HOON, J.; VAN HECKEN, A.; DEPRE, M.; BOUCHE, M.P.; PRINSEN, P.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.E.; MOOTER, G.; Clinical study of solid dispersions of itraconazole prepared by hot-stage extrusion. **Pharmaceutical Sciences**, v.24, p.179-186, 2005.

SKOUG, J.W.; SKOUG, J.W.; HALSTEAD, G.W.; THEIS, D.L.; FREEMAN, J.E.; FAGAN, D.T.; ROHRS, B.R. Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de dissolução de formas farmacêuticas sólidas para uso oral. **Pharmaceutical Technology: Edição Brasileira**, v.4, p.34-43, 1997.

STORPIRTIS, S.; RODRIGUES, D. *In vitro* evaluation of dissolution properties and degradation products of omeprazole in enteric-coated pellets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.24, n.11, p.123-129, 1998.

UNITED States Pharmacopeia: USP29.; The National Formulary: NF24. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006.

VERRECK, G.; SIX, K.; MOOTER, G.V.; BAERT, L.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.E. Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion: part I. **International Journal of Pharmaceutics**, v.251, p.165-174, 2003a.

VERRECK, G.; CHUN, I.; PEETERS, J.; ROSENBLATT, J.; BREWSTER, M.E. Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning. **Pharmaceutical Research**, v.20, n.5, p.810-817, 2003b.

VERRECK, G.; DECORTE, A.; HEYMANS, K.; ADRIAENSEN, J.; CLEEREN, D.; JACOBS, A.; LIU, D.; TOMASKO, D.; ARIEN, A.; PEETERS, J.; ROMBAUT, P.; MOOTER, G.V.; BREWSTER, M.E. The effect of pressurized carbon dioxide as a temporary plasticizer and foaming agent on the hot stage extrusion process and extrudate properties of solid dispersions of itraconazole with PVP-VA 64. **Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.26, p.349-358, 2005.

YUKSEL, N.; KANIK, A.E.; BAYKARA, T. Comparison of *in vitro* dissolution profiles by ANOVA - based, model-dependent and-independent methods. **International Journal of Pharmaceutics**, v.209, n.1/2, p.57-67, 2000.

8. ANEXOS

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

3. A sessão de defesa será aberta ao público.

4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 18 de março de 2005.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP