UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA *IN VITRO* E *IN VIVO*
(BIOEQUIVALÊNCIA) DE COMPRIMIDOS DE AMPICILINA
500 mg COMERCIALIZADOS NO BRASIL

HUMBERTO GOMES FERRAZ

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Profa. Dra. Sílvia Storpirtis

São Paulo
1997

HUMBERTO GOMES FERRAZ

AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA *IN VITRO* E *IN VIVO*
(BIOEQUIVALÊNCIA) DE COMPRIMIDOS DE AMPICILINA 500 mg
COMERCIALIZADOS NO BRASIL

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
DOUTOR

COMISSÃO JULGADORA

PROFa. Dra. SÍLVIA STORPIRTIS
PRESIDENTE E ORIENTADOR

PROFa. Dra. MARIA NELLA GAI
1º. EXAMINADOR

PROFa. Dra. MARIA VITÓRIA LOPES BADRA BENTLEY
2º. EXAMINADOR

PROFa. ASSOC. ELZA HELENA GUIMARÃES LARA
3º. EXAMINADOR

PROF. TITULAR SEIZI OGA
4º. EXAMINADOR

SÃO PAULO, 19 DE DEZEMBRO DE 1997

à *HELENA*, minha querida esposa,

cujo apoio e incentivo são, para mim, fundamentais

“We must assure the bioavailability of our drug products to the best of our ability.”

G. LEVY

AGRADECIMENTOS

Muitas são as pessoas a quem devo agradecer, pois de uma maneira ou de outra sempre colaboraram comigo. Porém, gostaria de fazer menção especial àquelas que mais diretamente auxiliaram na realização deste trabalho:

À Profa. Dra. Sílvia Storpirtis, pela orientação e incentivo.

À Profa. Dra. Vladi O. Consiglieri, pelo apoio e divisão das tarefas na parte experimental.

À EMS Indústria Farmacêutica Ltda. pelo auxílio financeiro concedido, sem o qual teria sido impossível a execução deste.

Às estagiárias que prestaram grande auxílio: Andréia, Cristiane, Leticia e Clarislene.

Ao amigo José de Jesus pelo apoio, incentivo e grande amizade sempre demonstrados.

Aos funcionários Sr. Jamil e Dna. Regina pelo apoio prestado quando da realização do ensaio *in vivo*.

À Profa. Dra. Maria Valéria Robles Velasco-de-Paola, pelo auxílio na parte experimental.

Aos voluntários que participaram do ensaio *in vivo* cuja colaboração foi decisiva para o sucesso deste.

Às bibliotecárias Moema, pela revisão das referências bibliográficas e Maria Luiza pela elaboração da ficha catalográfica.

À estatística Ting pelo inestimável apoio no tratamento dos dados.

Às secretárias Bete, Bené e Elaine, pela atenção e incentivo sempre demonstrados.

À todos,

agradeço sinceramente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1. Generalidades.....	6
3.2. Aspectos farmacológicos da ampicilina.....	8
3.3. Avaliação <i>in vitro</i> e caracterização física e físico-química de formas farmacêuticas sólidas	9
3.3.1. Variação de peso	10
3.3.2. Diâmetro e espessura	12
3.3.3. Dureza.....	12
3.3.4. Friabilidade	13
3.3.5. Desagregação.....	13
3.3.6. Dissolução	14
3.4. Dissolução de formas farmacêuticas sólidas : situação brasileira..	23
3.5. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos	25
3.5.1. Definição de termos	25
3.5.2. Excreção urinária como parâmetro para determinação da biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos.....	26

3.5.3. Critérios para aceitação da bioequivalência entre duas formulações	29
3.6. Método espectrofotométrico para análise quantitativa da ampicilina em líquidos biológicos	32
3.7. Biodisponibilidade e bioequivalência de formas farmacêuticas sólidas de ampicilina	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1. Amostras	39
4.2. Análises físicas e físico-químicas	40
4.2.1. Aspecto	40
4.2.2. Variação de peso dos comprimidos	41
4.2.3. Diâmetro, espessura e dureza	41
4.2.4. Friabilidade	42
4.2.5. Tempo de desagregação	42
4.2.6. Perfil de dissolução	42
4.2.7. Teste de dissolução segundo a USP XXIII ed.	47
4.2.8. Teor de ampicilina	47
4.3. Avaliação biofarmacêutica <i>in vivo</i>	49
4.3.1. Seleção dos voluntários	50
4.3.1.1. Critérios de inclusão	50
4.3.1.2. Critérios de exclusão	51
4.3.2. Protocolo do ensaio	51
4.3.3. Coleta das amostras	53

1- INTRODUÇÃO

Até as décadas de 50/60, uma simples análise físico-química que atestasse teor adequado do fármaco era considerada suficiente para que se aprovasse determinado lote de um medicamento. Não havia, ainda, preocupações em relação ao comportamento da forma farmacêutica no organismo, ou seja, o aproveitamento do princípio ativo nela contido estava sendo relacionado, única e exclusivamente, com o organismo do próprio paciente (ABDOU, 1995).

Com o avanço das pesquisas científicas na área que WAGNER (1961) denominou **Biofarmácia** ou **Biofarmacotécnica**, constatou-se que a formulação farmacêutica exerce papel marcadamente importante no complexo sistema que vai desde a administração do fármaco ao organismo até o momento em que este exerce sua ação farmacológica específica (DAVIS, 1972; RITSCHER, 1973).

Tal influência é sobretudo maior quando a forma farmacêutica é do tipo sólida, ou seja: comprimidos, cápsulas, comprimidos revestidos, drágeas, etc. Nestas, é necessário que o fármaco seja liberado, para, só então, estar disponível para a absorção. É justamente durante este processo que podem surgir diferenças significativas entre marcas comerciais distintas (especialidades farmacêuticas), uma vez que estas podem ser elaboradas por processos diferentes e conter excipientes que, embora inertes do ponto de vista farmacológico, podem exercer papel primordial no processo de liberação do princípio ativo (CID, 1981; WESTLAKE, 1988; STAVCHANSKY & MCGINITY, 1990; VERNENGO, 1993; FERRAZ, 1994; STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995).

Assim, a **Farmacotécnica**, que sempre se ocupou com a elaboração de sistemas que veiculassem de modo eficiente um dado princípio ativo, começou a atentar para esse fato, sobretudo, a partir dos trabalhos de WAGNER (1961) e LEVY (1961). As propriedades físico-químicas do fármaco, as características da forma farmacêutica e fatores fisiológicos devem ser considerados quando da formulação e da produção de agentes terapêuticos efetivos e seguros. Estas considerações constituem, exatamente, o objetivo da **Biofarmacotécnica**.

Portanto, não é mais possível a concepção de uma nova formulação de um comprimido, por exemplo, sem que se verifique se o princípio ativo veiculado pelo sistema será adequadamente absorvido. Deste modo, atualmente, observa-se grande preocupação com os parâmetros relacionados à biodisponibilidade e à bioequivalência de medicamentos comercializados como similares. De fato, a “Food and Drug Administration” (FDA-USA) foi responsável pelo estabelecimento de critérios, de modo que, na última revisão da “United States Pharmacopeia” (USP XXIII, 1995), encontra-se capítulo especial dedicado ao tema.

No Brasil, essa questão é crítica tendo em vista o grande número de especialidades farmacêuticas contendo o mesmo princípio ativo, fabricadas por laboratórios farmacêuticos diferentes, de origem nacional e transnacional (DEF, 1997). Sabe-se que poucos grupos de pesquisadores brasileiros dedicam seus trabalhos ao assunto (MUSCARÁ & DE NUCCI, 1991; MENDES *et al.*, 1994) e que o ensaio de bioequivalência não é realizado quando do lançamento de um similar no mercado. A este fato, juntam-se dois outros:

- a) a tentativa de se implantar no país uma política de medicamentos genéricos com o Decreto 793/93 (BRASIL, 1993);
- b) o não reconhecimento, até pouco tempo, de patentes na área farmacêutica.

No primeiro caso, embora extremamente desejável, qualquer política de medicamentos genéricos necessita, para obter êxito, considerar que os produtos cujos princípios ativos sejam idênticos, comercializados como similares, sejam, quando requerido, bioequivalentes. Caso contrário, tem-se o risco de, ao escolher-se uma especialidade de menor custo, não se obter tratamento eficiente, uma vez que esta pode não propiciar a mesma eficácia clínica (HORVITZ, 1975; STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995).

O não reconhecimento de patentes farmacêuticas, fato que aparentemente representa vantagem ao país, possibilita a cópia de determinado produto, cuja patente ainda esteja vigorando, por empresas nacionais. Como consequência, surge, rapidamente, grande número de especialidades farmacêuticas, mesmo para produtos de lançamento recente no mercado.

Completam esse quadro, um sistema de Vigilância Sanitária falho e sem recursos materiais adequados, além de uma legislação ultrapassada e, conseqüentemente, ineficiente. Assim, problemas de formulação incorreta e/ou a utilização de processos impróprios de manufatura, totalmente em desacordo com as Boas Normas de Fabricação e Controle (SINDUSFARM, 1995), tornam o mercado farmacêutico brasileiro

vulnerável ao abastecimento com produtos de qualidade inferior e que, portanto, apresentam risco potencial para quem os utiliza (VERNENGO, 1993).

A ampicilina, antibiótico derivado da penicilina e largamente comercializado no Brasil, é um exemplo típico para ilustrar tais fatos. Embora seja um fármaco cuja patente já se encontra expirada, o número de especialidades farmacêuticas contendo ampicilina é bastante exagerado: 12 sob a forma de comprimidos, 33 de cápsulas, 29 de suspensão oral e 17 sob a forma injetável, oriundos de 45 laboratórios distintos (KOROLKOVAS, 1996). Neste sentido, um estudo em que se verifique a qualidade biofarmacêutica de uma amostragem destes produtos torna-se bastante interessante e, sobretudo, útil para que se possa avaliar a situação atual.

2- OBJETIVOS

O presente trabalho teve como escopo central a avaliação da qualidade biofarmacêutica, tanto *in vitro* como *in vivo*, de especialidades farmacêuticas, sob a forma de comprimidos contendo ampicilina, na dosagem de 500 mg, comercializados no mercado farmacêutico brasileiro. Deste modo, os objetivos foram:

- ① Verificar a conformidade das especialidades farmacêuticas estudadas em relação às especificações contidas em compêndios oficiais;
- ② Comparar o perfil de dissolução (*in vitro*) dos produtos, bem como parâmetros relativos à cinética de dissolução, de modo a caracterizar mais adequadamente a liberação do fármaco a partir de cada um destes;
- ③ Avaliar a bioequivalência entre duas destas especialidades farmacêuticas.

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1) GENERALIDADES

A ampicilina é um antibiótico semi-sintético, derivado da penicilina, que exibe largo espectro de ação. Quimicamente é denominada ácido 6-[(aminofenilacetil)amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] heptano-2-carboxílico, D(-)- α -aminobenzilpenicilina ou ácido 6-[D(-)- α -aminofenilacetamido] penicilânico (Figura 1).

Exerce sua ação antibacteriana por interferência na síntese da parede celular, inibindo a enzima transpeptidase, o que resulta em uma fragilidade da mesma e sua conseqüente ruptura (DOLERY, 1991; DRUG EVALUATIONS, 1991).

Pode ser administrada por via oral, ao contrário de outros derivados da penicilina, uma vez que sua estabilidade em meio ácido é adequada (MUTSCHLER & DERENDORF, 1995). É solúvel em soluções diluídas de ácidos e hidróxidos alcalinos, fracamente solúvel em água e praticamente insolúvel em álcool, acetona, clorofórmio e éter, podendo apresentar-se sob a forma anidra, triidratada ou sódica (AUSTIN *et al.*, 1965; MARTINDALE, 1996; MERCK INDEX, 1996).

Figura 1 : Estrutura química da ampicilina

Seu espectro de ação abrange, além dos microorganismos sensíveis à penicilina, várias outras bactérias Gram-negativas, tais como *E. coli* e *P. mirabilis*. Porém, microorganismos produtores de penicilinase são resistentes à ampicilina (MUTSCHLER & DERENDORF, 1995; MARTINDALE, 1996).

Tendo sido introduzida na terapêutica em 1962, na antiga Alemanha Ocidental, sob a denominação comercial de Binotal® (SITTING, 1988), a ampicilina difundiu-se rapidamente, sendo possível encontrá-la, com grande variedade de marcas comerciais, em diversos países (MARTINDALE, 1996). No Brasil, como citado anteriormente, é também grande o número de especialidades farmacêuticas que contém esse princípio ativo. Sob a forma farmacêutica comprimidos contendo 500 mg são citadas 12 especialidades farmacêuticas (DEF, 1997; KOROLKOVAS, 1996).

3.2) ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DA AMPICILINA

Quando administrada por via oral, a ampicilina é estável no pH ácido do estômago, porém, somente cerca de 35 a 50 % da dose são absorvidos pelo trato gastrointestinal. Sua absorção é prejudicada pela presença de alimentos (KOROLKOVAS, 1995), interação estabelecida por WELLING *et al.* (1977), que observaram redução significativa em indivíduos que receberam alimentação antes da ingestão do fármaco por via oral. Esta observação era válida, também, para a amoxicilina, porém, a interação ampicilina-alimentos era clinicamente mais significativa, tendo em vista sua absorção mais baixa, que resulta em níveis plasmáticos ainda mais reduzidos.

Apesar de pouco absorvido, esse fármaco é extensamente excretado, em sua forma inalterada, pela urina (cerca de 90% da quantidade absorvida). Este fato foi atestado por vários autores (JUSKO & LEWIS, 1973; LOO *et al.*, 1974; JONES, 1977; EHRNEBO, 1979).

A baixa absorção da ampicilina, após administração oral, pode ser atribuída ao seu caráter anfotérico e à sua limitada solubilidade em água (LOO *et al.*, 1974). Tentativas foram feitas para melhorar sua absorção com a introdução de ésteres que são hidrolisados no trato gastrointestinal, liberando a ampicilina bem próximo aos locais de absorção, incrementando-se, desse modo, seus níveis sanguíneos e urinários. Assim, os citados autores constataram que a pivampicilina administrada oralmente produzia níveis séricos bem mais elevados do que o fármaco original, equiparando-se à ampicilina sódica, administrada por via intramuscular. A bacampicilina, segundo ROZENCWEIG (1976), é cinco vezes mais

rapidamente absorvida e produz níveis séricos e urinários até 30% mais elevados. Para a talampicilina é possível obter-se uma quantidade excretada na urina acima de 90%, enquanto que, para a ampicilina esta situa-se na faixa de 40-60% da dose administrada (JONES, 1977).

3.3) AVALIAÇÃO “*IN VITRO*” E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FÍSICO-QUÍMICA DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

As formas farmacêuticas sólidas são elaboradas de modo a possibilitar a administração de fármacos por via oral, tendo em vista as inúmeras vantagens da mesma (BANKER & ANDERSON, 1986). Porém, como mencionado anteriormente, a liberação do princípio ativo contido nestas formas é relativamente complexa. Daí a fundamental importância de uma correta formulação, quando do desenvolvimento de uma preparação desta natureza (BURLINSON, 1971; DAVIS, 1972).

De fato, o preenchimento de requisitos mínimos, por parte da formulação, é indispensável para que se possa deduzir acerca de sua viabilidade como sistema que irá veicular um agente terapêutico. Assim, várias farmacopéias oficializam métodos que são utilizados não somente no controle de qualidade rotineiro, mas também no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, fornecendo resultados valiosos para a seleção de uma formulação viável (FERRAZ, 1993; WHO, 1993).

Além do exposto, é necessário lembrar a recomendação da “Food and Drug Administration” (FDA - USA), expressa no “CODE of federal regulations” (1992), capítulo 21, parte 320, subparte 320.25 (i), que preconiza a realização de ensaios descritos em compêndios oficiais

previamente à execução de estudos de biodisponibilidade e bioequivalência.

Os ensaios mais comuns em formas farmacêuticas sólidas, em especial os comprimidos, são:

3.3.1) VARIAÇÃO DE PESO

A verificação da variação de peso das unidades de determinado lote de um produto farmacêutico é um indicativo importante da homogeneidade e, conseqüentemente, da variação do teor do princípio ativo contido no mesmo. Esta consideração pode ser levada a cabo se o componente em maior quantidade na formulação for exatamente o princípio ativo e quando a distribuição deste pelo pó ou granulado for suficientemente uniforme (SAKR, 1972; GORDON *et al.*, 1990).

São vários os problemas decorrentes do processo de produção de comprimidos que podem conduzir a uma variação de peso inaceitável. Estes podem estar relacionados ao granulado (propriedades de fluxo, tamanho e uniformidade, variação na densidade, etc.) e a problemas mecânicos, que podem surgir durante a compressão (GORDON *et al.*, 1990).

Na tabela 1, são apresentados os limites de variação permitidos na FARMACOPÉIA BRASILEIRA 4a. edição (FB IV, 1988), sendo admitido não mais que duas unidades em desacordo com o estabelecido, porém, nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas.

Tabela 1: Variação de peso de comprimidos segundo a FB IV (1988).

FORMA FARMACÊUTICA	PESO MÉDIO OU VALOR NOMINAL DECLARADO (mg)	LIMITES DE VARIAÇÃO (%)
comprimidos, núcleos para drágeas, comprimidos efervescentes, sublinguais, vaginais e pastilhas	até 80,0	$\pm 10,0$
	entre 80,0 e 250,0	$\pm 7,5$
	acima de 250,0	$\pm 5,0$
drágeas e comprimidos revestidos	até 25,0	$\pm 15,0$
	entre 25,0 e 150,0	$\pm 10,0$
	entre 150,0 e 300,0	$\pm 7,5$
	acima de 300,0	$\pm 5,0$

A Farmacopéia britânica (BP, 1993) determina os mesmos parâmetros de variação de peso para comprimidos, porém não existe, como na FB IV (1988), uma distinção entre revestidos e não revestidos.

Porém, na Farmacopéia americana 23a. edição (USP XXIII, 1995) os critérios para cálculo da variação de peso são baseados no teor do fármaco em cada unidade (total de dez) e no desvio padrão relativo (DPR). Segundo este compêndio, o conteúdo individual deve estar entre 85 e 115 % do valor rotulado e o DPR menor ou igual a 6 %. Se uma unidade estiver fora desta faixa ou se o DPR for superior a 6 % ou se ambas as condições existirem, é necessário testar mais 20 unidades. Neste caso, não mais que uma, do total de 30, pode estar fora da faixa de 75 a 125 % e o DPR não deve exceder 7,8 %.

3.3.2) DIÂMETRO E ESPESSURA

Este ensaio não se encontra oficializado nas farmacopéias americana (USP XXIII, 1995), britânica (BP, 1993) e brasileira (FB IV, 1988), porém é prática comum adotá-lo na avaliação de comprimidos. Em geral, a variação encontrada é muito pequena, sobretudo no caso do diâmetro, uma vez que este é condicionado pela matriz que origina o comprimido (SAKR, 1972; FERRAZ, 1993).

3.3.3) DUREZA

Toda forma farmacêutica deve apresentar resistência mecânica adequada, tendo em vista as operações de embalagem, transporte e manuseio. No caso da forma farmacêutica comprimido, esta resistência é dada pela dureza ou capacidade do comprimido de opor-se à ruptura. A determinação deste parâmetro é importante, tendo em vista sua possível relação com a desagregação e, conseqüentemente, com a dissolução do princípio ativo (HIGUCHI *et al.*, 1953; GORDON *et al.*, 1990).

A dureza de um comprimido é, em geral, resultante de uma série de fatores, ligados, principalmente, à tecnologia empregada na produção desta forma farmacêutica e aos parâmetros relacionados com a formulação (GORDON *et al.*, 1990; FERRAZ, 1993).

O ensaio de dureza de comprimidos está oficializado na farmacopéia brasileira (FB IV, 1988), para determinação da resistência mecânica em comprimidos, porém, a USP XXIII (1995) e BP (1993) não fazem qualquer

menção a este teste. Segundo a FB IV (1988) um comprimido deve apresentar dureza mínima de 30 N.

3.3.4) FRIABILIDADE

A friabilidade de um comprimido está relacionada com a resistência deste à abrasão, oriunda de processos de embalagem, do transporte e manuseio do medicamento (BURLINSON, 1971). Em geral, este parâmetro está associado à dureza do comprimido. Obtendo-se uma dureza elevada, a friabilidade será reduzida e vice-versa (SAKR, 1972), embora esta relação nem sempre seja válida, como demonstraram SEITZ & FLESSLAND (1965).

A determinação da friabilidade descrita na FB IV (1988), estabelece que a porcentagem de pó perdido deve ser inferior à 1,5 % do peso dos comprimidos. Na USP XXIII (1995) o limite estabelecido é de não mais que 1,0 %.

3.3.5) DESAGREGAÇÃO

Este ensaio, correntemente denominado de desintegração, está oficializado em várias farmacopéias (USP XXIII, 1995; BP, 1993; FB IV, 1988). Sua importância perdeu espaço, na medida em que o ensaio de dissolução foi sendo adotado ao longo dos anos. De fato, nem sempre é possível estabelecer uma correlação direta entre a desagregação e a dissolução do fármaco (BURLINSON, 1971; ABDON, 1995). LEVY, em 1961, fez esta observação ao comparar a absorção do ácido acetilsalicílico com a dissolução e a desintegração de comprimidos contendo o fármaco.

Porém, a desintegração, etapa fundamental para que ocorra a liberação do princípio ativo contido na forma farmacêutica (NAJIB & JALAL, 1988) é, ainda, de grande valia, uma vez que se trata de método de execução relativamente simples e menos dispendioso, podendo auxiliar o formulador na seleção das formulações mais adequadas e na verificação da uniformidade de um determinado lote de comprimidos (GORDON *et al.*, 1990, FERRAZ, 1993).

Os fatores que podem influenciar a desagregação de comprimidos são inúmeros (WAGNER, 1969; GORDON *et al.*, 1990), geralmente relacionados com a formulação e tecnologia de fabricação (SAKR *et al.*, 1972; FERRAZ, 1993).

Para o ensaio de desagregação dos comprimidos é estipulado na FB IV (1988), um tempo máximo de 30 minutos. Na USP XXIII (1995), o teste de desagregação é preconizado apenas para alguns fármacos, notadamente aqueles nos quais o ensaio de dissolução não é executado. Na BP (1993), o ensaio é descrito, porém, não são fixados critérios gerais para a interpretação dos resultados obtidos, a não ser para algumas preparações específicas.

3.3.6) DISSOLUÇÃO

Dentre os ensaios físico-químicos que se aplicam às formas farmacêuticas sólidas, a dissolução é, sem dúvida, o de maior importância na avaliação da capacidade da forma farmacêutica liberar seu princípio ativo (DAVIS, 1972; ABDOL, 1995).

De fato, um fármaco somente pode ser absorvido quando se encontra dissolvido nos líquidos do trato gastrintestinal. Então, a extensão da absorção depende da velocidade com que o processo de dissolução ocorre, estabelecendo-se, deste modo, uma relação direta entre a dissolução e a eficácia clínica do produto farmacêutico, embora, somente um estudo de correlação entre dados *in vitro* e *in vivo* (biodisponibilidade) pode, com segurança, comprovar tal fato (DAVIS, 1972; CARSTENSEN, 1977; HANSON, 1991; ABDON, 1995). CABANA (1976) cita que a causa mais freqüente dos casos de bioinequivalência, registrados pela FDA, deviam-se à baixa dissolução dos produtos.

COX *et al.* (1979) referem-se ao teste de dissolução como um ensaio que, aplicado às formas farmacêuticas sólidas, é capaz de avaliar a quantidade dissolvida do fármaco, em um volume conhecido de meio, a um tempo pré-determinado, utilizando-se um equipamento (aparato) específico, controlando-se, cuidadosamente, todos os parâmetros envolvidos.

O ensaio de dissolução foi inicialmente introduzido na USP XVIII (1970), onde eram descritas as especificações para apenas sete produtos, todos sob a forma de comprimidos. Com a evolução implementada ao longo destes anos, o ensaio se difundiu bastante, chegando a 532 monografias na última edição da Farmacopéia americana (USP XXIII, 1995). Em geral, nestas monografias se estabelece um mínimo aceitável para a quantidade de fármaco dissolvida após certo intervalo de tempo, o que torna esse ensaio uma ferramenta útil na avaliação rotineira de formas farmacêuticas sólidas. O “critério de aceitação” preconizado pela referida Farmacopéia encontra-se descrito na tabela 2 .

Tabela 2: Critério de aceitação para o teste de dissolução, segundo recomendações da USP XXIII (1995).

ESTÁGIO	Nº DE AMOSTRAS	CRITÉRIO
S1	6	Cada unidade: não menos que $Q + 5\%$
S2	6	O total de 12 unidades ($S1 + S2$) é igual ou maior que Q e nenhuma unidade é menor que $Q - 15\%$
S3	12	O total de 24 unidades ($S1 + S2 + S3$) é igual ou maior que Q , não mais que 2 unidades são menores que $Q - 15\%$ e nenhuma unidade é menor que $Q - 25\%$

Q= porcentagem de fármaco dissolvido indicada em cada monografia

Porém, um ensaio em que se determine apenas um ponto, ou seja, um valor de porcentagem de fármaco dissolvido, embora útil em termos de avaliação quantitativa, pode não significar uma avaliação real do processo de dissolução. GORDON *et al.* (1990), citam o exemplo da hidroclorotiazida. Neste caso, a USP XXIII (1995), especifica que após 30 minutos, 60% do fármaco devem dissolver-se. É possível, então, ocorrer que os 40% restantes sejam dissolvidos muito lentamente, o que constituiria um risco para a biodisponibilidade do fármaco, como concluem estes autores.

Outro aspecto importante a se considerar é a possibilidade de calcular-se, com a obtenção do perfil de dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica, parâmetros relativos à cinética do processo. O ensaio de dissolução pode, se dessa forma executado, auxiliar na identificação de

formulações que apresentem risco potencial para a biodisponibilidade do fármaco (WHO, 1993; SHAH *et al.*, 1995), além de servir como ferramenta útil no desenvolvimento de formulações, na medida em que é possível selecionar aquelas de melhor desempenho no que diz respeito à liberação do fármaco (TINGSTAD, 1978; ABDOL, 1995).

A determinação da quantidade de fármaco dissolvido em vários intervalos de tempo diferentes, possibilita a obtenção de dados importantes, tais como a velocidade de dissolução, a quantidade máxima dissolvida e pontos nos quais podem ocorrer mudanças significativas no processo (COX *et al.*, 1979).

Assim, vários autores têm empregado esse recurso para realizar estudos mais detalhados sobre a dissolução de fármacos. Em geral, nesses trabalhos, são comparados vários parâmetros de cinética de dissolução, tais como eficiência de dissolução (ED), meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$), constante de velocidade de dissolução (K), após a eleição do modelo cinético mais adequado.

O tabela 3 apresenta os vários tipos de tratamentos cinéticos aplicáveis à linearização de curvas de dissolução.

Tabela 3: Tratamentos cinéticos aplicáveis à linearização de curvas de dissolução.

MODELO CINÉTICO	EQUAÇÃO	MECANISMO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
zero ordem	$Q = Q_0 - K_0 t$	a velocidade do processo de dissolução é independente da quantidade de fármaco presente na forma farmacêutica	JALAL <i>et al.</i> (1989)
primeira ordem	$\ln Q = \ln Q_0 - K_1 t$	por difusão através do núcleo	JALAL <i>et al.</i> (1989)
Higuchi	$Q = K t$	por difusão através da matriz	HIGUCHI (1963) JALAL <i>et al.</i> (1989)
Hixson-Crowel	$Q = Q_0 - K_2 t$	a dissolução processa-se independentemente do pH, do meio e da metodologia empregada	JALAL <i>et al.</i> (1989)

Q = quantidade dissolvida; Q_0 = quantidade inicial do fármaco; K_0 , K_1 , K e K_2 = constantes de velocidade de dissolução; t = tempo

GAIZER *et al.* (1987) estudaram a cinética de dissolução de comprimidos de aspartato de potássio em matrizes à base de cloreto de polivinila. Os autores aplicaram os modelos de zero ordem, primeira ordem e Higuchi, sendo que, das três formulações testadas, duas seguiram o modelo proposto por Higuchi e uma o modelo de zero ordem.

Avaliando produtos comerciais contendo teofilina sob a forma de cápsulas ou comprimidos de ação prolongada, JALAL *et al.* (1989) compararam dados de cinética de dissolução empregando, para linearização das curvas, os modelos de zero ordem, primeira ordem, Higuchi e Hixson-Crowell. Os autores selecionaram os modelos cinéticos mais adequados mediante comparação dos respectivos valores de coeficiente de correlação (r) e concluíram que existiam diferenças significativas na velocidade de dissolução dos produtos testados.

BHANJA & PAL (1989) aplicaram os modelos de zero ordem, primeira ordem e de Higuchi para avaliar a cinética de dissolução de microcápsulas de sulfato de salbutamol revestidas com Eudragit® RS 100. Através da comparação dos respectivos coeficientes de correlação obtidos para cada modelo, concluíram os autores que o modelo de Higuchi era o mais adequado para todas as microcápsulas por eles elaboradas.

Comparando diferentes formulações de cloridrato de papaverina obtidas por "spray-dried" e utilizando ftalatos de celulose, SENJKOVIC *et al.* (1990) aplicaram o modelo de Higuchi para a linearização das curvas de dissolução. Assim, foi possível classificar as preparações obtidas após o cálculo dos parâmetros cinéticos correspondentes e apontar as mais adequadas para uma liberação controlada do fármaco.

LÓPEZ *et al.* (1991a) avaliaram a cinética de dissolução de formulações de ampicilina sob as formas de cápsulas e comprimidos, calculando parâmetros tais como a velocidade e a ordem do processo de dissolução. Os resultados por eles obtidos indicaram que os produtos apresentaram processo de liberação do fármaco de primeira ordem e que, estatisticamente, as velocidades de dissolução dos mesmos mostraram diferenças significativas. Além disso, concluíram que a ampicilina, sob a forma de comprimidos, era liberada mais rapidamente se comparada à liberação a partir das cápsulas.

Comprimidos de aspirina, sob três denominações comerciais, foram avaliados por NIKOLIC *et al.* (1992) utilizando três modelos cinéticos distintos (primeira ordem, Hixson-Crowell e modelo de Higuchi). Testando os produtos sob várias condições experimentais de pH, velocidade de agitação, volume de meio e temperatura, os autores concluíram que o pH e a velocidade de agitação eram os fatores de maior influência sobre a dissolução. O modelo cinético mais adequado para a maioria dos casos foi o de Hixson-Crowell (modelo da raiz cúbica).

GORACINOVA *et al.* (1995) compararam a dissolução de dispersões sólidas (coprecipitados) de cloridrato de verapamil elaborados com polímeros diferentes. Os autores empregaram três tratamentos cinéticos distintos: modelo de Higuchi, modelo da raiz cúbica e cinética de primeira ordem, concluindo que o modelo proposto por Higuchi adequava-se melhor para aquelas formulações.

AMPERIADOU & GEORGARAKIS (1995), investigaram, dentre outros itens, a liberação do sulfato de salbutamol a partir de microcápsulas

por eles obtidas utilizando condições de preparo diferentes. Os melhores valores de coeficiente de correlação foram obtidos para o modelo de primeira ordem e, em alguns casos para o modelo de Higuchi.

Mudanças nos perfis de dissolução de comprimidos de teofilina obtidos por compressão direta, após armazenagem sob diferentes condições de umidade, foram relatadas por ADEYEYE *et al.* (1995). Logo após a produção e quando armazenados em valores de umidade relativa iguais a 52 %, os comprimidos não se adequaram ao modelo de Higuchi. Entretanto, armazenados em ambiente com umidade relativa maior que 52%, as formulações passaram a liberar o fármaco de modo que os coeficientes de correlação obtidos a partir da linearização das curvas de dissolução pelo modelo de Higuchi apresentaram-se mais adequados.

GONZÁLEZ *et al.* (1995b) compararam a dissolução de formulações de cloridrato de propanolol existentes na Argentina e por eles elaborados utilizando vários parâmetros de cinética de dissolução. A maioria dos produtos farmacêuticos testados seguiu um processo de primeira ordem, com exceção de duas formulações que apresentaram uma cinética de zero ordem. Os autores compararam, ainda, o parâmetro eficiência de dissolução pelo método da mínima diferença significativa (MDS) e concluíram que vários dos produtos apresentavam um perfil de dissolução com diferenças estatisticamente significantes. Os mesmos autores (GONZÁLEZ *et al.*, 1995a) trabalharam de forma idêntica com formulações de ampicilina. Neste caso, verificaram, também, diferenças significativas nos vários perfis de dissolução obtidos e que, para os comprimidos de ampicilina por eles obtidos, os mais adequados eram

aqueles elaborados por via seca ou compressão direta, utilizando-se como excipiente AVICEL[®] e AEROSIL[®].

Para avaliar microcápsulas de cefradina (sob a forma de comprimidos e pó que não sofreu processo de compressão), TUNCEL et al. (1996) aplicaram os modelos cinéticos de zero e primeira ordem e o modelo de Higuchi às respectivas curvas de dissolução, concluindo que o modelo de Higuchi era capaz de descrever mais adequadamente o processo de liberação do fármaco em ambos os casos.

AMMAR & KHALIL (1996) realizaram um estudo a partir de três produtos contendo rifampicina, analisando-se a dissolução de seis lotes diferentes de cada. Empregando o parâmetro eficiência de dissolução (ED), os autores utilizaram três métodos de dissolução: método da cesta (USP), método do béquer e de fluxo, avaliando qual deles era capaz de se correlacionar melhor com os valores por eles obtidos *in vivo*. Os resultados indicaram que o método da cesta preconizado pela Farmacopéia americana era o que melhor descrevia as diferenças entre os produtos e, também, o que melhor se correlacionava com parâmetros obtidos *in vivo*.

Em outro trabalho, AMMAR et al. (1997) também basearam-se na ED, utilizando os mesmos métodos de dissolução para comparar diferentes produtos comerciais contendo ácido acetilsalicílico. Neste caso, os autores analisaram três lotes de cada fabricante com a finalidade de verificar qual método era capaz de melhor identificar as diferenças entre as formulações testadas e qual destes se correlacionava melhor com dados obtidos *in vivo*. O método da cesta, preconizado pela Farmacopéia americana, julgaram os

autores, era o que melhor diferenciava as formulações, porém, a melhor correlação foi obtida com o método do béquer.

3.4) DISSOLUÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS: SITUAÇÃO BRASILEIRA

No Brasil, diversos trabalhos têm apontado problemas em relação à dissolução de formas farmacêuticas sólidas. Assim, SANTORO *et al.* (1991), avaliando comprimidos de hidroclorotiazida e de cloridrato de propranolol distribuídos pela Central de Medicamentos (CEME), concluíram que, destes, 29 e 50%, respectivamente, não obedeciam às especificações da Farmacopéia americana.

Em estudo *in vitro* de 5 especialidades farmacêuticas contendo 100 mg de aminofilina, STORPIRTIS *et al.* (1995) verificaram que destes, um não estava de acordo com o especificado pela Farmacopéia americana para o teste de dissolução e que, em relação ao perfil de dissolução, estes medicamentos apresentavam-se bastante diferenciados.

Perfis de dissolução distintos foram também obtidos por SERRA *et al.* (1995), ao avaliarem comprimidos de nimodipina comercializados no Brasil. Neste caso, os autores encontraram dentre os produtos, um que praticamente não liberou o fármaco nas condições empregadas.

Comparando duas marcas comerciais contendo teofilina para liberação prolongada, VELASCO-DE-PAOLA *et al.* (1995) verificaram que o produto por eles designado como B, liberava o fármaco mais rapidamente, comportamento este, inadequado, em se tratando de uma forma

farmacêutica de lenta liberação. Resultados similares foram obtidos por YUGUE et al. (1996) ao compararem a dissolução do diltiazem a partir de formas farmacêuticas de ação prolongada e por FERRAZ et al. (1997) comparando lotes diferentes de dois produtos contendo cloreto de potássio. Especificamente para este fármaco, a liberação deve ser lenta, uma vez que altas concentrações do mesmo, em nível do estômago, pode causar reações indesejáveis. Porém, para um dos produtos, valores elevados de porcentagem de fármaco dissolvido foram relatados.

Estudando a dissolução de produtos contendo piroxicam e o fármaco complexado com β -ciclodextrina, DEL COMUNE et al. (1996) verificaram que destes, 78% foram reprovados no teste de dissolução e que seus perfis de dissolução eram bastante distintos, com destaque para o produto com o complexo, que apresentou os melhores resultados.

Para comprimidos de cimetidina, FERRAZ et al. (1997) encontraram, dentre oito marcas comerciais, uma na qual a dissolução, segundo as recomendações da Farmacopéia americana, foi praticamente nula.

Produtos com liberação deficiente do fármaco foram observados por FERRAZ et al. (1997) ao pesquisarem a dissolução de especialidades farmacêuticas contendo diclofenaco sob a forma de sal potássico. Para o diclofenaco sódico, que apresenta proteção à mucosa do estômago, foi relatado que dos três produtos estudados, dois mostraram perfis de dissolução inadequados em meio entérico artificial (FERRAZ et al., 1997).

Em todos esses casos, evidencia-se que problemas de formulação e/ou tecnologia empregada no preparo de formas farmacêuticas sólidas de liberação convencional ou controlada são relativamente comuns no país.

3.5) BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS

3.5.1) DEFINIÇÃO DE TERMOS

Várias publicações têm apresentado a descrição de conceitos fundamentais na área de biodisponibilidade de medicamentos (WHO, 1993; CID, 1982; CODE of federal regulations, 1992; STORPIRTIS, 1994). A seguir serão definidos os termos mais comumente utilizados:

- **BIOFARMÁCIA OU BIOFARMACOTÉCNICA**

Estudo dos fatores físicos e físico-químicos relativos ao fármaco, em sua forma farmacêutica, e sua relação com o efeito farmacológico desencadeado no organismo.

- **BIODISPONIBILIDADE**

É a velocidade e a extensão pelas quais um fármaco é absorvido, a partir da forma farmacêutica que o veicula, sendo, em geral, determinadas através de dados de concentração no sangue ou excreção urinária.

- **BIOEQUIVALÊNCIA**

A bioequivalência entre duas especialidades farmacêuticas é obtida pela comparação dos dados de biodisponibilidade. Administradas na mesma dose molar, sob as mesmas condições experimentais, a diferença entre os parâmetros relativos à absorção não deve ser significativa.

- **EQUIVALENTES FARMACÊUTICOS**

São produtos farmacêuticos que contém o mesmo fármaco, sob idêntica forma de sal ou éster e idêntica forma farmacêutica e dosagem. Entretanto, os excipientes utilizados não são, necessariamente, os mesmos. Ambos produtos devem satisfazer aos ensaios farmacopéicos indicados.

- **ALTERNATIVAS FARMACÊUTICAS**

São produtos farmacêuticos que contém o mesmo fármaco, mas não necessariamente o mesmo sal ou éster, a mesma quantidade e idêntica forma farmacêutica e dosagem. Porém, devem satisfazer os ensaios farmacopéicos indicados.

- **PRODUTOS FARMACÊUTICOS INTERCAMBIÁVEIS**

São produtos farmacêuticos para os quais a substituição entre si é viável, tendo como base a comprovação de sua bioequivalência.

3.5.2) EXCREÇÃO URINÁRIA COMO PARÂMETRO PARA DETERMINAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS

Nos casos em que a via de eliminação principal do fármaco no organismo é a via renal, na forma inalterada (não metabolizada), é possível avaliar sua biodisponibilidade, ou ainda comparar a bioequivalência entre duas formulações que o contém, utilizando-se dados de excreção urinária (SMITH & YAKATAN, 1979; CID, 1982).

Considerando-se, então, que praticamente todo o fármaco absorvido pelo organismo será recuperado na urina e que a velocidade pela qual este surgirá como inalterado é proporcional à sua quantidade no organismo, obtêm-se dois parâmetros importantes: a quantidade total de fármaco excretado e a velocidade do processo.

CID (1982) cita três requisitos necessários para que se utilize dados de excreção urinária em estudos farmacocinéticos:

- ✓ o fármaco deve ser excretado pelos rins, pelo menos ao redor de 10%, sob forma não metabolizada;

- ✓ a urina deve ser coletada durante todo o tempo de duração do experimento, sem a perda de nenhuma fração;

- ✓ a coleta da urina deve realizar-se até que se elimine completamente o fármaco não metabolizado (pelo menos 7 meias-vidas do fármaco, tempo em que 99,2% da dose administrada tenha sido eliminada).

Além destes, RITSCHER (1992) enumera, também, alguns outros itens que devem ser obedecidos para tornar válido um estudo farmacocinético, com base em dados de excreção urinária, após administração de dose única do fármaco:

- ✓ a ingestão de água durante o ensaio deve ser adequada para possibilitar uma diurese constante e, assim, tornar possível a obtenção de amostras de urina em quantidade suficiente para determinação do fármaco;

- ✓ imediatamente antes da administração do medicamento em estudo, deve-se coletar urina a fim de garantir completo esvaziamento da bexiga do voluntário participante do ensaio;

- ✓ a cada tomada de amostra, nos tempos preestabelecidos, deve-se garantir o completo esvaziamento da bexiga. Deste modo, impede-se que uma certa quantidade do fármaco presente naquele instante seja considerado como parte de outro período de tempo;

- ✓ para cada amostra de urina coletada deve-se anotar o volume exato obtido;

- ✓ caso a amostra de urina não for imediatamente analisada, uma alíquota deve ser retirada, estabilizada com tolueno e imediatamente congelada para posterior análise;

Alguns aspectos da utilização de dados de excreção urinária em estudos de bioequivalência são bastante interessantes, como por exemplo a concentração do fármaco que se atinge na urina, consideravelmente maior do que a obtida no sangue, fato que facilita sua quantificação. Outra vantagem é o fato de que, não sendo necessária a múltipla retirada de sangue do voluntário, o ensaio torna-se menos traumático para o grupo de pessoas que dele participam. Por outro lado, existe uma maior dificuldade em estabelecer diferenças com relação à velocidade de absorção em um estudo de bioequivalência, em função da impossibilidade de se obter um maior número de amostras de urina durante a fase de absorção do fármaco (SMITH & YAKATAN, 1979).

Em estudos de excreção urinária para a determinação da biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos, os seguintes parâmetros farmacocinéticos podem ser avaliados (RITCHEL, 1992; RUBIO, 1993; SHARGEL & YU, 1993; FAGIOLINO, 1994):

- A quantidade total de fármaco excretado na urina (D_u^∞);
- A velocidade de excreção de fármaco na urina (dD_u/dt).

No caso específico da ampicilina, tem-se uma recuperação na urina de aproximadamente 90% da dose absorvida, o que permite, então, a utilização do parâmetro quantidade total de fármaco excretado como indicativo da absorção do mesmo e seu conseqüente emprego na avaliação da biodisponibilidade (JUSKO *et al.*, 1975).

Dados de excreção urinária foram recentemente utilizados por VERGIN *et al.* (1995) para avaliação da bioequivalência de diferentes formulações de aciclovir.

3.5.3) CRITÉRIOS PARA ACEITAÇÃO DA BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS FORMULAÇÕES

As questões que envolvem a bioequivalência entre formulações têm despertado maior atenção desde a década passada, porém, as recomendações acerca do tema, por parte de diversos órgãos (FDA, “Nordic Council of Medicines”, entre outros), estão longe de serem

consensuais (PABST & JAEGER, 1990; STEINIJANS *et al.*, 1992; BLUME & MIDHA, 1995).

Um passo importante nesta questão foi dado por WESTLAKE (1972), que recomendou a introdução do intervalo de confiança (IC) como método estatístico para avaliação da bioequivalência. A partir de então, muito se discutiu sobre este assunto e a proposta do autor foi destacando-se, até que HAUCK & ANDERSON (1984) consideraram o teste de hipóteses insuficiente para uma indicação mais segura acerca da bioequivalência entre duas formulações.

Durante as discussões por ocasião da “Bio International’89” (McGILVERAY *et al.*, 1990), o IC foi recomendado como critério de aceitação e a FDA passou, então, a adotá-lo oficialmente para decisão acerca da bioequivalência, em conjunto com o cálculo do nível estatístico de significância (IN VIVO..., 1993).

Segundo a agência norte-americana, a faixa de aceitação situa-se entre 80 a 120%, para um IC de 90%, calculado com base na razão dos valores obtidos para determinado parâmetro farmacocinético de cada voluntário do estudo.

Outro ponto que até pouco tempo ainda gerava dúvidas (McGILVERAY, 1990) é a transformação logarítmica dos valores para posterior tratamento estatístico. A FDA recomenda esta transformação e, neste caso, a faixa de aceitação desloca-se para 80 a 125%, isto porque, como resultado, seria obtida uma probabilidade máxima de conclusão da bioequivalência de aproximadamente 0,98. Com o deslocamento esse

valor ajusta-se a 1,0, no caso de produtos exatamente iguais (IN VIVO..., 1993).

Nos últimos anos, outras questões têm preocupado os especialistas em bioequivalência, sobretudo em relação aos fármacos com alta variabilidade individual nos parâmetros da absorção. A “Bio International’89” já havia identificado casos em que ocorria variabilidade intra-individual maior que 30%, avaliada a partir do coeficiente de variação residual (McGILVERAY et al., 1990). Na reunião seguinte, a “Bio International’92”, o assunto voltou à pauta e discutiu-se, entre outras questões, a possibilidade de alterar o IC nesses casos ou expandi-lo, baseando-se em considerações farmacodinâmicas inerentes à cada fármaco (BLUME & MIDHA, 1993). Durante as discussões da edição de 1994 do evento, McGILVERAY, exemplificou a influência da variabilidade dos resultados na decisão sobre a bioequivalência. Segundo o mesmo, a probabilidade de existir a bioequivalência entre duas formulações é de 100%, quando o coeficiente de variação da análise de variância (CV_{ANOVA}) é de 15%. Se o CV_{ANOVA} for maior ou igual 30 % essa probabilidade reduz-se para 45% ou menos.

MIDHA et al. (1995) comprovaram a necessidade de mudança nos critérios de aceitação para fármacos com $CV_{ANOVA} > 30\%$, ao avaliarem a bioequivalência entre duas formulações de nortriptilina. Trabalhando com o fármaco e alguns de seus metabólitos, foi verificado que nos casos em que se obteve um $CV_{ANOVA} > 30\%$ (o que ocorreu com um dos metabólitos, em dois dos três parâmetros farmacocinéticos estudados), o IC apresentou-se fora da faixa de aceitação em um dos “lados”. Porém,

em todas as outras situações obtiveram-se valores que mostraram, nitidamente, que as formulações testadas eram bioequivalentes.

3.6) MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA ANÁLISE QUANTITATIVA DA AMPICILINA EM LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

Para a execução de um ensaio de bioequivalência é necessário dispor de método de análise adequado, considerando-se o material biológico utilizado no ensaio (sangue, plasma, urina, etc) e a sua viabilidade, dado o grande número de amostras a serem quantificadas (LESLIE, 1994; SMITH & YAKATAN, 1979). Assim, é possível encontrar na literatura vários métodos utilizados para análise de ampicilina em líquidos biológicos, tais como cromatografia líquida - HPLC - (HAGINAKA & WAKAI, 1985; HAGINAKA & WAKAI, 1987), fluorimetria (PLAVSIC *et al.*, 1989) e microbiológico (DUGAL *et al.*, 1974; HILL *et al.*, 1974; WHYATT *et al.*, 1976).

Dentre esses métodos, o emprego da espectrofotometria no ultravioleta (UV), proposto inicialmente por SMITH *et al.* (1967) e adaptado à análise de líquidos biológicos por ANGELUCCI e BALDIERI (1971), merece destaque.

A possibilidade de analisar espectrofotometricamente os derivados semi-sintéticos da penicilina teve início com HERRIOTT (1946), que propôs um método que permitia, após reação química em pH 4,6, transformar a penicilina em um composto cuja absorção no UV (322 nm) era adequada. STOCK (1954), verificou que o composto formado a partir da reação era o ácido penicilânico e que resultados mais reprodutíveis

eram obtidos com a presença de sais de cobre em solução tampão de pH 4,6. HOLBROOK (1958), aplicou o método para determinar sais de penicilina em formas farmacêuticas (pomadas, injetáveis e suspensões orais). WEAVER & RESCHKE (1963) aplicaram o mesmo à análise da meticilina, um derivado semi-sintético da penicilina e já apontavam as vantagens do método: simplicidade, rapidez, sensibilidade e aplicabilidade à análise de grande número de amostras.

Então, SMITH *et al.* (1967), adaptaram esse método para analisar ampicilina, realizando estudo bastante aprofundado em relação às variáveis que podem comprometer os resultados (tabela 4).

Tabela 4: Condições ideais para análise espectrofotométrica da ampicilina segundo SMITH *et al.* (1967).

VARIÁVEL	CONDIÇÃO IDEAL
tempo de aquecimento	30 minutos
pH	5,2
concentração de íons cobre	15 µg/mL
temperatura	75 °C

Com base no trabalho de SMITH *et al.* (1967), ANGELUCCI & BALDIERI (1971) realizaram a determinação de ampicilina em líquidos biológicos (plasma, bile e urina). VILA JATO *et al.* (1973) empregaram o método para quantificar a ampicilina em um estudo para obtenção de dados de excreção urinária do fármaco. A análise espectrofotométrica foi, então, utilizada por vários autores em trabalhos que envolviam a

biodisponibilidade e bioequivalência de formulações contendo ampicilina (ALI, 1981; ALI *et al.*, 1981; KHALIL *et al.*, 1984; OGUNBONA & AKANNI, 1985; LÓPEZ *et al.*, 1991).

O método foi, ainda, correlacionado com o ensaio microbiológico em um estudo de bioequivalência entre duas formulações de ampicilina (ALI *et al.*, 1981).

3.7) BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS DE AMPICILINA

Em 1973, um Comitê designado pela “Academy of General Practice of Pharmacy” e pela “Academy of Pharmaceutical Sciences” dos EUA publicou uma lista de fármacos classificados como de alto risco, moderado ou baixo risco em relação à problemas de biodisponibilidade, na qual a ampicilina figurava como fármaco de risco moderado (REPORT ..., 1973). Tal conclusão parece ter sido originada após a publicação, por McLEOD *et al.* (1972), de trabalho demonstrando que algumas especialidades farmacêuticas contendo ampicilina comercializadas no Canadá eram bioinequivalentes. Neste trabalho, os pesquisadores estudaram três lotes de cápsulas de ampicilina triidratada (250 mg), de um mesmo fabricante, além de duas outras especialidades farmacêuticas. Concluíram que não havia diferença significativa quando eram comparados os três lotes do mesmo fabricante. Porém, diferenças significativas foram registradas quando os dois outros produtos eram comparados a um desses lotes. A partir de então, várias pesquisas foram publicadas sobre o assunto e as conclusões foram as mais variadas.

Algumas dessas publicações, não obstante, foram bastante críticas com relação ao trabalho de McLEOD e seus colaboradores. RITSCHER (1972) questionou, sob o ponto de vista da farmacocinética, alguns dos aspectos da pesquisa. BARR *et al.* (1972) discutiram, entre outros pontos, o fato de que aquele estudo havia sido executado em parte e financiado por uma indústria farmacêutica, interessada nos resultados e que, em editorial no mesmo periódico, os autores desaconselhavam a substituição de medicamentos em função dos resultados por eles obtidos. De forma veemente, KLASS (1972) também questionou a ligação entre os autores do trabalho e a indústria farmacêutica.

Já no ano seguinte era publicado novo trabalho sobre a bioequivalência de formulações contendo ampicilina, também sob a forma de cápsulas. MAYERSOHN *et al.* (1973), na verdade, refizeram o estudo anterior testando dois dos produtos que foram considerados inequivalentes, além de um terceiro. Baseando-se na área sob a curva da concentração plasmática do fármaco, concluíram que não existiam diferenças significativas entre as amostras, considerando-os, portanto, bioequivalentes. Entretanto, os autores revelaram que um dos produtos que apresentou melhora considerável em seu desempenho havia recebido modificações em sua formulação original, com a adição de um desagregante e discutiram, a partir destes resultados, a importância da formulação na eficácia da forma farmacêutica. Os pesquisadores verificaram, ainda, a grande variabilidade intra-individual da ampicilina quando ministraram para os mesmos voluntários, o mesmo produto, do mesmo lote, em ocasiões diferentes e constataram grande desigualdade entre os resultados.

DUGAL *et al.* (1974) compararam duas formulações de cápsulas de ampicilina (250 mg) com um produto já existente no mercado canadense, realizando, também, o teste de dissolução. Os autores concluíram que todas eram bioequivalentes, embora as formulações experimentais fossem diferentes em relação ao tamanho das cápsulas e ao processo de elaboração. Resultados similares foram obtidos por PIJCK *et al.* (1975), que, ao comparar duas formas farmacêuticas distintas (cápsulas e “captabs”), de dois fabricantes, concluíram que os níveis sangüíneos e a ampicilina excretada na urina não apresentavam diferenças significativas.

HILL *et al.* (1975) investigaram a dissolução e a biodisponibilidade das formas anidra e triidratada da ampicilina em cápsulas formuladas de modo idêntico. Os resultados obtidos indicaram que, embora a forma anidra apresentava-se ligeiramente mais solúvel que a forma triidratada, em água, a solubilidade em meio ácido era mais rápida para ambas e quase idêntica. Os autores concluíram, também, que as formulações eram bioequivalentes. Tal fato, levou os pesquisadores a criticar e questionar as conclusões obtidas em dois outros trabalhos de 1968, quando POOLE & BAHAL (1968) e POOLE *et al.* (1968) verificaram a falta de bioequivalência em formulações contendo ampicilina (cápsulas e suspensões). Estas apresentavam-se sob a forma anidra e triidratada, e os autores atribuíram a este fato a falta de bioequivalência entre as mesmas, porém o estudo havia sido conduzido com formulações distintas.

WHYATT *et al.* (1976), nos EUA, em um trabalho que envolveu 17 especialidades farmacêuticas sob a forma de cápsulas contendo 250 mg de ampicilina, concluíram que todas eram bioequivalentes. Os produtos testados, na realidade, correspondiam a sete laboratórios diferentes, sendo

o restante apenas distribuidores dos produtos elaborados pelos mesmos que recebiam denominações comerciais distintas. Destes produtos, apenas um apresentava ampicilina sob a forma anidra e os demais sob a forma triidratada.

No Chile, ANDRADE *et al.* (1978), também não encontraram diferenças significativas entre três marcas comerciais de cápsulas de ampicilina, sendo que destes dois estavam sob a forma de ampicilina triidratada e um sob a forma anidra.

Outrossim, ALI (1981) estudou a bioequivalência entre oito diferentes marcas comerciais de ampicilina (cápsulas - 500 mg) existentes no Sudão e concluiu que estas formulações, em sua maioria, não eram bioequivalentes. É interessante notar que estes produtos originaram-se de oito países diferentes (importados) e que todos, exceto um, apresentavam a ampicilina sob a forma triidratada.

Entretanto, ALI & FAROUK (1981) investigaram a biodisponibilidade da ampicilina sob as formas anidra e triidratada, a partir de cápsulas contendo 250 mg do fármaco, sendo duas preparações comerciais do Sudão (uma sob forma anidra e outra triidratada) e duas outras obtidas de enchimento de cápsulas sem excipiente, uma de cada forma de ampicilina. A conclusão a que chegaram aumentou a dúvida em relação à biodisponibilidade das duas formas: a ampicilina anidra revelou ser melhor absorvida que a forma triidratada, e que a formulação exerceu, como é esperado, marcante influência.

Produtos bioinequivalentes foram também encontrados por OGUNBONA & AKANNI (1985) na Nigéria, ao compararem a biodisponibilidade de três marcas comerciais de cápsulas contendo 250 mg de ampicilina.

PLAVSIC *et al.* (1989) ao investigarem a bioequivalência entre formas farmacêuticas contendo ampicilina (500 mg), oriundas de dois fabricantes distintos, concluíram que não havia diferença significativa entre as mesmas formas farmacêuticas de cada laboratório.

Estudando quatro diferentes formas farmacêuticas sólidas contendo ampicilina, LÓPEZ *et al.* (1991) encontraram diferenças na biodisponibilidade, verificando que cápsulas de gelatina mole apresentavam melhor absorção em relação aos demais produtos.

ATAY *et al.* (1991) avaliaram três formulações de cápsulas contendo ampicilina (uma sob a forma anidra e duas sob a forma triidratada) e concluíram que, embora houvesse grande variabilidade entre os voluntários, os produtos poderiam ser considerados bioequivalentes.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1) AMOSTRAS

Foram estudadas 4 (quatro) especialidades farmacêuticas, sob a forma de comprimidos, contendo 500 mg de ampicilina, sendo que, para um dos laboratórios, foram testados 2 (dois) lotes diferentes, totalizando 5 (cinco) amostras distintas. Estas correspondiam às amostras comerciais de seus respectivos laboratórios fabricantes, colocados à venda no comércio varejista farmacêutico. A tabela 5 descreve com detalhes o material pesquisado.

Tabela 5: Designação adotada, número de lote e forma cristalina contida nas especialidades farmacêuticas estudadas, sob a forma de comprimidos contendo 500 mg de ampicilina.

DESIGNAÇÃO ADOTADA	NÚMERO DO LOTE	FORMA CRISTALINA DE AMPICILINA
A1	052.93	triidratada
A2	165994A	triidratada
B	025116C	triidratada
C	6665	anidra
D	10219	anidra

4.2) ANÁLISES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS (ANÁLISE BIOFARMACÊUTICA *IN VITRO*)

Para a caracterização física e físico-química das formulações de ampicilina 500 mg, sob a forma de comprimidos, foram realizados os seguintes ensaios:

- ✓ aspecto;
- ✓ variação de peso dos comprimidos;
- ✓ diâmetro, espessura e dureza;
- ✓ friabilidade;
- ✓ tempo de desagregação;
- ✓ perfil de dissolução;
- ✓ teste de dissolução, segundo a USP XXIII ed.;
- ✓ teor de ampicilina.

4.2.1) ASPECTO

Os comprimidos, de cada fabricante, foram examinados quanto às suas características externas tais como cor, formato, integridade, presença ou ausência de revestimento, gravações, entre outros.

Para a realização desse ensaio não foi empregado qualquer instrumento, sendo os comprimidos apenas observados a olho nu, anotando-se suas características. Foram tomados, aleatoriamente, 10 comprimidos.

4.2.2) VARIAÇÃO DE PESO DOS COMPRIMIDOS

Foram pesados 20 comprimidos de cada fabricante em balança analítica METTLER H15, anotando-se os valores individuais. A média foi calculada, bem como o coeficiente de variação e o desvio-padrão. O teste de variação do conteúdo, preconizado pela USP XXIII (1995) também foi aplicado, considerando-se o peso individual de 10 comprimido e o teor de ampicilina encontrado para cada especialidade farmacêutica testada. O desvio padrão relativo (DPR) foi calculado, de acordo com a citada Farmacopéia.

4.2.3) DIÂMETRO, ESPESSURA E DUREZA

Para este ensaio, utilizou-se equipamento PHARMATEST modelo PTB 311. Este equipamento fornece, automaticamente, as dimensões do comprimido (diâmetro e espessura) e a resistência do mesmo à ruptura (dureza). Foram realizadas 10 determinações para cada especialidade farmacêutica, calculando-se a média, o desvio-padrão e o coeficiente de variação correspondentes.

4.2.4) FRIABILIDADE

O ensaio de friabilidade dos comprimidos foi executado em friabilômetro tipo ROCHE, marca ÉTICA. Para pesagem dos comprimidos utilizou-se balança analítica METTLER H15. Foram tomados 10 comprimidos .

4.2.5) TEMPO DE DESAGREGAÇÃO

Neste ensaio (também denominado tempo de desintegração), em que foi utilizado o equipamento descrito na FB IV (1988), USP XXIII (1995) e BP (1993), da marca ÉTICA, verificou-se o tempo necessário para a desagregação do comprimido, sem que houvesse presença de resíduos entre a tela do aparelho e os discos. Foram tomados, individualmente, 5 (cinco) comprimidos e anotados os tempos de desagregação.

4.2.6) PERFIL DE DISSOLUÇÃO

O perfil de dissolução das diferentes especialidades farmacêuticas aqui testadas foi traçado a partir da quantificação da ampicilina nas cubas de dissolução, em intervalos de tempo preestabelecidos. O equipamento utilizado (HANSON RESEARCH CORP., modelo 72 RL) obedece a todas as especificações descritas na FB IV (1988), USP XXIII (1995) e BP (1993). As condições utilizadas encontram-se descritas na tabela 6.

Tabela 6: Condições utilizadas para determinação do perfil de dissolução das especialidades farmacêuticas.

Sistema de agitação	método 1 (cesto)
Velocidade	100 rpm
Meio de dissolução	água desgaseificada
Volume de meio	900 mL
Alíquota retirada	10 mL
Deteção (método)	Espectrofotometria UV (320 nm)
Tempo (amostragem)	1, 5, 10, 20, 30 e 45 minutos

Para essa análise foram utilizados 3 (três) comprimidos de cada laboratório. O procedimento adotado foi o seguinte: decorridos 1, 5, 10, 20, 30 e 45 minutos após o início do ensaio, foram retiradas alíquotas de 10 mL do meio de dissolução, fazendo-se, em seguida, a reposição deste com água desgaseificada à mesma temperatura.

A alíquota retirada era, após filtração em papel de filtro quantitativo faixa azul (FRAMEX[®]), diluída convenientemente com solução de sulfato de cobre tamponado. Desta diluição, tomou-se uma porção de 10 mL, em tubo de ensaio que, após tampado, foi levado à banho-maria regulado à 75 °C, por um período de 30 minutos. Decorrido esse tempo, a amostra foi retirada do aquecimento e colocada em banho de gelo até que atingisse a temperatura ambiente, para efetuar-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro INCIBRÁS MF 200, à 320 nm.

Para o cálculo da concentração de ampicilina nas amostras, utilizou-se padrão de ampicilina anidra, de potência igual a 993,71 $\mu\text{g}/\text{mg}$, gentilmente cedido pela EMS Indústria Farmacêutica Ltda. Quando da leitura espectrofotométrica das amostras, uma solução padrão de ampicilina anidra, de concentração aproximada de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foi tratada de maneira similar, efetuando-se em seguida, a leitura de sua absorvância.

Realizou-se, ainda, varredura no intervalo compreendido de 250 a 400 nm de uma amostra que sofreu a reação descrita e outra resultante apenas da diluição do meio de dissolução.

Os valores obtidos foram corrigidos, considerando-se as alíquotas retiradas (ARONSON, 1993) e expressos na forma de gráficos da % de fármaco dissolvido *versus* tempo.

Além disso, foram aplicados três modelos matemáticos para interpretação da cinética de dissolução, visando a determinação da ordem do processo:

- ✓ Cinética de zero ordem: foram traçados, para cada produto, gráficos de tempo *versus* quantidade total menos quantidade de fármaco dissolvido ($T \times Q_{\text{inf}} - Q_t$);

- ✓ Cinética de primeira ordem: foram traçados, para cada produto, gráficos de tempo *versus* log neperiano da porcentagem de fármaco não dissolvido ($T \times \ln \%ND$);

✓ Modelo de Higuchi: foram traçados, para cada produto, gráficos da raiz quadrada do tempo *versus* porcentagem de fármaco dissolvido ($\sqrt{T} \times \%D$);

O modelo mais adequado para cada especialidade farmacêutica foi selecionado após a análise de regressão, considerando-se os parâmetros r e F , das curvas de dissolução, onde foram tomados apenas os pontos que correspondiam à fase ascendente das mesmas.

Foram também calculados os seguintes parâmetros relativos à cinética de dissolução:

✓ Constante de velocidade de dissolução (K): após a seleção do modelo mais adequado para cada especialidade farmacêutica, é possível obter-se o valor de K , uma vez que este corresponde à inclinação da reta;

✓ Meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$): este parâmetro foi calculado em seguida à obtenção dos valores de K correspondentes, empregando-se as seguintes fórmulas, de acordo com a cinética do processo de dissolução:

$t_{50\%} = \frac{Q_{\infty}}{2 \times K_0}$ <p>em que: Q_{∞} = quantidade total dissolvida K_0 = constante de velocidade de dissolução de zero ordem</p>	(zero ordem)
$t_{50\%} = \frac{0,693}{K_d}$ <p>em que: K_d = constante de velocidade de dissolução de primeira ordem</p>	(1ª ordem)
$t_{50\%} = \%D \times \sqrt{t}$ <p>em que: $\%D$ = porcentagem dissolvida t = tempo (minutos)</p>	(modelo de Higuchi)

✓ Eficiência de dissolução (ED): a eficiência de dissolução (ED) foi calculada a partir das curvas de % fármaco dissolvido *versus* tempo (perfil de dissolução). Obtendo-se a área sob a curva (ASC) e a área total do gráfico (superfície), a ED é calculada pela razão entre estes dois parâmetros e expressa em porcentagem.

Os valores de ED obtidos foram submetidos, ainda, à análise de variância (ANOVA), a fim de se detectar a existência de diferença significativa entre os mesmos. Em seguida, efetuou-se uma comparação destes mesmos valores, por intermédio dos testes de Tukey e da mínima diferença significativa - MDS (BOLTON, 1990).

4.2.7) TESTE DE DISSOLUÇÃO SEGUNDO A USP XXIII ed.

Além do perfil de dissolução, executou-se também o teste de dissolução especificado para comprimidos de ampicilina da USP XXIII ed. (1995). Neste caso, a amostragem deu-se após 45 minutos de ensaio, sendo as demais condições, idênticas àquelas descritas no item anterior, inclusive para a quantificação do fármaco dissolvido.

4.2.8) TEOR DE AMPICILINA

A quantidade de fármaco presente em cada especialidade farmacêutica testada foi avaliada pelo método iodométrico (USP XXIII, 1995), procedendo-se da seguinte maneira: foram triturados, com auxílio de gral de porcelana e pistilo, e pesados 10 comprimidos. Do pó resultante tomou-se quantidade equivalente à cerca de 62,5 mg de ampicilina e diluiu-se para 50 mL com água, agitando-se até completa dissolução. Foram tomadas duas alíquotas de 2 mL desta solução, transferindo-as para dois erlenmeyers com tampa, identificados como AB e AE. O padrão foi preparado pesando-se analiticamente 62,5 mg de padrão de ampicilina (o mesmo utilizado no ensaio de dissolução) e diluindo-se com água para 50 mL. Foram tomadas duas alíquotas de 2 mL desta solução transferindo-as para dois erlenmeyer com tampa, identificados como PB e PE.

Foram, então, adicionados ao erlenmeyer contendo a amostra e ao outro, contendo o padrão, 2,0 mL de NaOH 1N . Após agitação, estes foram mantidos em repouso por 15 min. Em seguida, juntaram-se 2 mL de HCl 1,2 N e agitou-se novamente. Foram, então, acrescentados 10 mL de iodo 0,01 N , tampando-se os frascos e deixando-os em repouso, ao abrigo

da luz, por 15 min. O excesso de iodo foi titulado com tiosulfato de sódio 0,01 N. Próximo ao ponto de viragem, adicionou-se uma gota de amido e continuou-se a titulação até o desaparecimento da cor azul.

Para a prova em branco procedeu-se como descrito para o ensaio, porém, sem a adição da solução de NaOH 1N, utilizando-se apenas 2,0 mL de HCl 1,2 N .

A quantidade, em mg, de ampicilina anidra presente na amostra, foi calculada pela seguinte fórmula:

$$C = \frac{VAB - VAE}{VPB - VPE} \times \frac{mPXP}{dilP} \times \frac{dilAXPM}{mA}$$

em que:

VAB = volume gasto de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N (SV) na prova em branco da amostra (AB)

VAE = volume gasto de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N (SV) no doseamento da amostra (AE)

VPB = volume gasto de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N (SV) na prova em branco do padrão (AB)

VPE = volume gasto de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N (SV) no doseamento do padrão (PE)

mP = massa de padrão de ampicilina

P = potência do padrão de ampicilina

dil P = diluição (volume final) da solução do padrão

dil A = diluição (volume final) da solução obtida da amostra

PM = peso médio dos comprimidos

mA = massa da amostra utilizada no ensaio

A tabela 7 apresenta resumo dos ensaios executados, número de comprimidos testados e a(s) respectiva(s) referência(s) bibliográfica(s).

Tabela 7: Ensaios físicos e físico-químicos executados para a avaliação das especialidades farmacêuticas, número de comprimidos testados e referências bibliográficas

ENSAIOS	Nº DE COMPRIMIDOS	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
Aspecto	10	----
Variação de peso	20	USP XXIII (1995); FB IV (1988)
Diâmetro, espessura e dureza	10	FB IV (1988)*
Friabilidade	10	USP XXIII (1995); FB IV (1988)
Tempo de desagregação	5	USPXXIII(1995); FB IV (1988); BP (1993)
Perfil de dissolução	3	USP XXIII (1995)
Teor de ampicilina	10	USP XXIII (1995)

* Apenas para dureza

4.3) AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA “IN VIVO” (BIOEQUIVALÊNCIA)

Para o ensaio de bioequivalência foram utilizadas duas especialidades farmacêuticas sob a forma de comprimidos, contendo 500 mg de ampicilina: A2 (considerado o produto-teste) e B (produto de referência).

4.3.1) SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Os voluntários que participaram do presente estudo foram selecionados entre a equipe de "internos" da Clínica Médica do HU/USP e do Corpo de Enfermagem do Hospital. Os candidatos foram examinados pela Divisão de Clínica Médica, obedecendo-se os seguintes critérios:

4.3.1.1) CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Apresentar bom estado de saúde, idade entre 18 e 35 anos e peso dentro do ideal $\pm 10\%$;
- Não apresentar patologias cardíacas, renais, gastrintestinais, hepáticas, pulmonares, neurológicas, psiquiátricas, hematológicas ou metabólicas;
- Não apresentar antecedentes de hipersensibilidade a medicamentos;
- Não ingerir medicamentos uma semana antes do estudo ou durante sua realização;
- Não ingerir bebidas alcoólicas 48 horas antes do ensaio e durante sua realização;
- Não fumar e não ingerir café, chá ou outras bebidas xânticas durante o ensaio;
- A participação de voluntários do sexo feminino deve estar condicionada a que não estejam em estado de gravidez ou em período de amamentação;
- Estar disponível para participar de todas as fases do estudo.

4.3.1.2) CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Ter participado de outro estudo como voluntário nos últimos três meses;
- Fumar 20 ou mais cigarros por dia;
- Antecedentes de abuso de álcool ou drogas;
- Consumo regular de álcool (dois copos de cerveja ou quatro cálices de vinho por dia).

Além disso, os voluntários devem apresentar valores normais para os seguintes exames laboratoriais a que foram submetidos:

- Hematológico;
- Urina tipo I;
- Dosagens bioquímicas: aspartato transaminase, alanina transaminase, fosfatase alcalina, uréia e creatinina.

4.3.2) PROTOCOLO DO ENSAIO*

Participaram do ensaio de bioequivalência das formulações 16 voluntários sadios (tabela 8), sendo 7 indivíduos do sexo masculino e 9 do sexo feminino, cujas idades variaram de 21 a 26 anos (média de 23 anos) e peso entre 48 e 105 kg (média de 68,2 kg).

* Aprovado, previamente, pela Comissão de Ética do HU/USP. Processo CEP 001/ 94.

O ensaio foi executado segundo estudo cruzado aleatório (BOLTON, 1990; DEL PINO, 1993) que possibilitou a administração das 2 formulações (A2 e B) a todos os voluntários, como mostra a tabela 8. Os produtos foram administrados em duas fases distintas: 1 e 2, havendo entre estas um período de “wash-out” de dois dias (48 horas).

Tabela 8: Planejamento estatístico utilizado no estudo para a administração dos produtos A2 e B e dados de idade e sexo dos voluntários.

VOLUNTÁRIO Nº	FASE 1*	FASE 2*	IDADE	SEXO
1	A	B	21	M
2	A	B	24	F
3	B	A	23	F
4	B	A	23	M
5	B	A	23	M
6	B	A	23	F
7	A	B	22	M
8	A	B	23	M
9	A	B	24	M
10	A	B	23	F
11	B	A	22	F
12	B	A	25	M
13	A	B	23	F
14	B	A	22	F
15	B	A	26	F
16	A	B	23	F

* Fases do ensaio

Os voluntários receberam, quando da administração do medicamento, 200 mL de água. Após cada coleta de urina, nova ingestão de água ou suco de laranja foi efetuada, o que garantiu a diurese. Decorridas 4 horas do ensaio, os voluntários receberam refeição padronizada (almoço) e após 8:30 h foi servido lanche, também padronizado, a todos os participantes do ensaio. Esta ligeira refeição foi constituída de sanduíche de pão com verduras e queijo ou presunto, refrigerante não cafeinado e um doce.

4.3.3) COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de urina dos voluntários foram coletadas nos seguintes intervalos de tempo, após a administração do produto: 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas.

Após cada coleta, verificaram-se o volume e o pH da urina de cada voluntário, retirando-se, então, alíquota, de aproximadamente 20 mL para análise.

4.3.4) ANÁLISE DA AMPICILINA

As amostras de urina foram analisadas, em duplicata, no mesmo dia das coletas. Utilizou-se, para a quantificação da ampicilina, o método espectrofotométrico inicialmente descrito por SMITH *et al.* (1967). O procedimento adotado foi o seguinte:

Tomar 2 mL da urina e diluir para 100 mL com solução de sulfato de cobre tamponado. Transferir 10 mL desta solução para um tubo de ensaio, fechar e levar à um banho-maria regulado à 75 °C. Após 30 minutos, remover o tubo do banho e resfriar com auxílio de banho de gelo. Determinar a leitura em 320 nm, utilizando como branco uma amostra que não sofreu aquecimento.

4.3.5) CONSTRUÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO

A partir de soluções de ampicilina padrão (potência = 993,71 µg/mg) em tampão fosfato (pH 5,2) cujas concentrações variaram de 2,0 à 25,0 µg/mL, foi construída reta de calibração, à 320 nm, após reação descrita no item anterior.

4.3.6) PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Para avaliação da biodisponibilidade das formulações, adotou-se como parâmetro fundamental a quantidade de ampicilina excretada na urina (Du^{∞}). Foram então, traçadas curvas de quantidade de ampicilina excretada (acumulada) *versus* tempo. Calculou-se também a velocidade máxima de excreção urinária da ampicilina - $(dDu/dt)_{máx}$ - construindo-se a curva de velocidade de excreção do fármaco (dDu/dt) *versus* intervalo médio de tempo (t_m).

4.3.7) ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação da existência ou não do efeito de grupo, ou seja, se a ordem de administração dos produtos A2 e B interferia nos resultados obtidos, aplicou-se o teste t pareado. Neste, é investigado se a média das diferenças observadas entre A2 e B, para um mesmo voluntário, é igual a zero. Para tanto, são formados dois grupos:

I - grupo de voluntários que inicialmente tomaram o produto A2 (fase I) e posteriormente B (fase II)

II - grupo de voluntários que inicialmente tomaram o produto B (fase I) e posteriormente A (fase II).

A constatação da existência ou não de diferença significativa entre os produtos A e B para os valores médios de Du^∞ e $(dDu/dt)_{\max}$ foi realizado aplicando-se os seguintes testes:

✓ teste t (paramétrico)

✓ teste de Mann-Whitney (não-paramétrico)

Calculou-se, também, para Du^∞ e $(dDu/dt)_{\max}$ o intervalo de confiança (valores logaritmados), obtido por intermédio da seguinte fórmula (DEL PINO, 1993):

$$IC = t \cdot sl \cdot \frac{\sqrt{2}}{n}$$

Em que:

t = valor tabelado do teste t de Student para n-2 e 90 %

sl = resíduo da ANOVA

Após execução da ANOVA com a estimativa da variação ocorrida para cada voluntário, obteve-se o coeficiente de variação da ANOVA (CV_{ANOVA}) para Du^{∞} e $(dDu/dt)_{m\acute{a}x}$, por intermédio da seguinte fórmula (BLAND, 1995):

$$CV_{ANOVA} = \frac{\sqrt{QMR}}{X}$$

Em que:

QMR = quadrado médio relativo (obtido a partir da tabela da ANOVA)

X = valor médio do parâmetro farmacocinético correspondente

5- RESULTADOS

5.1) ANÁLISES FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

5.1.1) ASPECTO

O resultado do exame visual dos comprimidos estudados encontra-se descrito na tabela 9.

Tabela 9: Descrição do aspecto dos comprimidos de ampicilina 500 mg utilizados no estudo.

FABRICANTE	DESCRIÇÃO
A1	comprimidos de aspecto uniforme, íntegros, retangulares, cor cinza, sem gravações, revestidos
A2	comprimidos de aspecto uniforme, íntegros, retangulares, cor branca, sem gravações e sem revestimento
B	comprimidos de aspecto uniforme, íntegros, retangulares, cor branca, sem gravações e sem revestimento
C	comprimidos de aspecto uniforme, íntegros, arredondados, cor alaranjada, sem gravações e sem revestimento
D	comprimidos de aspecto uniforme, íntegros, arredondados, cor branca, sem gravações e sem revestimento

5.1.2) VARIAÇÃO DE PESO DOS COMPRIMIDOS

Os valores obtidos em relação ao peso individual dos comprimidos, suas respectivas médias e desvios-padrão são apresentados na tabela 10.

A partir dos resultados de teor de ampicilina dos produtos testados e de seus respectivos pesos individuais, relatados na tabela 10, procedeu-se ao cálculo da variação do conteúdo, conforme preconizado pela USP XXIII (1995). Os valores encontram-se na tabela 11.

Tabela 10: Peso individual dos comprimidos obtido para os produtos estudados (A1, A2, B, C, e D); os resultados estão expressos em gramas.

	A1	A2	B	C	D
1	0,9826	1,0454	0,7540	0,8337	0,6866
2	0,9710	1,0114	0,7391	0,8513	0,6958
3	0,9658	1,0054	0,7427	0,8424	0,6808
4	0,9797	1,0107	0,7474	0,8405	0,7143
5	0,9592	0,9937	0,7446	0,8473	0,7106
6	0,9715	1,0107	0,7415	0,8546	0,6862
7	0,9697	1,0132	0,7428	0,8415	0,7402
8	0,9706	0,9990	0,7402	0,8174	0,7329
9	0,9795	0,9998	0,7490	0,8390	0,7084
10	0,9778	1,0296	0,7412	0,8513	0,6570
11	0,9746	0,9928	0,7449	0,8505	0,7021
12	0,9636	0,9937	0,7439	0,8350	0,6924
13	0,9646	1,0244	0,7560	0,8255	0,6838
14	0,9618	1,0046	0,7458	0,8428	0,6924
15	0,9476	1,0035	0,7508	0,8532	0,6896
16	0,9664	1,0169	0,7318	0,8488	0,6691
17	0,9782	1,0153	0,7387	0,8424	0,6998
18	0,9785	1,0103	0,7463	0,8509	0,6532
19	0,9563	1,0207	0,7326	0,8345	0,7004
20	0,9779	1,0006	0,7383	0,8409	0,6922
MÉDIA	0,9698	1,0101	0,7436	0,8422	0,6944
± DP	± 0,0092	± 0,0007	±0,0062	±0,0096	±0,0215
CV(%)	0,95	0,06	0,83	1,10	3,10

DP = desvio-padrão

CV = coeficiente de variação

Tabela 11: Resultados da avaliação do conteúdo individual do fármaco, de acordo com a USP XXIII (1995), para os produtos A1, A2, B, C e D, calculado a partir do teor dos comprimidos e do peso individual de 10 unidades; os valores estão expressos em porcentagem.

	A1	A2	B	C	D
1	84,80	106,70	108,70	103,05	92,55
2	83,80	103,23	106,55	105,22	93,78
3	83,35	102,62	107,07	104,12	91,74
4	84,55	103,16	107,75	103,89	96,28
5	82,78	101,43	107,34	104,73	95,78
6	83,85	103,16	106,90	105,63	92,49
7	83,69	103,42	107,08	104,01	99,77
8	83,77	101,97	106,71	101,03	98,79
9	84,54	104,12	107,98	103,70	95,49
10	84,40	105,09	106,85	105,22	88,56
MÉDIA	83,95	103,49	107,29	104,06	94,52
DP	0,62	1,52	0,67	1,33	3,38
DPR	0,74	1,47	0,62	1,28	3,57

DP = desvio padrão

DPR = desvio padrão relativo

5.1.3) DIÂMETRO, ESPESSURA E DUREZA

Na tabela 12 encontram-se os valores obtidos para as medidas dos comprimidos, bem como sua dureza. São expressos, também, a média e o desvio-padrão correspondentes.

Tabela 12: Diâmetro, espessura e dureza, obtidos para as especialidades farmacêuticas estudadas (A1, A2, B, C e D).

	MÉDIA ± DP				
	CV%				
	A1	A2	B	C	D
DIÂMETRO	19,66 ± 0,290	19,70 ± 0,061	17,65 ± 0,071	14,05 ± 0,010	13,02 ± 0,013
(mm)	1,40	0,31	0,41	0,07	0,10
ESPESSURA	6,37 ± 0,302	7,11 ± 0,041	6,74 ± 0,028	4,53 ± 0,026	4,77 ± 0,111
(mm)	4,70	0,59	0,41	0,58	2,30
DUREZA	152,52 ± 12,62	49,47 ± 4,42	119,43 ± 11,61	111,60 ± 8,24	72,53 ± 16,16
(N)	8,20	8,90	9,70	7,38	22,30

DP = desvio-padrão

CV = coeficiente de variação

5.1.4) FRIABILIDADE, TEOR DE AMPICILINA E TEMPO DE DESAGREGAÇÃO

Os resultados dos ensaios de friabilidade, teor de ampicilina e tempo de desagregação são apresentados, na tabela 13. Para o tempo de desagregação os valores referem-se à média de cinco comprimidos, sendo apresentados, também, os desvios-padrão obtidos.

Tabela 13: Friabilidade, teor de ampicilina e tempo de desagregação (cinco valores expressos como média $\pm$ desvio-padrão) das especialidades farmacêuticas.

PRODUTO	FRIABILIDADE (%)	TEOR DE AMPICILINA (% DO VR)	TEMPO DE DESAGREGAÇÃO (MINUTOS)
A1	-	83,7	32,15 $\pm$ 1,68
A2	0,0	103,1	5,40 $\pm$ 1,36
B	0,21	107,2	1,36 $\pm$ 0,16
C	0,15	104,1	23,33 $\pm$ 4,45
D	0,22	93,6	9,31 $\pm$ 2,85

VR = Valor rotulado de ampicilina

Na figura 2 são comparados os valores de dureza e tempo de desagregação obtidos para as especialidades farmacêuticas estudadas.

Na figura 3 são apresentados os espectros de absorção no ultravioleta de uma única amostra contendo ampicilina, proveniente do ensaio de dissolução, em que se efetuou leitura da absorvância de soluções com e sem a reação química com sal de cobre de acordo com o procedimento descrito por SMITH *et al.* (1967).

Figura 2: Comparação entre os valores de dureza (N) e tempo de desagregação (minutos) obtidos para cada produto. As barras indicam os respectivos valores de desvio-padrão.

Figura 3: Espectros de absorção na região do ultravioleta (250 a 400 nm) da mesma amostra de uma diluição de ampicilina (concentração = 16 $\mu\text{g/mL}$) proveniente do ensaio de dissolução. _____ amostra após reação; _____ amostra sem tratamento.

5.1.5) PERFIL DE DISSOLUÇÃO

Nas tabelas 14, 15, 16, 17 e 18 são apresentados os valores de porcentagem de ampicilina dissolvida em função do tempo para os produtos A1, A2, B, C e D, respectivamente, além da média e do desvio-padrão.

Tabela 14: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para as três amostras analisadas do produto A1.

TEMPO(MIN)	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	MÉDIA $\pm$ DP
1	0	0	0	$0 \pm 0,0$
5	0,33	0,36	0,27	$0,32 \pm 0,04$
10	0,39	0,51	0,66	$0,52 \pm 0,11$
20	1,55	3,03	2,29	$2,29 \pm 0,61$
30	7,17	7,63	18,78	$11,19 \pm 5,37$
45	29,43	29,16	40,25	$32,95 \pm 5,16$

DP = desvio-padrão

Tabela 15: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para as três amostras analisadas do produto A2.

TEMPO(MIN)	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	MÉDIA $\pm$ DP
1	15,75	13,41	12,68	13,95 $\pm$ 1,61
5	80,54	87,03	79,15	82,24 $\pm$ 4,21
10	93,86	100,31	100,21	98,13 $\pm$ 3,69
20	97,35	102,15	103,28	100,93 $\pm$ 3,15
30	100,38	105,47	104,16	103,34 $\pm$ 2,64
45	101,21	106,11	104,05	103,79 $\pm$ 2,46

DP = desvio-padrão

Tabela 16: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para as três amostras analisadas do produto B.

TEMPO(MIN)	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	MÉDIA $\pm$ DP
1	33,60	15,51	40,61	29,91 $\pm$ 12,95
5	72,00	75,12	86,23	77,78 $\pm$ 7,48
10	78,58	78,91	93,70	83,73 $\pm$ 8,64
20	82,15	86,66	97,81	88,87 $\pm$ 8,06
30	86,97	88,22	97,88	91,03 $\pm$ 5,97
45	91,23	99,51	95,36	95,37 $\pm$ 4,14

DP = desvio-padrão

Tabela 17: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para as três amostras analisadas do produto C.

TEMPO(MIN)	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	MÉDIA $\pm$ DP
1	0,22	0,05	0,00	0,09 $\pm$ 0,12
5	2,24	2,31	2,63	2,40 $\pm$ 0,21
10	10,49	7,39	10,51	9,46 $\pm$ 1,80
20	24,90	15,81	21,76	20,82 $\pm$ 4,62
30	35,81	23,39	31,67	30,29 $\pm$ 6,32
45	49,28	30,35	39,97	39,86 $\pm$ 9,47

DP = desvio-padrão

Tabela 18: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para as três amostras analisadas do produto D.

TEMPO(MIN)	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3	MÉDIA $\pm$ DP
1	8,07	11,03	15,65	11,58 $\pm$ 3,82
5	49,03	48,77	54,61	50,80 $\pm$ 3,30
10	61,15	60,89	68,54	63,53 $\pm$ 4,34
20	73,70	70,54	81,45	75,23 $\pm$ 5,62
30	83,04	80,37	88,96	84,12 $\pm$ 4,40
45	85,55	87,52	92,86	88,54 $\pm$ 3,79

DP = desvio-padrão

Os perfis de dissolução das quatro especialidades farmacêuticas estão representados na figura 4.

Na Tabela 19 são apresentados os resultados do tratamento matemático para linearização das curvas de dissolução.

Na tabela 20 são apresentados os parâmetros constante de velocidade de dissolução (K), meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$) e eficiência de dissolução (ED) obtidos a partir dos dados das curvas de dissolução dos produtos.

Figura 4: Perfis de dissolução e os respectivos desvios-padrão obtidos para cada intervalo de tempo dos produtos A1, A2, B, C e D.

Tabela 19 : Valores de coeficiente de correlação (r) e do teste F para os três modelos matemáticos utilizados na linearização das curvas de dissolução

	ZERO	ORDEM	1 ^a ORDEM		HIGUCHI	
	r	F	r	F	r	F
A1	0,9550	20,74	0,9416	15,64	0,9159	10,41
A2	0,9451	16,70	0,9971	338,46	0,9721	34,28
B	0,9798	24,06	0,9994	826,68	0,9974	195,23
C	0,9904	102,63	0,9968	315,89	0,9993	1542,00
D	0,8918	11,65	0,9556	31,57	0,9745	56,56

Tabela 20: Constante de velocidade de dissolução (K), meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$) e eficiência de dissolução (ED) obtidos a partir dos dados das curvas de dissolução dos produtos dos Laboratórios A1, A2, B, C e D.

LABORATÓRIO	K	$t_{50\%}$ (min.)	ED(%) $\pm$ DP
A1	4,76 mg/min ⁻¹	52,25	9,23 $\pm$ 2,90
A2	0,40 min ⁻¹	1,71	91,79 $\pm$ 1,07
B	0,30 min ⁻¹	2,31	84,47 $\pm$ 6,06
C	8,64 mg/100ml min ⁻¹	52,11	21,51 $\pm$ 4,62
D	18,21 mg/100ml min ⁻¹	4,45	71,17 $\pm$ 4,24

DP = desvio-padrão

O resultado do tratamento estatístico a que foram submetidos os perfis de dissolução de cada produto, encontram-se nas tabelas 21 (ANOVA) e 22 (Tukey e MDS).

Tabela 21: Análise de variância dos valores de eficiência de dissolução (ED) para as especialidades farmacêuticas estudadas.

FONTE DE VARIACÃO	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F0 OBSERVADO
entre tratamentos	4	17094,785	4273,6963	249,62
dentro dos tratamentos	10	171,316	17,1316	
total	14	17266,102	significativo	

Tabela 22: Comparação dos valores de eficiência de dissolução (ED) para cada especialidade farmacêutica estudada, empregando-se o teste de Tukey e o método da MDS.

PRODUTOS	GRUPOS HOMOGÊNEOS	
	TUKEY	MDS
A1	-	-
A2	B	B
B	A2	A2
C	-	-
D	-	-

Nas figuras 5, 6 e 7 são mostrados os pontos utilizados, para cada especialidade farmacêutica, nos cálculos relativos à cinética de dissolução para os modelos de zero ordem, primeira ordem e Higuchi.

FIGURA 5: Pontos considerados no perfil de dissolução, para cada especialidade farmacêutica, no cálculo do modelo cinético de primeira ordem.

FIGURA 6: Pontos considerados no perfil de dissolução, para cada especialidade farmacêutica, no cálculo do modelo cinético de zero ordem.

FIGURA 7: Pontos considerados no perfil de dissolução, para cada especialidade farmacêutica, no cálculo do modelo de Higuchi.

Na figura 8 são comparados os valores de eficiência de dissolução (ED) e tempo de desagregação obtidos para os produtos A1, A2, B, C e D.

Figura 8: Comparação entre os valores de ED (%) e tempo de desagregação (minutos) obtidos para cada produto. As barras indicam os respectivos valores de desvio-padrão.

5.1.6) TESTE DE DISSOLUÇÃO SEGUNDO A USP XXIII ed.

Na tabela 23 são apresentados os resultados obtidos no teste de dissolução, segundo as especificações da USP XXIII ed. (1995).

Tabela 23: Porcentagens de ampicilina dissolvida obtidas para os produtos A1, A2, B, C e D no teste de dissolução segundo a USP XXIII.

CUBAS	A1	A2	B	C	D
1	26,46	104,19	96,66	27,54	88,83
2	10,80	98,91	99,90	45,36	92,07
3	17,55	100,52	85,59	57,24	85,86
4	25,92	104,94	90,99	73,17	92,61
5	16,20	98,46	91,26	47,79	90,72
6	19,44	103,65	91,80	45,63	97,20
M $\pm$ DP	19,40 $\pm$ 5,48	101,78 $\pm$ 2,59	92,70 $\pm$ 4,54	49,45 $\pm$ 13,77	91,22 $\pm$ 3,49
CV(%)	28,25	2,54	4,90	27,85	3,82
RESULTADO	REPROVADO	APROVADO	APROVADO	REPROVADO	APROVADO

M = média; DP = desvio-padrão; CV = coeficiente de variação

5.2) AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA *IN VIVO*

5.2.1) RETA DE CALIBRAÇÃO

Os valores obtidos para a análise de regressão linear relativa à reta de calibração construída a partir da leitura espectrofotométrica de várias soluções contendo padrão de ampicilina encontram-se descritos na tabela 24.

Tabela 24. Resultado da análise estatística dos dados obtidos a partir da construção da reta de calibração para ampicilina em tampão fosfato pH 5,2.

PARÂMETRO	RESULTADO OBTIDO
coeficiente angular (b)	0,0391
intercepto (a)	- 0,07264
coeficiente de correlação (r)	0,9999
equação da reta	$y = -0,07264 + 0,0391 x$
Erro padrão da estimativa relativo (SER)	0,483

5.2.2. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Na tabela 25, são apresentados os valores de Du^{∞} e respectivas médias para cada um dos voluntários, para o produto A2 e para o produto B.

Na figura 9 são apresentadas as curvas médias da excreção urinária acumulada da ampicilina para os produtos A2 e B.

Nas figuras 10 e 11 é possível visualizar os valores individuais de quantidade do fármaco excretado na urina em função do tempo, para A2 e B, respectivamente.

Tabela 25: Quantidade de ampicilina (mg) excretada na urina (Du^{∞}) de cada voluntário para os produtos A2 e B.

VOLUNTÁRIO	A2	B
1	193,27	255,27
2	337,09	410,06
3	298,63	191,40
4	294,12	219,53
5	370,10	368,84
6	383,80	373,61
7	204,74	284,63
8	265,36	299,17
9	239,62	257,68
10	200,78	235,31
11	273,53	279,60
12	246,29	230,97
13	301,66	309,60
14	308,60	178,78
15	193,91	202,31
16	210,89	191,66
M $\pm$ DP	270,15 $\pm$ 61,7	268,03 $\pm$ 70,07
CV (%)	22,84	26,14
% RECUPERADA*	54,03	53,61

M = média; DP = desvio-padrão; CV = coeficiente de variação

* corresponde à porcentagem total de ampicilina obtida na urina, tomando-se como base a dose administrada (500 mg).

Figura 9: Curvas médias da excreção urinária acumulada de ampicilina para os produtos A 2 e B.

Figura 10: Valores individuais de quantidade de ampicilina excretada na urina em função do tempo, para o produto A2.

Figura 11: Valores individuais de quantidade de ampicilina excretada na urina em função do tempo, para o produto B.

Nas tabelas 26 e 27 são apresentados os valores máximos de velocidade de excreção urinária da ampicilina - $(dDu/dt)_{\max}$ - e intervalo de tempo médio $(t_m)_{\max}$ correspondente para os produtos A2 e B, respectivamente.

As curvas médias de velocidade de excreção urinária do fármaco para A2 e B encontram-se na figura 12.

Tabela 26: Velocidade máxima de excreção urinária de ampicilina - $(dDu/dt)_{\max}$, intervalo de tempo médio $(t_m)_{\max}$ correspondente e respectivas médias, para o produto A2.

VOLUNTÁRIOS	$(t_m)_{\max}$ (horas)	$(dDu/dt)_{\max}$ (mg/h)
1	1,5	53,82
2	3,0	70,43
3	1,5	85,50
4	3,0	59,49
5	1,5	130,52
6	3,0	80,52
7	1,5	80,45
8	1,5	98,50
9	1,5	73,97
10	3,0	38,34
11	1,5	95,36
12	1,5	69,13
13	1,5	105,04
14	1,5	152,62
15	1,5	38,32
16	1,5	63,47
M	1,88	80,98
DP	0,65	29,72
CV	34,70	36,70

M = média; DP = desvio-padrão; CV = coeficiente de variação

Tabela 27: Velocidade máxima de excreção urinária de ampicilina $(dDu/dt)_{\max}$, intervalo de tempo médio $(tm)_{\max}$ correspondente e respectivas médias, para o produto B.

VOLUNTÁRIOS	$(tm)_{\max}$ (horas)	$(dDu/dt)_{\max}$ (mg/h)
1	3,0	49,36
2	3,0	98,14
3	3,0	40,88
4	3,0	46,82
5	1,5	139,61
6	1,5	134,28
7	1,5	84,10
8	3,0	71,29
9	1,5	70,36
10	3,0	52,77
11	1,5	92,78
12	1,5	63,11
13	3,0	58,07
14	1,5	56,43
15	1,5	59,08
16	1,5	58,05
M	2,16	73,44
DP	0,74	28,55
CV	34,5	38,9

M = média; DP = desvio-padrão; CV = coeficiente de variação

Figura 12: Valores médios de velocidade de excreção urinária da ampicilina (dDu/dt) para os produtos A2 e B.

5.2. 3) ANÁLISE ESTATÍSTICA

Nas tabelas 28 e 29, são apresentados os resultados da análise estatística paramétrica e não paramétrica dos dados obtidos para Du^∞ e para $(dDu/dt)_{\max}$ relativos aos produtos A2 e B.

Na tabela 30 são apresentados a média dos valores logaritmados de Du^∞ e $(dDu/dt)_{\max}$, para os produtos A2 e B, os respectivos desvios padrão, o coeficiente de variação da ANOVA obtido para cada parâmetro, além dos intervalos de confiança.

Tabela 28: Resultados da análise estatística (teste t), da diferença (D) entre os valores de quantidade total de ampicilina excretada na urina (Du^∞) e da velocidade máxima de excreção $[(dDu/dt)_{\max}]$ obtidos para cada voluntário para os produtos A2 e B.

	GRUPO	n	MÉDIA	DP	CV	p
D_{Du^∞}	I	8	-36,25	36,09	1,00	0,856
	II	8	-40,49	55,09	1,36	
$D_{(dDu/dt)_{\max}}$	I	8	5,23	23,23	4,44	0,805
	II	8	9,81	44,85	4,57	

DP = desvio-padrão; CV = coeficiente de variação.
significativo para $p \leq 0,05$

Tabela 29: Resultados da análise estatística paramétrica (teste t) e não-paramétrica (Mann-Whitney) aplicada aos parâmetros Du^{∞} (quantidade total de ampicilina excretada na urina) e $(dDu/dt)_{\max}$ (velocidade máxima de excreção urinária) relativas aos produtos A2 e B.

	p	
	TESTE t	MANN-WHITNEY
Du^{∞}	0,928	0,734
$(dDu/dt)_{\max}$	0,485	0,291

significativo para $p \leq 0,05$

Tabela 30: Valores da média, desvio-padrão (DP), CV_{ANOVA} , t tabelado e intervalos de confiança (90%) obtidos a partir dos valores logaritmados (ln) de Du^{∞} e $(dDu/dt)_{\max}$ para os produtos A2 e B.

PARÂMETRO	PRODUTO	MÉDIA	DP	CV_{ANOVA} (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (%)	
					INFERIOR	SUPERIOR
Du^{∞}	A2	5,621	0,352	15,12	92	116
	B	5,582	0,236			
$(dDu/dt)_{\max}$	A2	4,327	0,382	31,42	91	132
	B	4,232	0,359			

6- DISCUSSÃO

No presente estudo foram avaliadas, do ponto de vista biofarmacêutico, 4 especialidades farmacêuticas (A, B, C e D), sob a forma de comprimidos, contendo 500 mg de ampicilina, disponíveis no mercado nacional, sendo que, para um dos fabricantes (A), foram analisados 2 lotes diferentes (A1 e A2), totalizando 5 amostras distintas. Foram realizados diversos ensaios físico-químicos com a finalidade de detectar falhas que os produtos pudessem, ocasionalmente, apresentar, de acordo com a determinação da FDA-USA (CODE of federal regulations, 1992), que preconiza a verificação prévia da conformidade dos produtos em relação às especificações, para a realização de ensaios de bioequivalência. A avaliação biofarmacêutica *in vivo* foi executada para duas destas amostras: A2 e B, utilizando-se parâmetros de excreção urinária de 16 voluntários sadios.

Análises biofarmacêuticas *in vitro* podem fornecer valiosas informações sob as características da forma farmacêutica e assim, mediante estudo da inter-relação das mesmas, auxiliar na compreensão do comportamento dos produtos. Deste modo, é possível comparar formulações diferentes, quando do desenvolvimento, ou confrontar distintas especialidades farmacêuticas, apontando-se aquelas para as quais especificações de compêndios oficiais não foram obedecidas, o que pode indicar comprometimento de seu desempenho no organismo (TINGSTAD, 1978; GONZÁLES *et al.*, 1995b).

Com relação à observação do aspecto dos comprimidos estudados (tabela 9), não foram denotadas características que estivessem em

desacordo com os padrões estabelecidos para qualquer uma das especialidades farmacêuticas. Genericamente, apresentavam-se uniformes e íntegros. À exceção da especialidade farmacêutica do Laboratório C, que se caracteriza pela presença de um corante alaranjado em sua formulação e do lote A1 do Laboratório A, que se apresentava revestida, as demais apresentaram coloração branca e sem nenhum revestimento, aparentemente. Aliás, a ausência de revestimento é digna de nota, uma vez que a deposição de películas de vernizes ou açúcar pode trazer alterações importantes no perfil de dissolução, em geral, retardando a velocidade de dissolução do fármaco (McGINITY, 1989). Este fato ajuda a explicar, em parte, o fraco desempenho do lote A1, em relação à dissolução (figura 4).

Analisando-se os resultados de variação de peso dos comprimidos (tabela 10) observa-se que os valores de desvio-padrão e coeficiente de variação foram relativamente baixos. Porém, considerando-se que a FB IV (1988) preconiza, para comprimidos de peso superior à 250 mg, uma tolerância de $\pm 5\%$ (tabela 1), o produto do Laboratório D não atendeu à esta exigência. Neste caso, o peso mínimo de cada comprimido deveria ser de 0,6597 g e o máximo igual a 0,7291 g. Entretanto, os comprimidos de número 10 e 18 estavam abaixo do valor mínimo e os de número 7 e 8 acima dos valores recomendados, o que totaliza quatro unidades em desacordo com o especificado, sendo que são toleradas apenas não mais que duas unidades fora destes valores. O mesmo produto foi o que apresentou, dentre os estudados, o maior coeficiente de variação (3,1%).

Porém, tomando-se como base os critérios recomendados pela USP XXIII (1995), todos os produtos encontram-se dentro do permitido (tabela

11), exceto A1 que, em função do baixo teor do fármaco, apresentou, conseqüentemente, valores individuais fora da faixa de 85 a 115%. Então, quando se trata deste ensaio, é possível deduzir que os critérios adotados pela BP 1993 e pela FB IV (1988) são mais rigorosos que aqueles adotados pela USP XXIII (1995), uma vez que esta última não considera como inadequada a variação registrada para o produto D. Ao contemplar o teor de fármaco como critério e não simplesmente a variação registrada no peso das unidades é possível aceitar-se variações maiores, porém, desde que estas não impliquem em uma variação acentuada de teor do fármaco.

Em relação ao diâmetro e espessura dos comprimidos (tabela 12), não foram registradas grandes variações. Estes resultados, principalmente para o diâmetro, são esperados, uma vez que este é condicionado pela matriz da máquina de comprimir (FERRAZ, 1993). Entretanto, avaliando-se os resultados de dureza dos comprimidos, observa-se considerável diferença entre as cinco formulações. Porém, este fato parece não ter exercido influência sobre a desagregação dos comprimidos, o que, segundo alguns autores, poderia ocorrer (JACOB & PLEIN, 1968; SAKR, 1972; GORDON *et al.*, 1990). É interessante observar o ocorrido com os comprimidos dos Laboratórios B e C (figura 2): embora os valores de dureza estivessem bastante próximos, o tempo de desagregação do produto B foi muito inferior ao do produto C. Isto se deve, provavelmente, às diferenças de formulação nas duas especialidades, notadamente em relação aos desagregantes e aos umectantes utilizados, visto que estes dois tipos de excipientes são os que estão mais diretamente relacionados à desagregação e dureza (FERRAZ, 1994; GORDON *et al.*, 1990).

Ainda para o peso médio, diâmetro, espessura e a dureza dos comprimidos, os desvios-padrão e os coeficientes de variação oriundos destes parâmetros revelam que o produto do Laboratório D foi o que apresentou maior oscilação de valores. Esta observação é bastante coerente, pois uma maior variação na espessura, por exemplo, indica uma maior oscilação no peso médio dos comprimidos. Isto ocorre porque, com a matriz mais preenchida pelo granulado (durante o processo de compressão) obtém-se um comprimido com peso mais elevado. Além disso, caso a pressão aplicada seja constante, dará origem a um comprimido de maior dureza (FERRAZ, 1993).

Os valores apresentados na tabela 13 indicam conformidade com as especificações da FB IV (1988) para a friabilidade (máximo 1,5 %). O lote A1 do laboratório A não foi submetido ao ensaio, uma vez que corresponde a um comprimido revestido. Para o lote A2 não foi registrado desgaste nas unidades testadas, uma vez que as pesagens realizadas antes e após o teste não indicaram qualquer variação.

Em relação ao teor de ampicilina, de acordo com a USP XXIII (1995), que permite uma oscilação de 90 a 120 % do valor rotulado do fármaco, A1 apresentou-se com valor fora de especificação. O método utilizado para quantificação do fármaco (iodométrico) é bastante adequado visto que é capaz de determinar apenas a ampicilina não degradada, pois a reação baseia-se na ruptura do anel β -lactâmico por um álcali. O resultado é um derivado do ácido penicilóico que, ao contrário da molécula íntegra, consome iodo (KOROLKOVAS, 1984). Ao efetuar-se uma titulação nas mesmas condições, porém sem a adição de álcali, é possível

determinar por subtração, a quantidade exata de ampicilina íntegra presente na amostra.

Analisando-se os resultados de tempo de desagregação (tabela 13) é possível observar grande oscilação entre as especialidades farmacêuticas (variação de $1,36 \pm 0,16$ a $32,15 \pm 1,68$). Para os Laboratórios A1 e C, os tempos de desagregação foram relativamente elevados (32,15 e 23,33 minutos, respectivamente) em se tratando de formas farmacêuticas de pronta liberação. Muito embora a desagregação da forma farmacêutica não esteja, necessariamente, relacionada de modo direto à biodisponibilidade do fármaco (LEVY, 1961), tal fato pode refletir-se no aproveitamento do mesmo pelo organismo, uma vez que, inevitavelmente, a absorção estará comprometida.

É necessário lembrar que o ensaio de desagregação aqui executado foi conduzido de modo a possibilitar uma comparação entre as diferentes especialidades farmacêuticas. Enquanto a FB IV (1988) recomenda que após 30 minutos os comprimidos estejam desintegrados, foram aqui registrados os tempos de desagregação de cada comprimido. Assim, foi possível obter a média e desvio-padrão para cada produto e confrontar, então os resultados obtidos.

O ensaio de dissolução, nos moldes em que é preconizado pela USP XXIII (1995) foi também executado e revelou que os produtos A1 e C não obedecem ao especificado (tabela 23). É recomendado, após 45 minutos, uma porcentagem de ampicilina dissolvida não inferior à 80% ($Q + 5\%$) da quantidade rotulada para aprovação no primeiro estágio do teste (tabela 2). Porém, para estes produtos, os valores obtidos foram bastante

inferiores, sendo de 19,40 % e 49,45 %, respectivamente. Além disso, os coeficientes de variação obtidos apresentaram-se consideravelmente elevados em relação aos demais produtos que foram aprovadas no primeiro estágio.

A partir da construção de curvas porcentagem dissolvida *versus* tempo (perfil de dissolução) é possível obter-se uma série de parâmetros de cinética de dissolução, parâmetros estes largamente utilizados em estudos comparativos de desempenho *in vitro* de formas farmacêuticas sólidas.

Avaliando-se as curvas de porcentagem de ampicilina dissolvida *versus* tempo (figura 4) observa-se que os produtos A2 e B apresentaram os perfis mais aproximados entre si, correspondentes às maiores porcentagens de liberação (tabelas 14 a 18). Por outro lado, os produtos A1 e C demonstraram-se deficientes em relação a esse parâmetro, enquanto que o produto D exibiu um perfil de dissolução intermediário.

Os parâmetros K , $t_{50\%}$ e ED , calculados a partir do perfil de dissolução dos produtos estudados (tabela 20), refletiram os resultados acima descritos, destacando os produtos A2 e B entre os demais. Muito embora os valores de K não possam ser utilizados para uma comparação direta, uma vez que os mesmos variam consideravelmente entre os modelos cinéticos, sua importância está no fato de serem empregados no cálculo de $t_{50\%}$. Este último, entretanto, é de grande valia, na medida em que corresponde ao tempo necessário para que 50 % do fármaco esteja dissolvido. Assim, produtos nos quais a liberação do fármaco é mais rápida apresentam valores mais baixos de $t_{50\%}$, ao contrário daqueles nos

quais a liberação ocorre mais lentamente. Nota-se que, também para este parâmetro, os produtos A2 e B registraram valores próximos e muito baixos (1,71 e 2,31 minutos, respectivamente), adequados às formas farmacêuticas de liberação imediata. Já no caso de A1 e C, os valores de $t_{50\%}$ mostraram-se elevados (cerca de 25 vezes superior se comparados aos dois produtos de melhor desempenho). O produto designado por D apresentou um valor de aproximadamente o dobro daqueles registrados para os dois primeiros, porém, bastante inferior aos produtos A1 e C. Partindo-se dos valores de ED obtidos para cada especialidade farmacêutica, estas afirmações foram novamente comprovadas.

A ED pode ser utilizada, também, para um estudo comparativo mais detalhado entre diferentes formulações através da aplicação de métodos estatísticos para avaliar a existência ou não de diferenças significativas. Assim, no presente trabalho, inicialmente, aplicou-se uma análise de variância (ANOVA) para verificar se os valores obtidos para cada produto apresentavam, estatisticamente, diferenças entre si (tabela 21). Como era de se esperar, em virtude da obtenção de perfis pouco semelhantes na maioria dos casos (figura 4), os resultados indicaram que existem diferenças significativas entre os produtos, em relação à ED.

Em seguida, foram aplicados dois tratamentos estatísticos visando apontar dentre as especialidades farmacêuticas, quais eram aquelas cujos valores de ED não apresentavam diferenças estatisticamente significativas. Os métodos empregados foram o teste de Tukey e o teste da mínima diferença significativa (MDS) que são chamados testes de comparação múltipla, capazes de determinar, após aplicação da ANOVA, quais seriam aqueles considerados semelhantes entre si (BOLTON, 1990).

Os resultados indicaram que os valores de ED são semelhantes apenas nos casos dos produtos A2 e B, tanto no teste de Tukey quanto na MDS (tabela 22). Nenhuma outra semelhança foi encontrada, ou seja, os perfis de dissolução obtidos para cada especialidade farmacêutica, excetuando-se A2 e B, são completamente distintos, o que implica dizer que a liberação do fármaco a partir destas processa-se por intermédio de mecanismos particulares a cada uma.

Um estudo da cinética do processo de dissolução foi também aqui executado, empregando-se os modelos de zero ordem, primeira ordem e o modelo de Higuchi, que foram aplicados à todos os produtos. Através da linearização das curvas de dissolução, tomando-se por base a parte ascendente de cada curva (figuras 5, 6 e 7), foram obtidos os respectivos valores de r e F . Então, observou-se que os modelos mais adequados foram: zero ordem para A1; primeira ordem para A2 e B e Higuchi para C e D (tabela 19).

Considerando-se que os modelos de zero ordem e Higuchi são mais adequados à perfis de dissolução de produtos de liberação lenta, A1, C e D ao enquadrarem-se nestes, indicam, mais uma vez, que a liberação da ampicilina efetua-se de modo inadequado nestas especialidades farmacêuticas. Ao contrário, A2 e B obedecendo ao modelo cinético de primeira ordem, revelaram-se como os mais convenientes, em se tratando de formas farmacêuticas de pronta liberação.

GONZÁLES *et al.* (1995a) utilizaram parâmetros de cinética de dissolução e determinaram a ordem do processo em comprimidos de

ampicilina. Os autores também submeteram os valores de ED à uma análise estatística (ANOVA) para determinar se existia diferença significativa entre os vários produtos analisados e formulações por eles elaboradas. Posteriormente, estes foram avaliados pelo teste da MDS, sendo possível, então, apontar a semelhança entre os produtos e relacionar, a partir dos resultados obtidos, a melhor formulação dentre as produzidas. Este mesmo estudo foi utilizado pelos autores (GONZÁLES *et al.*, 1995b) para avaliar comprimidos de propranolol, tendo sido adotado o termo “equivalência *in vitro*” para designar o tratamento estatístico aplicado.

É interessante notar que a USP XXII (1990), não indica o método espectrofotométrico a ser utilizado na quantificação do fármaco no ensaio de dissolução. Porém, na edição mais recente (USP XXIII, 1995), é indicado um método de análise automatizado no qual ocorre uma reação com a hidroxilamina e, em seguida, leitura à 480 nm. O inconveniente desta técnica está na exigência do equipamento a ser empregado, apesar da maior rapidez com que as análises são executadas. A obtenção dos referidos valores de concentração de ampicilina dissolvida foi aqui possível devido à aplicação do método descrito por SMITH *et al.* (1967) que permite transformar a ampicilina, que apresenta baixa absorção no ultravioleta, em um composto cujo pico de absorção é ao redor de 320 nm (figura 3). Segundo esses autores, a molécula é convertida, mediante degradação ácida, em um intermediário estável: o ácido penicilênico. Porém, as condições de pH, tempo e temperatura de aquecimento, além da concentração do íon cobre, devem ser rigorosamente controladas.

A relação desagregação *versus* dissolução também foi demonstrada (figura 8), uma vez que os produtos com melhor perfil de dissolução foram justamente aqueles nos quais os tempos de desagregação foram mais reduzidos. Ao contrário, perfis de dissolução inadequados foram obtidos para produtos com valores altos de tempo de desagregação (A1 e C). LEVY (1961) indicou que não existe, necessariamente, uma relação entre a desagregação, a dissolução e a biodisponibilidade, porém, caso esta se registre, pode ser explicada, na medida em que a desagregação é condição essencial para que ocorra a dissolução do princípio ativo contido na forma farmacêutica. É necessário que haja desestruturação desta para que, a partir dos grânulos formados, seja processada a dissolução.

É interessante observar que o lote A2 foi resultante da alteração da formulação/processo do lote A1, que se apresentou inadequado em relação à dissolução. Assim, embora a variação no peso médio tenha sido relativamente pequena (de 0,9698 g em A1 e 1,0101 g em A2), foram registradas mudanças consideráveis na dureza (de 152,52 N para 49,47 N), tempo de desagregação (de 32,15 minutos para 5,40 minutos), porcentagem dissolvida no teste de dissolução da Farmacopéia americana (de 19,40 % a 101,78 %), bem como nos parâmetros de cinética de dissolução aqui calculados, como por exemplo $t_{50\%}$ (de 52,25 minutos para 1,71 minutos) e ED (9,23 % para 91,79 %). O modelo que melhor representa o processo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica também foi alterado: de zero ordem, passou a um modelo de primeira ordem. Cabe ressaltar que em A2 denota-se a ausência de revestimento, fato que certamente contribuiu para a melhoria do desempenho da formulação, tornando-a comparável ao produto B, o que foi comprovado pela análise estatística executada.

Na avaliação biofarmacêutica *in vivo* efetuou-se um estudo de bioequivalência entre duas formulações : A2 (produto-teste) e B (produto de referência). O produto B foi escolhido como padrão para este estudo, uma vez que seu perfil de dissolução apresentou-se como o mais destacado, dentre as especialidades estudadas, além dos outros ensaios que apresentaram resultados em conformidade com o estabelecido em compêndios oficiais. Ademais, trata-se de um produto já tradicional e consagrado no mercado farmacêutico brasileiro, o que o torna, naturalmente, candidato à referência. (CODE of federal regulations, 1992; VERNENGO,1993).

Para a execução do ensaio, empregou-se estudo cruzado aleatório ("cross-over"), que permite administrar a todos os voluntários os dois produtos, mediante a implementação de duas fases distintas, após um intervalo de tempo que possibilite a completa eliminação do fármaco presente no organismo ("wash-out"). O período de tempo aqui adotado foi de 48 horas, uma vez que a meia-vida da ampicilina é de $1,3 \pm 0,2$ horas (SHARGEL & YU, 1993). Sendo recomendável um intervalo correspondente à sete meias-vidas do fármaco (BOLTON, 1990), o tempo utilizado foi suficiente para que garantir que parte da ampicilina detectada não corresponda à uma fração administrada na fase anterior, fato este, como é óbvio, de fundamental importância para o sucesso do ensaio (PIDGEN, 1992).

Em cada uma das fases, os voluntários receberam um produto diferente. Assim, se na primeira fase foi administrado A2, na segunda fase este voluntário recebeu o produto B, conforme descrito na tabela 8. Aliás, esta é, segundo BOLTON (1990), uma grande vantagem do estudo

cruzado: cada voluntário constitui seu próprio controle, o que reduz sobremaneira os problemas advindos da variação inter-individual.

Em relação ao conjunto de voluntários participantes, trata-se de um grupo bastante homogêneo que foi selecionado a partir dos internos e do corpo de enfermagem do HU-USP, após enquadrarem-se nos critérios de inclusão e exclusão aqui estabelecidos. Exames laboratoriais também foram realizados previamente para avaliação do seu estado geral.

A ampicilina excretada foi quantificada pelo método espectrofotométrico proposto por SMITH *et al.* (1967) e adaptado à análise de amostras biológicas por ANGELUCCI & BALDIERI (1971).

O método foi utilizado em ensaios de biodisponibilidade e bioequivalência (excreção urinária) por ALI (1981a), ALI(1981b), ALI & FAROUK (1981) e LÓPEZ *et al.* (1991) e comparado ao método microbiológico por ALI *et al.* (1981).

O método espectrofotométrico utilizado baseia-se na absorção em 320 nm (UV) do ácido penicilênico, um intermediário estável da penicilina e seus derivados. Este intermediário pode ser obtido por degradação ácida, sob condições controladas de pH, tempo e temperatura, além da presença de traços de sal de cobre. Nestas condições, a reação ocorre apenas a partir da molécula intacta de ampicilina, não ocorrendo com compostos tais como o ácido 6-aminopenicilânico, compostos com cadeia lateral e produtos de degradação, o que poderia resultar em valores diferentes daqueles correspondentes ao teor de ampicilina da amostra.

ALI *et al.* (1981), realizaram uma comparação entre os métodos espectrofotométrico e microbiológico para análise da ampicilina, visando sua utilização em ensaios de bioequivalência. Sabe-se que o método microbiológico para determinação de antibióticos é bastante específico e adequado. Porém, o custo e o tempo requerido tornam difícil a sua execução, principalmente em estudos de biodisponibilidade. Deste modo, estes autores determinaram o teor de ampicilina na urina de voluntários sadios, em um estudo de bioequivalência entre duas formulações de cápsulas contendo 500 mg do fármaco, demonstrando boa conformidade entre os resultados obtidos através de ambas as técnicas, indicando que a espectrofotometria no UV é adequada para análise de ampicilina nesses estudos.

É importante observar que as análises do teor de ampicilina na urina dos voluntários do presente estudo foi executada no mesmo dia da coleta das amostras. Tal procedimento, embora bastante trabalhoso, é de grande valia, dada a constatação, por ALI & FARAOUK (1981) de que o fármaco é capaz de sofrer degradação, mesmo em amostras congeladas.

A reta de calibração traçada a partir de soluções contendo padrão de ampicilina, nas mesmas condições em que foram executadas as análises de teor do fármaco na urina, indicou, após tratamento estatístico adequado (tabela 24), coeficiente de correlação bastante apropriado (0,9999).

Como parâmetros fundamentais para a avaliação da bioequivalência entre as formulações, foram averiguados a quantidade total de ampicilina excretada na urina (Du_{∞}) e a velocidade máxima de excreção do fármaco

na urina, $(dDu/dt)_{\max}$. Tais parâmetros são adequados para essa finalidade, uma vez que refletem e podem ser relacionados à quantidade absorvida do fármaco (RITCHEL, 1992; SHARGEL & YU, 1993; FAGIOLINO, 1994).

Com relação à quantidade total de ampicilina excretada, os valores obtidos para os produtos A2 e B, foram iguais a 270,15 e 268,03, respectivamente, correspondendo à 54,03% e 53,61% de recuperação do fármaco na urina (tabela 25) e encontram-se de acordo com o relatado na literatura, que, segundo JONES (1977) é de 40 - 60 %.

Os valores de $(dDu/dt)_{\max}$ e de tempo em que a velocidade máxima de excreção ocorre $[(tm)_{\max}]$ foram, respectivamente, iguais a 1,87 horas e 80,98 mg para o produto A2 e 2,15 horas e 73,44 mg para o produto B (tabelas 26 e 27). Para ambos parâmetros é de se destacar os elevados valores de coeficiente de variação encontrados: em A2 de 34,7% $[(tm)_{\max}]$ e 36,7% $[(dDu/dt)_{\max}]$ e para B 34,5% $[(tm)_{\max}]$ e 38,9% $[(dDu/dt)_{\max}]$. Este fato deve-se, provavelmente, a dois fatores distintos: a) a variabilidade inerente à qualquer ensaio biológico e b) a absorção extremamente variável, amplamente relatada na literatura para a ampicilina (JUSKO & LEWIS, 1973; MAYERSOHN & ENDRENYI, 1973; BOLME *et al.*, 1976; ATAY *et al.*, 1991).

Valores elevados de coeficiente de variação também foram registrados para Du_{∞} (tabela 25), que foram de 22,84% e 26,14%, respectivamente, para os produtos A2 e B.

Segundo BALANT & GEX-FABRY (1995), as variações observadas de voluntário para voluntário em ensaios de bioequivalência devem-se,

ainda, a dois outros aspectos: variações registradas de comprimido para comprimido, dentro do mesmo lote do(s) produto(s) testado(s) ou a variação devida ao próprio fármaco ou voluntário. No primeiro caso, podem ocorrer resultados discrepantes para um ou mais indivíduos do estudo, se estes receberem uma unidade do lote que apresente alguma irregularidade em suas características físicas ou físico-químicas. Na segunda hipótese, a variação seria função do próprio voluntário, sendo portanto, de difícil previsão e/ou avaliação. Pode ocorrer ainda, neste caso, que o fármaco seja o responsável pelos resultados pouco uniformes.

Em relação à dispersão nos valores dos parâmetros farmacocinéticos aqui verificada, é possível, então, analisá-la sob esta ótica. Uma vez que a avaliação biofarmacêutica *in vitro* aqui executada não detectou variações indesejáveis nos produtos A2 e B, é pouco provável que o motivo da dispersão seja função da variabilidade intra-lote.

MIDHA & HUBBARD (1995) fazem, inclusive, distinção entre produto altamente variável e fármaco altamente variável. No primeiro caso, trata-se de um problema relativo à formulação e/ou tecnologia empregada na elaboração da forma farmacêutica e que, portanto, representa uma falha por parte do fabricante. No segundo caso, a variação se deve à fatores relacionados ao próprio fármaco e que, então, irá atingir qualquer produto farmacêutico que o contenha.

A presença de “outliers” (voluntários para os quais são obtidos valores discrepantes para um ou mais parâmetros farmacocinéticos) é sempre uma preocupação em estudos de bioequivalência (NISELMAN *et al.*, 1996).

No caso de estudos cruzados, segundo a USP XXIII ed. (1995), o tipo de “outliers” mais importante é (são) aquele(s) voluntário(s) no(s) qual(is) existe uma diferença notável entre a resposta ao produto teste e o produto padrão. Nestas circunstâncias, ainda segundo a Farmacopéia Americana, são duas as causas destes acontecimentos que podem ser creditados às formulações em estudo: (a) uma falha específica da unidade (comprimido, cápsula, etc.) administrada ao voluntário e (b) subpopulação - o voluntário representa um tipo específico de indivíduo no qual a biodisponibilidade dos dois produtos é marcadamente diferente, resultando em bioinequivalência, ao contrário do que ocorreria na maioria da população.

No presente estudo, tomando-se por base o parâmetro Du^∞ , conforme indicado nas figuras 10 e 11, não foram constatados valores discrepantes para os voluntários que pudessem indicar a presença de “outliers”.

Para verificação da existência ou não do chamado efeito de período, ou seja, se houve diferença devido ao fato dos voluntários primeiro receberem o produto A2 e na outra fase o B ou vice-versa, os mesmos foram divididos em dois grupos: grupo I, para aqueles que inicialmente receberam A2 e depois B e grupo II, para o contrário. A diferença registrada para os parâmetros Du^∞ e $(dDu/dt)_{\max}$ dentro destes grupos foi calculada e, submetida à análise estatística pelo teste t, mostrou-se não significativa (tabela 28). Isto equivale dizer que a ordem de tomada dos produtos não influenciou, de modo significativo, os resultados obtidos.

A aplicação de análise paramétrica (teste t) e não paramétrica (Mann-Whitney) tanto para os valores de Du^{∞} como para os valores de $(dDu/dt)_{\max}$ indicou que não existem diferenças significativas entre os dados obtidos para A2 e B (tabela 29). As figuras 9 e 12 indicam a proximidade dos valores de Du^{∞} e $(dDu/dt)_{\max}$, respectivamente, dos produtos A2 e B.

Porém, esse tratamento estatístico, pelo qual se demonstra que não existem diferenças significativas entre os produtos, para os parâmetros farmacocinéticos escolhidos, não é suficiente para indicar a bioequivalência entre dois produtos farmacêuticos. A Divisão de Bioequivalência do “Office of Generic Drugs” da FDA recomenda, ainda, o cálculo do intervalo de confiança (90%) para a razão (ou diferença, no caso de valores logaritmados) entre o produto teste e aquele designado como padrão no estudo (IN VIVO..., 1993).

Segundo o referido órgão, este valor deve estar na faixa de 80 a 120 % para valores não-logaritmados e de 80 a 125 % quando se trata de dados farmacocinéticos que tiveram seus valores transformados em logaritmos.

No presente trabalho, o intervalo de confiança foi calculado para os parâmetros Du^{∞} e $(dDu/dt)_{\max}$, obtendo-se, respectivamente 92 a 116 % e 91 a 132 %, respectivamente (tabela 30). Então, neste caso, o limite superior, para $(dDu/dt)_{\max}$, foi mais elevado que o permitido pela FDA para valores logaritmados. Porém, este fato merece uma discussão mais aprofundada para que se decida acerca da bioequivalência ou não entre as formulações aqui testadas.

Nos últimos anos tem sido grande a discussão sobre o tema critérios para avaliação da bioequivalência e grande tem sido também as transformações nesta área. A própria introdução do intervalo de confiança como critério é algo que pode ser considerado recente. Na medida em que as pesquisas aprofundam-se surgem novas constatações. Assim, tem sido ponderado que, no caso de fármacos que apresentam grande variabilidade, os limites do intervalo de confiança devem ser ampliados. Considera-se um fármaco com alta variabilidade aquele cujo coeficiente de variação residual, para determinado parâmetro farmacocinético, exceda a 30 %. A ampicilina é justamente um exemplo: sua absorção é bastante variável, o que foi constatado por um grande número de autores (JUSKO & LEWIS, 1973; MAYERSOHN & ENDRENYI, 1973; BOLME *et al.*, 1976; ATAY *et al.*, 1991).

Os valores de CV_{ANOVA} aqui obtidos foram de 15,12% e 31,42% para Du^{∞} e $(dDu/dt)_{max}$, respectivamente. Neste último, os valores ultrapassam à 30 %, valor a partir do qual o fármaco é considerado de alta variabilidade. Cabe ressaltar que foi exatamente para esse parâmetro que aqui se registrou um limite superior do intervalo de confiança acima do recomendado pela FDA.

PABST & JAEGER (1990) discutiram que, para substâncias nas quais existe elevada variabilidade nos dados farmacocinéticos, são necessários limites maiores para o IC. Os autores também afirmam que caso esse limite situar-se parcialmente no trecho de aceitação (quando apenas um dos “lados” corresponde ao valor permitido), não é possível concluir pela bioequivalência ou bioinequivalência entre as formulações. Entretanto, se o mesmo encontrar-se totalmente fora da faixa de aceitação

(ambos os “lados”), a bioinequivalência deve ser considerada. Ainda segundo estes pesquisadores, para alguns antibióticos, é possível considerar um IC para apenas “um lado”, o que corresponderia aos limites de 80% - ∞ .

É importante lembrar, também, a variabilidade a que estão sujeitos os parâmetros farmacocinéticos indicativos da velocidade de absorção. Quando se trabalha com níveis sanguíneos do fármaco, obtêm-se C_{max} e t_{max} que são, então, tradicionalmente utilizados para avaliar a velocidade do processo. Porém, nos últimos anos tem-se questionado qual parâmetro seria mais adequado à esta tarefa, uma vez que estes são dependentes do esquema de amostragem adotado no estudo, além de sua maior variabilidade (STEINJANS et al., 1992; BLUME & MIDHA, 1993; TUCKER et al., 1995). No caso de níveis urinários, estas afirmações são igualmente válidas, porém, deve-se ressaltar que amostragens em curtos períodos de tempo (intervalos de apenas 15 minutos, por exemplo) é ainda mais difícil em se tratando deste líquido biológico (SMITH & YAKATAN, 1979).

Essa situação tem levado vários pesquisadores a questionarem até que ponto é necessária a inclusão desse parâmetro na avaliação da bioequivalência entre formulações (BLUME & MIDHA, 1993) e, reverem o próprio conceito de bioequivalência, que passaria a relacionar-se às diferenças na eficácia clínica entre os produtos, não mais contemplando a velocidade de absorção do fármaco (MIDHA & HUBBARD, 1995).

Nos casos em que é imprescindível a avaliação de parâmetros relativos à velocidade, tem sido sugerido uma ampliação do IC, que

deveria ser, então, de 70 à 143% para C_{max} (PABST & JAEGER, 1990; STEINIJANS et al. , 1992; FAGIOLINO, 1994).

Portanto, analisando-se todos esses aspectos, é possível afirmar que os produtos A2 e B são, de acordo com normas internacionalmente aceitas, bioequivalentes. Isto implica dizer que os mesmos são intercambiáveis, uma vez que não apresentam diferenças inaceitáveis, tanto para a quantidade absorvida, como para a velocidade com que ocorre o processo.

Vale salientar que os resultados aqui obtidos e as conclusões destes oriundas são válidas para as formulações testadas, ou mais especificamente para os lotes utilizados no estudo. Qualquer modificação, tanto na composição, quanto na tecnologia empregada na manufatura destas especialidades farmacêuticas certamente implicará em alterações no quadro aqui visualizado. Assim, é possível melhorar consideravelmente formulações que apresentem problemas como aqueles aqui detectados através de um trabalho adequado de otimização e/ou revisão dos processos tecnológicos, baseando-se, principalmente, no perfil de dissolução.

7- CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados aqui obtidos, podem ser enumeradas as seguintes conclusões:

1. Na caracterização física e físico-química dos produtos estudados, foram detectadas falhas em relação às especificações farmacopéicas no peso médio do produto D e no teor de ampicilina de A1.
2. Os produtos designados por A1 e C foram reprovados no ensaio de dissolução preconizado pela Farmacopéia americana, apresentando valores muito baixos de porcentagem dissolvida, o que pode ser explicado pelo elevado tempo de desagregação obtido para os mesmos.
3. O estudo da cinética de dissolução das especialidades farmacêuticas indicou que os modelos mais adequados foram: primeira ordem para os produtos A2 e B; ordem zero para A1 e Higuchi para C e D.
4. Baseando-se nos parâmetros de cinética de dissolução obtidos (K , $t_{50\%}$ e ED), observou-se que A2 e B foram os produtos que melhor liberaram o fármaco. Ao contrário, A1 e C apresentaram perfil de dissolução inadequado, enquanto D demonstrou comportamento intermediário.
5. A análise estatística a que foi submetido o parâmetro ED por intermédio do teste de Tukey e da mínima diferença significativa revelou que os produtos A2 e B não diferem significativamente entre si. Os demais produtos foram considerados estatisticamente diferentes.

6. No ensaio de bioequivalência executado para os produtos A2 e B observou-se, como era de se esperar para a ampicilina, uma grande variabilidade entre os voluntários, indicada pelos elevados coeficientes de variação obtidos.

7. O CV_{ANOVA} obtido para o parâmetro $(dDu/dt)_{max}$ foi de 31,42 %, valor que está acima do limite para o qual se considera que o fármaco apresenta alta variabilidade intra-individual.

8. A variabilidade aqui registrada no ensaio de bioequivalência não pode ser creditada à falhas dos produtos, uma vez que os mesmos foram submetidos à uma avaliação biofarmacêutica *in vitro* na qual não se constatou qualquer irregularidade.

9. O IC obtido para o parâmetro Du_{∞} apresentou-se, dentro dos limites estipulados pela FDA, indicando, então, que os produtos A2 e B são bioequivalentes.

10. Para $(dDu/dt)_{max}$ obteve-se um IC cujo limite superior ultrapassa os valores recomendados. Porém, considerando-se a alta variabilidade da ampicilina, particularmente quando se trata deste parâmetro farmacocinético, a bioequivalência entre os produtos não pode ser desconsiderada.

11. Os produtos A2 e B, de acordo com normas internacionalmente aceitas podem ser considerados bioequivalentes e, portanto, intercambiáveis.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ABDOU, H.M. Dissolution. In: REMINGTON'S pharmaceutical sciences. 19.ed. Easton: Mack, 1995. p.593-604.
2. ADEYEYE, C.M., ROWLEY, J., MADU, D., JAVADI, M., SADNIS, S.S. Evaluation of crystallinity and drug release stability of directly compressed theophylline hydrophilic matrix tablets stored under varied moisture conditions. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.116, p.65-75. 1995.
3. ALI, A.A., FAROUK, A. Comparative studies on the bioavailability of ampicillin anhydrate and trihydrate. Int. J. Pharm., Amsterdam, v. 9, n. 3, p. 239-243, 1981.
4. ALI, H.M. , FAROUK, A. , KHALIL, S.A.H. , EL-NAKEEB, M.A. Correlation between microbiological and chemical assay of ampicillin in bioequivalence studies in man. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.9, n.3, p.233-238, 1981.
5. ALI, H.M. Bioequivalence studies on two brands of bacampicillin. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.9, n.2, p.91-95, 1981a.
6. ALI, H.M. Comparative bioavailability of eight brands of ampicillin. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.7, n.3, p.301-306, 1981b.

7. ALI, H.M. Reduced ampicillin bioavailability following oral coadministration with chloroquine. J. Antimicrob. Chemother., London, v.15, p.781-784, 1985.
8. ALI, H.M., HOMEIDA, M.M.A., EL-ZEIN, I. Effect of ethnic origin on ampicillin bioavailability in healthy sudanese subjects. Br. J. Clin. Pharmacol., London, v.16, p.576-577, 1983.
9. AMMAR, H.O., EL-NAHHAS, S.A., EMARA, L.H., GHORAB, M.M., SALAMA, H.A. Discrepancy among dissolution rates of commercial tablets as a function of the dissolution method. Part 7: Aspirin. Pharmazie, Berlin, v.52, n.2, p.145-149, 1997.
10. AMMAR, H.O., KHALIL, R.M. Discrepancy among dissolution rates of commercial tablets as a function of the dissolution method. Part 6: Rifampicin. Pharmazie, Berlin, v.51, n.3, p.165-168, 1996.
11. AMPERIADOU, A., GEORGARAKIS, M. Controlled release salbutamol sulphate microcapsules prepared by emulsion solvent evaporation technique and study on the release affected parameters. Int. J. Pharm., Amsterdam, v. 115, p. 1-8, 1995.

12. ANDRADE, L., ORTIZ, S., FIRMANI, F., CID, E. Biodisponibilité de trois produits commerciaux d'ampicilline. Ann. Pharm. Fr., Paris, v.36, n.11-12, p.639-644, 1978.
13. ANGELUCCI, L., BALDIERI, M. The spectrophotometric determination of ampicillin in body fluids. J. Pharm. Pharmacol., London, v. 23, p. 471-472, 1971.
14. ARONSON, H. Correction factor for dissolution profile calculations. J. Pharm. Sci., Washington, v. 82, n.11, p.1190, 1993.
15. ATAY, H., BAKTIR, G. ÖZDEMİR, O. Cumulative urinary excretion of some ampicillin preparations as a parameter of relative bioavailability. Sci Pharm., Viena, v.59, p.233-238, 1991.
16. AUSTIN, K.W.B., MARSHALL, A.C., SMITH, H. Cristaline modifications of ampicillin. Nature, London, v.208, n.5014, p.999-1000, 1965.
17. BALANT, L.P. GEX-FABRY, M. Possible decision rules for bioequivalence of highly variable drugs: issues and perspectives. In: BLUME, H.H., MIDHA, K.K., eds. Bio-International 2: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Stuttgart: Medpharm, 1995. p.135-145.
18. BANKER, G. , ANDERSON, N.R. Tablets. In: LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A. , KANIG, J.L., eds. The theory and practice of industrial pharmacy. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p.293-345.

19. BANKER, G.S. , PECK, G.E. , BAILEY, G. Tablet formulation and design. In: LIEBERMAN, H.A. , LACHMAN, L., eds. Pharmaceutical dosage forms: tablets. New York: Marcel Dekker, 1980. v.1, p.72-86.
20. BARR, R., EADE, N., MARCHANT, C., OLIVER, C., PETSONK, E., STEINMETZ, N. Letter to the editor. Can. Med. Assoc. J., Ottawa, v.107, p. 844, 1972.
21. BHANJA, R.S., PAL, T.K. In vitro diffusion kinetics of salbutamol sulphate from microcapsules coated with Eudragit® RS-100. Boll. Chim. Farm. , Milano, v.128, n.9, p.281-283, 1989.
22. BLAND, M. An introduction to medical statistics. 2.ed. Oxford: Oxford Medical, 1995. p.266-269.
23. BLUME, H.H., MIDHA, K.K. Bio-International 92, Conference on bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. J. Pharm. Sci., Washington, v. 82, n.11, p. 1186-1188, 1993.
24. BOLME, P., DAHLSTROM, B., DIDING, N.A., FLINK, O. PAALZOW, L. Ampicillin: comparison of bioavailability and pharmacokinetics after oral and intravenous administration of three brands. Eur. J. Clin. Pharmacol., Berlin, v.10, p.237-243, 1976.
25. BOLTON, S. Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1990. 646p.

26. BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto 793, 5. ab. 1993. Diário Oficial da União, Brasília, 6. ab. 1993, Seção I, p.4398. [Institue a obrigatoriedade do uso das denominações genéricas dos medicamentos comercializados no país].
27. BRITISH pharmacopoeia 1968. London: Her Majesty's Stationery Office, 1968. p.46-47.
28. BRITISH pharmacopoeia 1993. London: Her Majesty's Stationery Office, 1993. 1281p.
29. BURLINSON, H. Testing of tablets: biopharmaceutical and other considerations. Pharm. J. , London, p.545-547, 1971.
30. CABANA, B. E. Importance of biopharmaceutics and pharmacokinetics in clinical medicine. Arzneim. Forsch., Aulendorf, v.26, n.1a, p.151-158, 1976.
31. CARSTENSEN, J. T. Pharmaceutics of solids and solid dosage forms. New York: John Wiley, 1977. 256p.
32. CID, E.C. Cinética de disolución de medicamentos. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1981. 102 p.
33. CID, E.C. Introducción a la farmacocinética. Washington: OEA, 1982. 114p.

34. CODE of Federal Regulations. Title 21. Part 320 - Bioavailability and bioequivalence requirements. Washington: US Government Printing Office, 1992. p.140-159.
35. COX, D.C. , DOUGLAS, C.C., FURMAN, W.B., KIRCHHOEFER, R.S. , MYRICK, J.W., WELLS, C.E. Guidelines for dissolution testing. Pharm. Technol. Int., Marina Del Rey, v.2, n.1, p.37-49, 1979.
36. DAVIS, S.S. Scientific principles in design of drug dosage formulations. Br. Med. J., London, v.1, p.102- 106, 1972.
37. DEL COMUNE, A.P., STORPIRTIS, S., KEDOR, E.R.M.H. Avaliação da dissolução de formas farmacêuticas sólidas contendo piroxicam e piroxicam- β -ciclodextrina. Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo, São Paulo, v. 32, n.1, p.29-32, 1996.
38. DEL PINO, L. C. H. Estudos de bioequivalência: abordagens clássica e bayesiana. São Paulo, 1993. 133p. [Dissertação de Mestrado, Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo].
39. DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas (DEF97/98). 25.ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1997. 1076p.
40. DiSANTO, A.R. Bioavailability and bioequivalence testing. In: REMINGTON'S pharmaceutical sciences. 19.ed. Easton: Mack, 1995. p. 605-612.

41. DOLERY, C., ed. Therapeutic drugs. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991. v.1, p.A117-A122.
42. DRUG evaluations annual 1991. Milwaukee: American Medical Association. 1991. p.1182-1183.
43. DUGAL, R, BRODEUR, J., CAFLE, G. Ampicillin systemic bioavailability: the influence of dosage forms. J. Clin. Pharmacol., Stamford, v. 14, n. 10, p. 513-519, 1974.
44. EHRNEBO, M., NILSSON, S. , BORÉUS, L. O. Pharmacokinetics of ampicillin and its prodrugs bacampicillin and pivampicillin in man. J. Pharmacokinet. Biopharm., New York, v.7, n.5, p.429-451, 1979.
45. FAGIOLINO, P. La bioequivalencia y sus implicancias. Metodologia de evaluacion. SAFYBI, Buenos Aires, v.34, n.91, p.20-34, 1994.
46. FARMACOPÉIA brasileira 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. pt 1.
47. FERRAZ, H.G. Comprimidos de ibuprofeno: Formulação e avaliação do perfil de dissolução. São Paulo, 1993. 115p. [Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
48. FERRAZ, H.G. Fatores determinantes da dissolução de formas farmacêuticas sólidas. Parte I: formulação e tecnologia de fabricação. Infarma, Brasília, v.3, p. 17-19, 1994.

49. FERRAZ, H.G., PINHO, J.J.R.G., FELSCH, A.S., GUTIERREZ, A.S., KAWAKAMI, C.M., ARAUJO, I.M.A., OLIVEIRA, J.C.M., GERES, K.C. Avaliação da cinética de dissolução de comprimidos de cimetidina comercializados no Brasil. Rev. Farm. Quim., São Paulo, v.29, n.1, p.59, 1997a.
50. FERRAZ, H.G., PINHO, J.J.R.G., FERREIRA, C.A.M., IKEDO, M.T., PEREIRA, R.R., RUSSO, R.M.S., LEISTER, V.B., SOUSA, Z.V.L. Avaliação do perfil de dissolução de especialidades farmacêuticas contendo diclofenaco sódico em comprimidos de liberação entérica. Rev. Farm. Quim., São Paulo, v.29, n.1, p. 60, 1997b.
51. FERRAZ, H.G., PINHO, J.J.R.G., FERREIRA, C.A.M., IKEDO, M.T., PEREIRA, R.R., RUSSO, R.M.S., LEISTER, V.B., SOUSA, Z.V.L. Estudo comparativo do perfil de dissolução de cinco especialidades farmacêuticas contendo diclofenaco potássico disponíveis no mercado nacional. Rev. Farm. Quim., São Paulo, v.29, n.1, p.61, 1997c.
52. FERRAZ, H.G., PINHO, J.J.R.G., UEHARA, A.C., REIS, M.T.L., SIGUENAGA, A..M. Estudo comparativo do perfil de dissolução de comprimidos de cloreto de potássio comercializados no Brasil. Rev. Farm. Quim., São Paulo, v.29, n.1, p.60, 1997d.
53. GAIZER, S.N.B., PINTYE-HÓDI, K., SELMECZI, B. Release kinetics of potassium aspartate in polyvinyl chloride matrix formulation. Pharmazie, Berlin, v.42, p. 463-464, 1987.

54. GIBALDI, M. Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.40-60, 65-79.
55. GONZÁLES, M., RETACO, P., PIZZORNO, M.T., VOLONTÉ, M.G. Effect of manufacturing technology on the dissolution of ampicillin tablets. Boll. Chim. Farm., Milano, v. 134, n.8, p. 448-453, 1995a.
56. GONZÁLES, M., RETACO, P., PIZZORNO, M.T., VOLONTÉ, M.G. Estudio comparativo de disolución de comprimidos de clorhidrato de propranolol. Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo, São Paulo, v.31, n.2, p.79-83, 1995b.
57. GORACINOVA, K., KLISAROVA, L. SIMOV, A. Physical characterization and dissolution properties of verapamil.HCl coprecipitates. Drug Dev. Ind. Pharm., New York, v.21, n.3, p.383-391, 1995.
58. GORDON, R. E. , ROSANSKE, T.W. , FORNNER, D.E. , ANDERSON, N.R. , BANKER, G.S. Granulation technology and tablet characterization. In: LIEBERMAN, H.A. , LACHMAN, L. , SCHWARTZ, J.B., eds. Pharmaceutical dosage forms: tablets. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1990. v.2. p.333.
59. HAGINAKA, J. , WAKAI, J. Liquid chromatographic and determination of ampicillin and its metabolites in human urine by postcolumn alkaline degradation. J. Pharm. Pharmacol., London, v. 39, n.1, p. 5-8, 1987.

60. HAGINAKA, J., WAKAI, J. High performance liquid chromatographic assay of ampicillin, amoxicillin and ciclacillin in serum and urine using a pre-column reaction with 1,2,4-triazole and mercury (II) chloride. Analyst, London, v.110, n.11, p. 1277-1281, 1985.
61. HANSON, W.A. Handbook of dissolution testing. 2.ed. Eugene: Aster, 1991. 159p.
62. HAUCK, W.W., ANDERSON, S. A new statistical procedure for testing equivalence in two group comparative bioavailability trials. J Pharmacokinet. Biopharm., New York, v.12, p.83-91, 1984.
63. HERRIOTT, R.M. A spectrophotometric method for the determination of penicillin. J. Biol. Chem. , Baltimore, v.164, n.2, p.725-736, 1946.
64. HIGUCHI T. , ELOWE N. L. , BUSSE W. L. The Physics of tablet compression V. Studies on aspirin, lactose , lactose-aspirin, and sulfadiazine tablets. J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed., Washington, v.43, n.11 , p.685-689, 1954.
65. HIGUCHI T. , RAO A. N. , BUSSE W. L. , SWINTOSKY V. J. The Physics of tablet. II. The influence of degree of compression on properties of tablets. J. Am. Pharm. Assoc. Sci Ed., Washington, v.42, n.4 , p.194-200, 1953.

66. HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. J. Pharm. Sci., Washington, v.52, n.12, p.1145-1149, 1963.
67. HILL, S.A., JONES, K.H., SEAGER, H., TASKIS, C.B. Dissolution and bioavailability of the anhydrate and trihydrate forms of ampicillin. J. Pharm. Pharmacol., London, v.27, p.594-598, 1975.
68. HOLBROOK, A. Application of a spectrophotometric method to the determination of potassium penicillin, procaine penicillin and benzathine penicillin in pharmaceutical preparations. J. Pharm. Pharmacol., London, v. 10, p. 762-769, 1958.
69. HORVITZ, R.A. More on bioavailability and generics. Drug Ther., New York, v.5, n.9, p.125-130, 1975.
70. IN VIVO bioequivalence guidances. Pharmacopeial Forum, Rockville, v.19, n.4, p.5793-5800, 1993.
71. JACOB, J.T. , PLEIN E.M. Factors affecting dissolution rate of medicaments from tablets II. Effect of binder concentration, tablet hardness, and storage conditions on the dissolution rate of phenobarbital from tablets. J. Pharm. Sci., Washington, v.57, n.5, p.802-805, 1968.

72. JALAL, I., ZMAILY, E., NAJIB, N. Dissolution kinetics of commercially available controlled release theophylline preparations. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.52, p.63-70, 1989.
73. JONES, K.H. Bioavailability of talampicillin. Br. Med. J., London: v. 2, p.232-233, 1977.
74. JUSKO, W.J., DITTER, L.W., DOLUISIO, J.T. Bioavailability monograph: ampicillin. J. Am. Pharm. Assoc., Washington, v.15, n.10, p.591-594, 1975.
75. JUSKO, W.J., LEWIS, G.P. Comparison of ampicillin and hetacillin pharmacokinetics in man. J.Pharm. Sci., Washington, v. 62, n.1, p. 69-76, 1973.
76. KHALIL, S.A.H., MORTADA, L.M., EI-KHAWAS,M. Decreased bioavailability of ampicillin and amoxycillin in presence of kaolin. Int. J. Pharm., Amsterdam, v. 19, p. 233-238, 1984.
77. KLASS, A.A. The unholy alliance. Can. Med. Assoc. J., Ottawa, v.107, p.848, 1972.
78. KOROLKOVAS, A. Análise farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1984. p. 186-187.
79. KOROLKOVAS, A. Dicionário terapêutico Guanabara. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 18.41-18.42.

80. LESLIE, J. Analytical aspects of bioequivalency testing. In : JACKSON, A.J. Generics and bioequivalence. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.69-86.
81. LEVY, G. Comparison of dissolution and absorption rates of different commercial aspirin tablets. J. Pharm. Sci., Washington, v.50, n.5, p.388-392, 1961.
82. LOO, J.C.K., FOLTZ, E.L. WALLICK, H., KWAN, K.C. Pharmacokinetics of pivampicillin and ampicillin in man. Clin. Pharmacol. Ther., St. Louis, v.16, n.1, p.35-43, 1974.
83. LÓPEZ, H.G. , ZARATE, J.V.O. , TÉLLEZ, C.A. Biodisponibilidad relativa de cuatro formas de presentacion de ampicilina trihidrato de 500 mg. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm., Bogotá, v.19, p.15-19, 1991b.
84. LÓPEZ, H.G., HERNÁNDEZ, J.C., DUARTE, C.A. Estudio comparativo de la constante de velocidad de disolución de la ampicilina anhidra y trihidrato en dos formas de presentación. Rev. Col. Ciênc. Quím. Farm., Bogotá, v.19, p.38-43, 1991a.

85. MacCLEOD, C., RABIN, H., RUEDY, J. CARON, M., ZAROWNY, D. DAVIES, R.O. Comparative bioavailability of three brands of ampicillin. Can. Med. Assoc. J., Ottawa, v.107, p.203-209, 1972.
86. MARTINDALE the extra pharmacopoeia. 31. ed. London: Royal Pharmaceutical Society, 1996. p.172-174.
87. MAYERSOHN, M., ENDRENYI, L. Relative bioavailability of commercial ampicillin formulations in man. Can.Med. Assoc. J., Ottawa, v.109, p.989-993, 1973.
88. McGILVERAY, I.J. An overview of problems and progress at Bio-Internationals'89 and '92. In: BLUME, H.H., MIDHA, K.K., eds. Bio-International 2: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Stuttgart: Medpharm, 1995. p.109-115.
89. McGILVERAY, I.J. MIDHA, K.K., SKELLY, J.P., DIGHE, S., DOLUISIO, J.T., FRENCH, I.W., KARIM, A., BURFORD, R. Consensus report from "Bio-Internationals'89": issues in the evaluation of bioavailability data. J. Pharm. Sci., Washington, v.79, n.10, p.945-946,1990.
90. McGINITY, J. W. Aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms. New York: Marcel Dekker, 1989. 409p.

91. MENDES, G.B.B., FRANCO, L.M., MORENO, R.A., FERNANDES, A.G., MUSCARÁ, M.N., DeNUCCI, G. Comparative bioavailability of two suspension formulations of potassium diclofenac in healthy male volunteers. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther., Munich, v.32, n.3, p.131-135, 1994.
92. MERCK index : an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 12. ed. Whitehouse Station, 1996. p.99.
93. MIDHA, K.K., HUBBARD, J.W. Aims and consequences of bioequivalence studies. In: BLUME, H.H., MIDHA, K.K., eds. Bio-International 2: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Stuttgart: Medpharm, 1995. p.29-34.
94. MIDHA, K.K., HUBBARD, J.W., McKAY, G., RAWSON, M., SCHWEDE, R. Stereoselectivity in bioequivalence studies of nortriptyline. J. Pharm. Sci., Washington, v.84, n.10, p.1265-1266, 1995.
95. MUSCARÁ, M.N., DeNUCCI, G. Bioavailability of four pharmaceutical formulations of metronidazole tested on normal healthy volunteers. Braz. J. Med. Biol. Res., Ribeirão Preto, v.24, n.12, p.1251-1260, 1991.
96. MUTSCHLER, E., DERENDORF, H. Drug actions. Basic principle and therapeutic aspects. Stuttgart: Medpharm Scientific, 1995. p. 527.

97. NAJIB, JALAL, I. Correlation between dissolution and desintegration rate constants for acetaminaphen tablets. Int. J. Pharm., Amsterdam, v. 44, n. 1-3, p. 43-47, 1988.
98. NIKOLIC, L., DJURIC, Z., JOVANOVIC, M. Influence of *in vitro* test conditions on release of aspirin from commercial tablets. J. Pharm. Sci., Washington, v.81, n.4, p. 386-391, 1992.
99. NISELMAN, A.V., GARCIA BEN, M., RUBIO, M. C. Tratamiento de outliers en bioequivalencia. SAFYBI, Buenos Aires, v.35, n.95, p.32-41, 1996.
100. OGUNBONA, F.A., AKANNI, A.O. Comparative bioavailability studies on some brands of ampicillin capsules. Pharmazie, Berlin, v.40, n.7, p.479, 1985.
101. PABST, G., JAEGER, H. Review of methods and criteria for the evaluation of bioequivalence studies. Eur. J. Clin. Pharmacol., Berlin, v.38, p.5-10, 1990.
102. PARROT, E.L. Compression. In: LIEBERMAN, H.A. , LACHMAN, L. , SCHWARTZ, J.B., eds. Pharmaceutical dosage forms: tablets. New York: Marcel Dekker, 1990. v.2, p.201-243.
103. PIDGEN, A.W. Statistical aspects of bioequivalence - a review. Xenobiotica, London, v.22, n.7, p.881-893, 1992.

104. PIJCK, J., SOEP, H., FRAUX, J.L. In vivo comparison of two galenic forms of ampicillin trihydrate. Chemotherapy, Basel, v.21, n.1, p.11-18, 1975.
105. PLAVSIC, F. WOLF-COPORDA, A., VRHOVAC, B. Absolute bioavailability and pharmacokinetics of four ampicillin preparations from two bioequivalence studies in healthy volunteers. Acta Pharm. Jugosl. Zagreb, v.39, p.53-61, 1989.
106. POOLE, J.W., BAHAL, C.K. Dissolution behavior and solubility of anhydrous and trihydrate forms of ampicillin. J. Pharm. Sci., Washington, v.57, n.11, p.1945-1948, 1968.
107. POOLE, J.W., OWEN, G., SILVERIO, J. FREYHOLF, J.N., ROSENMAN, S.B. Physicochemical factors influencing the absorption of the anhydrous and trihydrate forms of ampicillin. Curr. Ther. Res., Tenafly, v.10, n.6, p.292-303, 1968.
108. REPORT of the Ad Hoc Committee on Drug Product Selection of the Academy of General Practice of Pharmacy and the Academy of Pharmaceutical Sciences. J. Am. Pharm. Assoc., Washington, v. NS13, n.6, p. 278-280, 1973.
109. RITSCHER, W.A. Bioavailability of peroral dosage forms. Boll. Chim. Farm., Milano, v.112, p.137-163, 1973
110. RITSCHER, W.A. Handbook of basic pharmacokinetics. 4.ed. Hamilton: Drug Intelligence, 1992. 588 p.

111. RITSCHHELL, W.A. Comparative bioavailability (Letter to the editor). Can. Med. Assoc. J., Ottawa, v.107, p.843, 1972.
112. ROZENCWEIG, M., STAQUET, M., KLASTERSKY, J. Antibacterial activity and pharmacokinetics of bacampicillin and ampicillin. Clin. Pharmacol. Ther., St. Louis, v.19, n.5, p.593-597, 1976.
113. RUBIO, M. Biodisponibilidad de fármacos. II parte. SAFYBI, Buenos Aires, v.33, n.89, p.34-56, 1993.
114. SAKR, A.M., KASSEN, A.A., AZIZ, S.A.A., SHALABY, A.H. Factors affecting physical standards of tablets. Manuf. Chem. Aerosol News, London, v. 43, n.11, p. 38-44, 1972.
115. SANTORO, M.I.R.M., HACKMANN, E.R.M., VELASCO, M.V.R., CONSIGLIERI, V.O., MARTINS, J.L.S., GALLO, M.E., STORPIRTIS, S., SAKUDA, T.M., YAMAMOTO, R.N. Dissolução de medicamentos no Brasil: urgência na padronização. Rev. Bras. Farm., Rio de Janeiro, v.72, n.1, p.11-12, 1991.
116. SEITZ, J.A., FLESSLAND, G.M. Evaluations of the physical properties of compressed tablets I: tablet hardness and friability. J. Pharm. Sci., Washington, v.54, n.9, p.1353-1357, 1965.
117. SENJKOVIC, R., BECIREVIC, M., RUDIC, J. Pharmaceutical availability of papaverine hydrochloride from spray-dried products prepared with cellulose phthalates. Pharmazie, Berlin, v.45, p.749-751, 1990.

118. SERRA, C.H.R., STORPIRTIS, S., CONSIGLIERI, V.O., VELASCO, M.V.R , FERRAZ, H.G. Desenvolvimento de metodologia analítica para avaliação da dissolução de formas farmacêuticas sólidas contendo nimodipina. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE FARMACÊUTICOS, 1. São Paulo, 1995. Resumos. São Paulo, 1995. p.21, Res. FM-084.
119. SHAH, V.P., NOORY, A., NOORY, C., McCULLOUGH, B., CLARKE, S., EVERETT, R., NAVIASKY, H., SRINIVASAN, B.N. FORTMAN, D, SKELLY, J.P. In vitro dissolution of sparingly water-soluble drug dosage forms Int. J. Pharm., Amsterdam, v.125, p.99-106, 1995.
120. SHARGEL, L., YU, A.B.C. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 3.ed. East Norwalk: Prentice-Hall International, 1993. 625p.
121. SINDICATO das indústrias de produtos farmacêuticos no Estado de São Paulo (SINDUSFARM) - Normas recomendadas para a fabricação e a inspeção da qualidade dos medicamentos. São Paulo, 1995. 88p.
122. SITTIG, M. Pharmaceutical manufacturing encyclopedia. 2. ed. Park Ridge: Noyes Data, 1988. p.796-798.
123. SMITH, J.W.G. , DE GREY, G.E., PATEL, V.J. The spectrophotometric determination of ampicilin. Analyst, London, v.92, p.247-252, 1967.

124. SMITH, R. V., YAKATAN, G.J. Bioavailability standards for pharmaceutical products. In: COOPER, M. S., ed. Quality control in the pharmaceutical industry. New York: Academic Press, 1979. v.3, p. 213-233.

125. STAVCHANSKY, S.A. , McGINITY, J.W. Bioavailability in tablet technology. In: LIEBERMAN, H.A. , LACHMAN, L. , SCHWARTZ, J. B., eds. Pharmaceutical dosage forms: tablets. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1990. v.2, p.392-569.

126. STEINIJANS, V.W., HAUSCHKE, D., JONKMAN, J.H.G. Controversies in bioequivalence studies. Clin. Pharmacokinet., Auckland, v.22, n.4, p.247-253, 1992.

127. STOCK, F.G. The spectrophotometric estimation of total penicillins by conversion to penicillenic acid and the importance of copper in controlling the reaction. Analyst, London, v.79, p. 662-670, 1954.

128. STORPIRTIS, S. Fundamentos científicos e conceitos utilizados em farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. In: SIMPÓSIO BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS, 1. São Paulo, 1994. Trabalhos. São Paulo, FCF-USP, 1994. p.1-11.

129. STORPIRTIS, S., CONSIGLIERI, V.O. Aspectos fundamentais para o planejamento e a execução dos estudos de biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo, São Paulo, v.31, n.2, p.63-70, 1995.

130. STORPIRTIS, S., PEREIRA, S.R., DIAS, S.R.A., SOUZA, E.M., LOZANO, S.R., CONSIGLIERI, V.O., FERRAZ, H.G., VELASCO, M.V.R. Avaliação biofarmacêutica in vitro de comprimidos de aminofilina do mercado nacional. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE FARMACÊUTICOS, 1. São Paulo, 1995. Resumos. São Paulo, 1995. p.19, Res. FM-075.

131. TINGSTAD, J.E. Dissolution rate testing for the optimization of formulations and routine control. Pharm. Ind., Aulendorf, v.40, n.7, p.751-757, 1978.

132. TUCKER, G.T., ROSTAMI-HODJEGAN, A. JACKSON, P.R. Bioequivalence - a measure of therapeutic equivalence? In: BLUME, H.H., MIDHA, K.K., eds. Bio-International 2: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Stuttgart: Medpharm, 1995. p.35-43.

133. TUNCEL, T., BERGISADI, N., AKIN, L., ÖTÜK, G., KUSCU, I. In vitro and in vivo studies on microcapsules and tableted microcapsules of cephadrine. Pharmazie, Berlin, v.51, n.3, p.168-171, 1996.

134. UNITED States pharmacopeia. 18.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1970.

135. UNITED States pharmacopeia. 22.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1990.

136. UNITED States pharmacopeia. 23.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995.
137. VELASCO-DE-PAOLA, M.V.R., SERRA, C.H.R., LAIÑO, M.L.C.L., NERY, M.M.F., FERREIRA, C., STORPIRTIS, S. Avaliação "in vitro" de especialidades farmacêuticas de ação prolongada contendo teofilina. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE FARMACÊUTICOS, 1. São Paulo, 1995. Resumos. São Paulo, 1995. p.22, Res. FM-086.
138. VERGIN, H., KIKUTA, C., MASCHER, H., METZ, R. Pharmacokinetics and bioavailability of different formulations of aciclovir. Arzneim. Forsch., Aulendorf, v. 45, n.4, p. 508-515, 1995.
139. VERNENGO, M. Elementos tecnicos de uma política de medicamentos genéricos. Washington: OPAS/OMS, s.d. 44p.
140. VILA JATO, J. L., CARRO, R.C., PEREZ-LANZAC, J.C.L. Estudio en el hombre de la excrecion urinaria de ampicilina en cuatro formas de dosificacion. Farmaco, Milano, v.28, n.1, p.49-63, 1973.
141. WAGNER, J.G. Biopharmaceutics. 15. Desintegration of dosage forms in vitro and in vivo part V. Drug Intell. Clin. Pharm., Cincinnati, v.3, n.12, p.357-363, 1969.
142. WAGNER, J.G. Biopharmaceutics: absorption aspects. J. Pharm. Sci., 'Washington, v. 50, p. 359-387, 1961.

143. WEAVER, W.J., RESCHKE, R.F. Spectrophotometric determination of sodium 2,6-dimethoxyphenyl penicillin monohydrate (methicillin). J.Pharm. Sci. , Washington, v. 52, n. 4, p. 362-364, 1963.
144. WELLING, P.G., HUANG, H., KOCH, P.A., CRAIG, W.A., MADSEN, P.O. Bioavailability of ampicillin and amoxicillin in fasted and nonfasted subjects. J. Pharm. Sci, Washington, v.66, n.4, p.549-552, 1977.
145. WESTLAKE, W.J. Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. J.Pharm. Sci, Washington, v.61, n.8, 1972, p.1340-1341.
146. WESTLAKE, W.J. Bioavailability and bioequivalence of pharmaceutical formulations. In: PEACE, K.E., ed. Biopharmaceutical statistics for drug development. New York: Marcel Dekker, 1988.p.329-352.
147. WESTLAKE, W.J. Use of statistical methods in evaluation of in vivo performance of dosege forms. J.Pharm. Sci, Washington, v.62, n.10, p.1579-1589, 1973.
148. WHO draft guideline on marketing authorization requirements. Genevra: Word Health Organization, 1993. 26p.

149. WHYATT, P.L., SLYWKA, G.W.A., MELIKIAN, A.P., MEYER, M.C.
Bioavailability of 17 ampicillin products. J.Pharm. Sci. ,
Washington, v.65, n.5, p.652-656, 1976.
150. YUGUE, R. T., FERRAZ, H.G., DEL COMUNE, A.P., YUGUE, V.S.C.,
FERNANDES, E., STORPIRTIS, S. Perfil de dissolução do
cloridrato de diltiazem a partir de formas farmacêuticas sólidas de
ação prolongada comercializadas no Brasil. Rev. Farm. Bioquim.
Univ. São Paulo, São Paulo, v.32, n.2, p.77-80, 1996.

RESUMO

A ampicilina é um antibiótico semi-sintético, derivado da penicilina, que exhibe amplo espectro de ação, sendo largamente comercializada no Brasil, onde são encontrados cerca de doze produtos sob a forma de comprimidos. O presente trabalho teve como propósito avaliar, do ponto de vista biofarmacêutico, quatro marcas comerciais (A, B, C e D) de comprimidos de ampicilina 500 mg, sendo que, para um dos laboratórios foram analisados dois lotes diferentes (A1 e A2).

Foram executadas análises físicas e físico-químicas *in vitro* (aspecto, variação de peso, diâmetro, espessura e dureza, friabilidade, tempo de desagregação, teste e perfil de dissolução e teor de ampicilina), com a finalidade de detectar-se possíveis falhas em relação à formulação e/ou tecnologia utilizada na fabricação dos produtos. Executou-se, também, um estudo de bioequivalência entre as formulações A2 e B, a fim de se verificar se ambas podem ser consideradas intercambiáveis. Para tanto, realizou-se um estudo cruzado aleatório em dois períodos, utilizando-se dezesseis voluntários sadios, sendo o fármaco quantificado na urina pelo método espectrofotométrico descrito inicialmente por SMITH *et al.* (1967). Os parâmetros farmacocinéticos avaliados foram a quantidade total de ampicilina excretada na urina (Du^{∞}) e a velocidade máxima de excreção $[(dDu/dt)_{max}]$.

Os resultados das análises físicas e físico-químicas indicaram que o produto A1 apresentou diversas falhas, sendo estas constatadas, também, para C e D. Ao contrário, A2 e B não registraram qualquer discrepância. Na avaliação da bioequivalência entre as formulações A2 e B, obteve-se

um intervalo de confiança de 93 a 110% para Du^∞ e 91 a 132% para $(dDu/dt)_{\max}$. De acordo com as normas internacionalmente aceitas é possível concluir que as formulações podem ser consideradas bioequivalentes e, portanto, intercambiáveis.

ABSTRACT

Ampicillin is a semi-synthetic penicillin-derived antibiotic that has a broad action spectrum. In Brazil, where it is largely marketed, about twelve different tablets brands can be found. The aim of the present work was to evaluate from the biopharmaceutic point of view four ampicillin 500mg-tablet brands (A, B, C and D). Two different A-brand lots (A1 and A2) were analyzed.

Physical and *in vitro* physical-chemical analysis (aspect, weigh variation, diameter, thickness and hardness, friability, disintegration time, dissolution test and profile and ampicillin content) were carried out in order to detect possible manufacturing failures as to formulation and/or technology used. A bioequivalence study between A2 and B was also carried out in order to check if both of them could be interchangeable. For such an aleatory two-period cross-over study was done by quantifying through spectrophotometry (SMITH *et al.*, 1967) the content of ampicillin in sixteen healthy volunteers'urine. The total ampicillin amount excreted in urine (Du^{∞}) and maximum rate of excretion $[(dDu/dt)_{max}]$ were taken as pharmacokinetics parameters.

The physical and physical-chemical analyses results indicated critical failures in A1 brand. Similarly several failures were also detected in C and D. Brands A2 and B instead showed no discrepancies.

Confidence intervals of 93 to 110% for Du^{∞} and 91 to 132% for $(dDu/dt)_{\max}$ were found through bioequivalence evaluation between A2 and B formulations. According to international accepted standards both the formulations can be considered bioequivalent, therefore interchangeable.