

Avaliação da eficiência de dissolução e do fator de similaridade f_2 na comparação de perfis de dissolução *in vitro**

Evaluation of dissolution efficiency and similarity factor f_2 for the comparison of dissolution profiles *in vitro*

Cláudia M. B. Andrade¹, Luciane C. Mylius², Neila M. Silva³, Martin Steppe⁴,
Virna J.A. Schuck⁵, Elfrides E.S. Shapoval⁴ & Teresa Dalla Costa⁶

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi avaliar os resultados da comparação de perfis de dissolução de diferentes formulações contendo amoxicilina, eritromicina ou sulfametoxazol, obtidos através de dois métodos diferentes, eficiência de dissolução (ED%) e fator de similaridade (f_2), e correlacioná-los com a bioequivalência entre as mesmas. Foi possível concluir que em todos os casos os resultados encontrados com o f_2 concordam com os obtidos através da ED%. No entanto, a correlação da similaridade entre perfis de dissolução com a bioequivalência entre duas formulações nem sempre foi possível, pois a bioequivalência depende, além da dissolução da forma farmacêutica, das características de solubilidade e permeabilidade do fármaco em questão.

PALAVRAS-CHAVE - Eficiência de dissolução, fator de similaridade, dissolução, bioequivalência.

SUMMARY - The aim of this study was to compare the parameters dissolution efficiency (ED%) and similarity factor (f_2) used to compare the dissolution profiles of different formulations of amoxycillin, erythromycin and sulphamethoxazole, and to correlate these results with the bioequivalence between the reference and test formulations. The results lead to the conclusion that both parameters gave equivalent indications about the similarity between the drug dissolution profiles compared for all the situations. However, the correlation between the similarity of the dissolution profiles and the bioequivalence of the formulations was not always achieved because the bioavailability depends not only on the dissolution characteristics of the drug formulation but also on the solubility and permeability of the drug under investigation.

KEYWORDS - Dissolution efficiency, similarity factor, dissolution, bioequivalence.

INTRODUÇÃO

A absorção de fármacos, após administração por via oral, depende da liberação do mesmo a partir da forma farmacêutica, sua dissolução sob condições fisiológicas e sua permeabilidade no trato gastrointestinal (Yuksel et al., 2000). Desse modo, a dissolução e a permeabilidade dos fármacos são parâmetros fundamentais para o controle da absorção dos mesmos e, conseqüentemente, para a resposta clínica. O sistema de classificação biofarmacêutico (SCB), estabelecido por Amidon e colaboradores (1995) com o intuito de auxiliar a indústria farmacêutica na solicitação de isenção dos ensaios de bioequivalência para um determinado medicamento baseando-se em testes de dissolução *in vitro*, agrupa os fármacos de acordo com suas propriedades de solubilidade e permeabilidade na mucosa gastrointestinal. Os grupos do SCB são: Grupo I – fármacos altamente solúveis e altamente permeáveis; Grupo II – fármacos pouco solúveis e altamente permeáveis; Grupo III – fármacos altamente solúveis e com baixa permeabilidade e Grupo IV – fármacos pouco solúveis e pouco permeáveis.

Os testes de dissolução proporcionam uma avaliação *in vitro* da razão e extensão de liberação do fármaco e podem ser utilizados como uma prerrogativa para estudos de bioequivalência *in vivo* entre

formulações teste e referência (Liu et al., 1997). Para avaliar a correlação *in vitro-in vivo* (IVIVC) de formas farmacêuticas de liberação imediata e prolongada, faz-se a comparação entre as curvas de dissolução *in vitro* e as curvas de absorção *in vivo* (Emara et al., 2000). Na presença de IVIVC, as especificações de dissolução são utilizadas para determinar a biodisponibilidade do fármaco e podem ser usadas como substituto dos estudos de bioequivalência em humanos (Elkoshi, 1999), ou para proporcionar uma redução no número de estudos clínicos (Dressman et al., 1998). De acordo com o SCB a possibilidade de obtenção de IVIVC para medicamentos de liberação imediata depende do grupo ao qual o fármaco pertence. Para os fármacos do grupo I, haverá IVIVC se a velocidade de dissolução for mais lenta que a velocidade de esvaziamento gástrico, caso contrário, será limitada ou inexistente, para os fármacos do grupo II a IVIVC é esperada se a velocidade de dissolução *in vitro* for similar à *in vivo*, para os do grupo III a permeabilidade é o fator limitante da absorção e a IVIVC é limitada ou inexistente e para o grupo IV a IVIVC é limitada ou inexistente (Amidon et al., 1995).

Os testes de dissolução constituem, ainda, um método padronizado usado para garantir a qualidade lote-a-lote de produtos farmacêuticos (Löbenberg et al., 2000), para assegurar a estabilidade e a

Recebido em XX/2000

*Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre (RS), 90.610-000

¹Acadêmica do Curso de Farmácia/UFRGS (claudiamba@zipmail.com.br), ²Professora de Parasitologia da Faculdade de Farmácia/UFRGS,

³Professora de Farmacologia da Faculdade de Farmácia/UFRGS, ⁴Professor de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia/UFRGS, ⁵Faculdade de Farmácia/UFRGS, ⁶Professora de Farmacocinética da Faculdade de Farmácia/UFRGS (teresadc@farmacia.ufrgs.br)

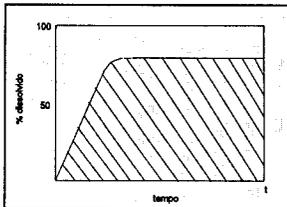


FIG. 1 - Perfil de dissolução por tempo.

$$ED\% = \frac{\int_0^t y \cdot dt}{y_{100} \cdot t} \cdot 100$$

FIG. 2 - Equação para o cálculo da Eficiência de Dissolução (ED%), onde y é o percentual dissolvido e y_{100} representa 100% de dissolução.

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-1/2} \cdot 100 \right\}$$

FIG. 3 - Equação para o cálculo de f_2 , onde R_i é o percentual dissolvido da formulação referência até o tempo t , T_i é o percentual dissolvido da formulação teste até o mesmo tempo t e n é o número de amostras coletadas entre o tempo zero e o tempo t (O'Hara et al., 1998).

manutenção da qualidade e da performance após alterações de formulação ou no processo de produção e, também, no desenvolvimento de novos medicamentos (Yuksel et al., 2000; Pillay e Fassihi, 1999).

Os métodos para comparar perfis de dissolução propostos na literatura podem ser classificados em três grupos:

I - Métodos baseados na análise de variância (ANOVA): os quais não levam em consideração o formato global da curva representativa dos perfis de dissolução. Nestes métodos, faz-se a comparação entre as médias dos percentuais dissolvidos, para cada formulação (referência e testes), a cada tempo de coleta de amostra, os quais são comparados estatisticamente, ponto a ponto (Tsong et al., 1996; O'Hara et al., 1997; Polli et al., 1997; O'Hara et al., 1998; Tang e Gan, 1998; Yuksel et al., 2000). Segundo O'Hara e colaboradores (1998), esta metodologia não é mencionada em nenhum dos guias para estudos de dissolução do Food and Drug Administration (FDA).

II - Métodos modelo-dependente: que baseiam-se na descrição matemática dos perfis de dissolução por tempo, sendo utilizados mais para descrição do que para comparação entre estes (Sathe et al., 1996; Polli et al., 1996; O'Hara et al., 1997; Polli et al., 1997; Tang e Gan, 1998; O'Hara et al., 1998; Yuksel et al., 2000).

III - Métodos modelo-independente: os quais incluem o cálculo do tempo médio de dissolução do fármaco (MDT), a partir do perfil de dissolução, do tempo de residência médio (MRT) do fármaco na formulação, determinado a partir de um gráfico da quantidade de fármaco que permanece na forma farmacêutica em função do tempo, ou da área sob a curva de dissolução para os perfis de dissolução do produto teste e referência e a comparação estatística dos mesmos (Podczek, 1993; Moore e Flanner, 1996; Polli et al., 1996; O'Hara et al., 1997; Polli et al., 1997; Tang e Gan, 1998; O'Hara et al., 1998; Yuksel et al., 2000).

Em 1975, Khan e Rhodes propuseram a Eficiência de Dissolução (ED%) como uma maneira de avaliar os perfis de dissolução. Este parâmetro é definido pela medida da área sob a curva de dissolução até um tempo t , expressa como o percentual da área do retângulo descrito por 100% de dissolução no mesmo tempo (Fig. 1).

O cálculo da ED% é realizado utilizando-se a equação representada na Fig. 2.

Este método apresenta algumas vantagens em relação aos demais, como por exemplo, facilitar a comparação de um número grande de formulações e, teoricamente, possibilitar a relação com os dados obtidos *in vivo*, desde que sejam avaliados através da integração da área sob a curva de concentração de maneira similar ao *in vitro*, após deconvolução da mesma (Vaughan e Tucker, 1976).

TABELA I
Diferença média entre dois perfis de dissolução e f_2 calculado (Shah et al., 1998)

	2%	5%	10%	15%	20%
f_2 limite	83	65	50	41	36

Moore e Flanner (1996) descreveram um método modelo-independente que usa índices matemáticos para definir o fator de diferença (f_1), o qual descreve o erro relativo entre dois perfis de dissolução, e o fator de similaridade (f_2), que é uma medida da similaridade em relação ao percentual dissolvido entre duas curvas. Embora o FDA reconheça os dois fatores como adequados para a comparação de perfis de dissolução, a preferência é dada para o f_2 (O'Hara et al., 1998).

O fator de similaridade é definido pela equação mostrada na Fig. 3 (O'Hara et al., 1998).

O fator de similaridade pode ser utilizado quando os dados de dissolução das amostras forem coletados em, no mínimo, três tempos diferentes e o coeficiente de variação (CV) entre os lotes comparados for inferior a 15%. Para o uso das curvas médias de dissolução de doze unidades dos produtos em avaliação, requeridas para utilização do método, o CV a cada tempo de coleta deve ser menor que 20% para os dados de dissolução referentes aos tempos iniciais do teste e menor que 10% para os tempos finais (O'Hara et al., 1998).

O f_2 é igual a 100 quando os dois perfis de dissolução são idênticos e igual a zero quando a dissolução do teste é completamente diferente da dissolução do referência. Assim, o cálculo de f_2 resulta em valores que ficam entre 0 e 100 sendo que, quanto mais alto for seu valor, maior é a similaridade entre os dois perfis (Shah et al., 1998).

Em função da variabilidade existente entre diferentes lotes, os valores de f_2 dificilmente se aproximam ou igualam-se a 100, mesmo quando as curvas de dissolução sejam de amostras de um mesmo lote. Na Tab. I estão mostrados os valores de f_2 esperados quando a diferença entre os perfis de dissolução que estão sendo comparados varia de 2 a 20%. Como pode ser visto, uma diferença de até 10% entre os dados de dissolução referentes a dois lotes de uma mesma formulação é aceitável pois, quando essa diferença é substituída na equação da Fig. 3, o f_2 encontrado é 50 (Shah et al., 1998).

Levando-se em consideração os resultados da Tab. I, a dissolução de uma formulação teste é considerada similar à dissolução de uma formulação referência se o valor de f_2 calculado não for menor que 50 (Shah et al., 1998).

O FDA recomenda o uso do f_2 em guias internacionais conhecidos como SUPAC (Scale Up and Post Approval Changes) (FDA, 1995; FDA, 1997), os quais indicam que a similaridade, determinada por f_2 , en-

tre os perfis de dissolução de uma formulação já aprovada e outra que sofreu algum tipo de modificação é suficiente para que essas alterações sejam aceitas sem a necessidade de nova aprovação ou da realização de novos estudos de bioequivalência. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) passou também a recomendar este método para comparar os dados de dissolução. O FDA e a ANVISA sugerem que dois perfis de dissolução são considerados similares se o f_2 estiver entre 50 e 100.

Embora o f_2 proposto seja de fácil utilização e seu valor não se altere se os resultados do teste e do referência são intercambiados na equação, alguns autores discutem sua validade, alegando a falta de base científica e estatística para sua utilização (Liu et al., 1997). São apontadas como desvantagens do método a impossibilidade de construir-se hipóteses estatísticas para sua avaliação, a impossibilidade de sua aplicação se os tempos de coleta das amostras não forem os mesmos para os perfis de dissolução que se pretende comparar e o fato de se obter um valor que representa a média das diferenças observadas. Além disso, Ju e colaboradores (1997), com base nos resultados de um estudo simulado, concluíram que o f_2 é um método pouco sensível a variações na quantidade dissolvida e tem probabilidade mais baixa de declarar dissimilaridade do que outros métodos utilizados para comparar perfis de dissolução.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os resultados da comparação de perfis de dissolução de diferentes formulações contendo amoxicilina, eritromicina ou sulfametoxazol, obtidos através de dois métodos diferentes, ED% e f_2 , e correlacioná-los com os resultados de estudos de bioequivalência entre as mesmas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realizar este trabalho foram utilizados os resultados dos estudos de bioequivalência desenvolvidos por Schuck (1996) para as cápsulas de amoxicilina (AMX-C), por Steppe (1996) para as suspensões de amoxicilina (AMX-S), por Calil (1991) para os comprimidos revestidos de estearato de eritromicina (ETM) e por Silva (1994) para os comprimidos de sulfametoxazol (SMZ). Neste trabalho, as formulações referência foram denominadas pela letra A para cada fármaco e as formulações teste pelas letras B e C. Desse modo, a formulação referência de comprimidos de sulfametoxazol foi denominada SMZ_A e as formulações teste B e C, de SMZ_B e SMZ_C, respectivamente. Um resumo das metodologias para determinação dos perfis de dissolução e estudos de bioequivalência descritas nestes trabalhos encontram-se a seguir.

Cápsulas de 500 mg de amoxicilina (AMX-C)

Os dados de dissolução *in vitro* das cápsulas de amoxicilina, produzidas por dois laboratórios distintos (A e B), foram retirados de um estudo que avaliou a bioequivalência entre essas formulações (Schuck, 1996).

O teste de dissolução foi realizado em aparelho de células de fluxo DESAGA, a temperatura de 37°C ± 1°C, com HCl 0,1 N como líquido de dissolução. Para o teste utilizou-se 6 cápsulas do laboratório A, referência, e 6 do B, teste. A coleta das amostras

foi efetuada nos tempos 5, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, sendo o tempo zero o momento em que a primeira gota do líquido que partiu da célula de fluxo chegou ao recipiente coletor. A concentração de amoxicilina em cada tempo de coleta para cada cápsula foi determinada pelo método microbiológico por difusão em ágar, conforme especificações farmacopéicas.

Os resultados da ED% foram avaliados estatisticamente por análise da variância (ANOVA), ($\alpha=0,01$).

Para o estudo comparativo da biodisponibilidade das amostras dos dois laboratórios, uma dose única oral das cápsulas de 500mg de amoxicilina foi administrada, em condições padronizadas, a seis adultos saudáveis. O delineamento experimental utilizado foi o crossover completo, no qual todos os indivíduos recebem as diferentes formulações com um intervalo de uma semana entre os períodos. A biodisponibilidade foi avaliada comparando-se pico de concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), tempo de pico de concentração máxima ($T_{m\acute{a}x}$) e área sob a curva de concentração plasmática por tempo (ASC), determinada pelo método trapezoidal. Os valores de ASC e $C_{m\acute{a}x}$ foram avaliados estatisticamente por análise da variância (ANOVA) e os valores de $T_{m\acute{a}x}$ pelo teste de Friedman ($p < 0,05$).

Suspensões extemporâneas de amoxicilina contendo 250mg/5mL (AMX-S)

Os perfis de dissolução das amostras de suspensões de três laboratórios, A, referência, B e C, testes, foram obtidos do estudo realizado por Steppe (1996), para avaliação da biodisponibilidade e bioequivalência destas formulações. Os testes foram realizados em aparelho de célula de fluxo DESAGA, a temperatura de 37°C ± 1°C e empregou-se água como líquido de dissolução. Três amostras de cada laboratório foram ressuspensas e alíquotas de 5mL, equivalentes a 250mg de amoxicilina base, foram transferidas para as células de fluxo. A coleta das amostras foi realizada nos tempos: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, e 120 minutos. As concentrações de amoxicilina presente nas amostras foram determinadas pelo ensaio microbiológico executado de acordo com as especificações farmacopéicas.

A análise da variância (ANOVA) foi empregada para avaliar os resultados da ED% e a significância das diferenças observadas foi determinada pelo teste Tuckey ($\alpha = 0,05$).

A avaliação da biodisponibilidade das suspensões dos laboratórios A, B e C foi realizada em 6 voluntários adultos, sob condições de alimentação padronizadas. O delineamento estatístico do experimento foi realizado segundo quadrado latino, obedecendo-se a intervalos de uma semana entre os experimentos de cada laboratório. Os parâmetros $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ e ASC foram determinados a partir dos perfis de concentração sérica por tempo. A análise estatística para os valores de ASC e $C_{m\acute{a}x}$ foi realizada empregando-se ANOVA e a significância das diferenças observadas foi determinada pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$). Os valores de $T_{m\acute{a}x}$ foram comparados utilizando o teste de Friedman ($p < 0,05$).

Comprimidos revestidos de estearato de eritromicina (ETM)

No teste de dissolução utilizou-se o aparelho de célula de fluxo DESAGA, à temperatura de 37°C ± 1°C e empregou-se, em seqüência, três líquidos de dis-

solução em tempos diferentes: água, 5 minutos; HCl 0,1 N, 60 minutos; e tampão fosfato pH 7,5 até 8 horas após o início do experimento. A coleta das amostras foi efetuada nos tempos: 5, 30, 60, 120, 240, 360 e 480 minutos. Este procedimento foi realizado com comprimidos provenientes de três laboratórios diferentes, A, B e C, e faz parte de um estudo que avaliou a biodisponibilidade e bioequivalência destes produtos (Calil, 1991). O estudo utilizou 11 comprimidos do laboratório A, referência, 16 do laboratório B e 14 do C, testes. Após a coleta das amostras, a concentração de eritromicina foi determinada através do método microbiológico de difusão em ágar, utilizando-se uma curva-padrão.

O comportamento da variável ED% em tampão fosfato pH 7,5 foi avaliado através da análise da variância paramétrica e as diferenças foram localizadas através do teste de Tuckey ($\alpha=0,05$).

Determinou-se a biodisponibilidade dos comprimidos em coelhos saudáveis da raça Nova Zelândia, pesando entre 2,9 e 3,9 kg. Os comprimidos foram administrados a 12 coelhos em experimento seqüencial utilizando desenhos cruzados completos com intervalos de uma semana entre os períodos. Os animais eram mantidos em sala climatizada a 22-25°C, recebendo ração padronizada. Os parâmetros farmacocinéticos calculados foram $C_{máx}$, $T_{máx}$ e ASC de concentração sérica. A comparação entre os parâmetros foi realizada através da análise da variância paramétrica e as diferenças foram localizadas através do teste de Tuckey ($\alpha=0,05$).

Comprimidos de sulfametoxazol (SMZ)

O perfil de dissolução dos comprimidos de três laboratórios diferentes (A, referência; B e C, testes) foi verificado em aparelho de célula de fluxo DESAGA e em aparelho de dissolução com pás (aparato USP 2) (USP 23, 1995), segundo descrito por Silva (1994).

Em aparelho de célula de fluxo, o ensaio foi realizado a 37°C \pm 1°C e com HCl 0,1 N como meio de dissolução. A coleta das amostras foi realizada nos tempos: 2,5, 5, 10, 20, 40, 60, 90 e 120 minutos.

No aparelho USP 2, o teste foi realizado com HCl 0,1 N a 37°C \pm 1°C e agitação por meio de pás a 75 rpm. A coleta das amostras foi realizada nos tempos: 6, 12, 20, 40, 60, 90 e 120 minutos após a introdução do comprimido no meio de dissolução.

A determinação das concentrações de SMZ nas amostras, coletadas dos dois aparelhos, foi realizada por espectrofotometria na região do visível, a 545nm.

A comparação da ED%, calculada para os três laboratórios, foi realizada por análise de variância (ANOVA), ($\alpha=0,05$).

A biodisponibilidade do SMZ, a partir dos comprimidos dos três laboratórios, foi determinada em 6 voluntários adultos, saudáveis, sob condições padronizadas de alimentação. Os comprimidos foram administrados segundo delineamento estatístico tipo quadrado latino, obedecendo-se a intervalos de uma semana entre os experimentos de cada laboratório. De posse dos perfis de biodisponibilidade do SMZ nos diferentes voluntários, os parâmetros farmacocinéticos $C_{máx}$, $T_{máx}$ e ASC foram comparados para as três formulações analisadas. A análise estatística para os valores de ASC e $C_{máx}$ foi realizada empregando-se ANOVA ($p<0,05$), e os valores de $T_{máx}$

foram comparados utilizando-se o teste de Friedman ($p<0,05$).

Os perfis de dissolução das diferentes formulações de cada uma das substâncias mencionadas acima foram comparados através da Eficiência de Dissolução (ED%), aplicando-se a fórmula apresentada na Fig. 2, e do fator de similaridade (f_2), conforme equação descrita na Fig. 3. Para o cálculo de f_2 , foram utilizados os tempos de coleta até que uma das formulações (teste ou referência) atingisse o percentual dissolvido de 85%, mais um tempo de coleta. Esta restrição deve-se ao fato de que quando o platô da curva de dissolução é atingido as diferenças entre as quantidades dissolvidas tornam-se menores, influenciando a magnitude de f_2 (Anderson, 1998).

Comparação entre a ED% e o f_2

Para correlacionar os resultados obtidos com a ED% e o f_2 na avaliação dos perfis de dissolução, construiu-se gráficos das diferenças entre os valores de ED% referentes às formulações referência e teste (determinadas em módulo) em função dos valores de f_2 encontrados para as mesmas formulações.

RESULTADOS

Cápsulas de 500mg de amoxicilina (AMX-C)

A representação gráfica dos perfis de dissolução das cápsulas de amoxicilina dos laboratórios A e B pode ser visualizada na Fig. 4.

Os resultados obtidos para o cálculo da eficiência de dissolução e para o fator de similaridade para as cápsulas de 500mg de amoxicilina podem ser visualizados na Tab. II.

A bioequivalência entre duas formulações distintas só pode ser alcançada quando os parâmetros farmacocinéticos não apresentarem diferença significativa. A diferença entre os valores ASC e $C_{máx}$ dos

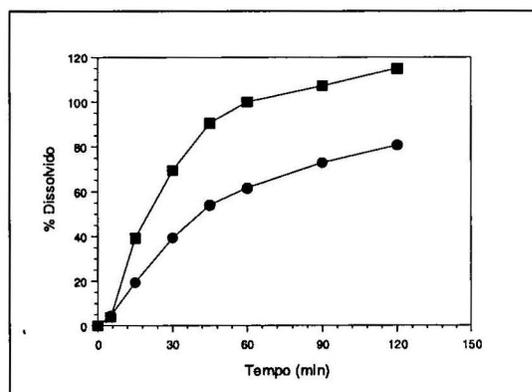


FIG. 4 - Perfis de dissolução das cápsulas de 500mg de amoxicilina dos laboratórios A (I) e B (n), em aparelho de célula de fluxo, utilizando HCl 0,1 N como meio de dissolução (Schuck, 1996).

TABELA II
Eficiência de dissolução (ED%)
e fator de similaridade (f_2)
para as cápsulas de 500mg de amoxicilina

Produto	ED%	f_2
AMX-C _A (ref.)	52,25	-
AMX-C _B	83,57*	29,5 ^a

* significativo para $p<0,01$; ^a calculado utilizando coletas até 45 minutos

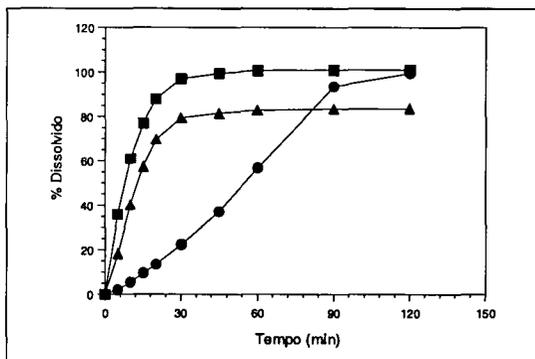


FIG. 5 - Representação gráfica dos perfis de dissolução das amostras de suspensão de amoxicilina de 250mg/5mL, dos laboratórios A (i), B (n) e C (s), utilizando água como líquido de dissolução em aparelho de célula de fluxo (Steppe, 1996).

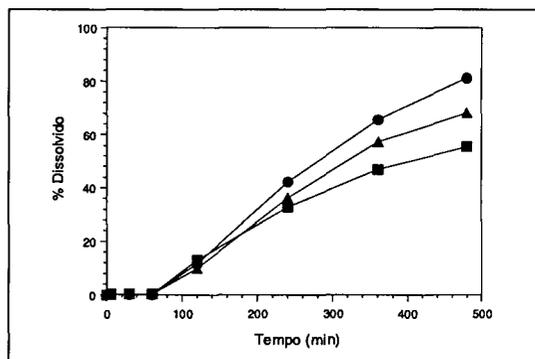


FIG. 6 - Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de eritromicina dos laboratórios A (i), B (n) e C (s), em água (5 minutos), HCl 0,1 N (60 minutos) e tampão fosfato pH 7,5 (8 horas) (Calli, 1991).

laboratórios A e B, quando comparados, é superior ao intervalo de confiança de 20% estabelecido pelo FDA e pela ANVISA. Assim, as cápsulas de amoxicilina de 500 mg de ambos os laboratórios foram consideradas bio-inequivalentes.

Suspensões extemporâneas de amoxicilina contendo 250mg/5mL (AMX-S)

A Fig. 5 ilustra o comportamento de dissolução das amostras de suspensões de amoxicilina de 250mg/5mL.

Os resultados obtidos através do cálculo da ED% e f_2 para as amostras de suspensões dos três laboratórios estão sumarizadas na Tab. III.

A análise dos valores de ASC e $C_{m\acute{a}x}$ indicou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de suspensão do laboratório C em relação às amostras do laboratório A, no entanto, as amostras dos laboratórios A e B não apresentaram diferença significativa com relação a estes parâmetros. Os valores de $T_{m\acute{a}x}$ dos laboratórios A, B e C não apresentaram diferença para um nível de significância de 5%. Face aos resultados obtidos através da comparação dos parâmetros farmacocinéticos, concluiu-se que apenas a formulação do laboratório B foi bioequivalente à formulação do laboratório A.

Comprimidos revestidos de estearato de eritromicina (ETM)

Os perfis de dissolução das amostras de comprimidos revestidos de eritromicina dos laboratórios A, B e C, utilizando três líquidos de dissolução em tempos diferentes, podem ser visualizados na Fig. 6.

Os resultados do cálculo da ED% e f_2 para as amostras de eritromicina dos três laboratórios, em tampão fosfato pH 7,5, podem ser visualizados na Tab. IV.

Até a análise dos parâmetros farmacocinéticos, verificou-se que os laboratórios A e C não diferem estatisticamente em relação à ASC, mas os laboratórios A e B diferiram em relação a esse parâmetro ($p < 0,05$). Em relação à $C_{m\acute{a}x}$, o laboratório A difere dos laboratórios B e C. Os três laboratórios não apresentam diferenças significativas quanto à variável $T_{m\acute{a}x}$ (Mylius, 1996). Concluindo-se, assim,

TABELA III
Eficiência de dissolução (ED%) e fator de similaridade (f_2) das amostras de suspensão de amoxicilina de 250mg/5mL, utilizando água como líquido de dissolução

Produto	ED%	f_2
AMX-S _A (ref.)	54,82	-
AMX-S _B	91,82*	10,0 ^a
AMX-S _C	74,37*	19,8 ^b

* significativo para $p < 0,05$
^a calculado até 30 minutos de dissolução
^b calculado até 90 minutos de dissolução

TABELA IV
Eficiência de dissolução (ED%) e fator de similaridade (f_2) dos comprimidos revestidos de estearato de eritromicina produzidos pelos laboratórios A, B e C, em tampão fosfato pH 7,5

Produto	ED% (tampão fosfato pH 7,5)	f_2 *
ETM _A (ref.)	48,23	-
ETM _B	28,90*	39,0
ETM _C	40,70	53,8

* significativo para $p < 0,05$
^a referente às quantidades dissolvidas apenas em tampão fosfato pH 7,5 até 480 minutos

TABELA V
Eficiência de dissolução (ED%) e fator de similaridade (f_2) para as amostras de comprimidos de sulfametoxazol dos laboratórios A, B e C, utilizando aparelho de célula de fluxo e o aparelho de dissolução USP 2, ambos com HCl 0,1 N como meio de dissolução

Produto	ED		f_2	
	Célula de Fluxo	USP 2	Célula de Fluxo	USP
SMZ _A (ref.)	37,29	65,47	-	-
SMZ _B	13,46*	84,85*	31,80*	20,30*
SMZ _C	3,44*	5,75*	24,70*	12,30*

* significativo para $p < 0,05$
^a valores calculados com os dados de dissolução até 120 minutos
^b valores calculados com os dados de dissolução até 40 minutos
^c valores calculados com os dados de dissolução até 120 minutos

que dos laboratórios B e C não são bioequivalente ao laboratório A.

Comprimidos de sulfametoxazol (SMZ)

A representação gráfica dos perfis de dissolução das amostras de comprimidos contendo sulfametoxazol dos laboratórios A, B e C, com aparelho de célula de fluxo DESAGA e com aparelho de dissolução USP 2, ambos utilizando HCl 0,1 N como meio de dissolução, podem ser visualizados nas Fig. 7 e 8, respectivamente.

Os resultados obtidos com o cálculo da ED% e f_2 para as amostras de comprimidos de sulfametoxazol, dos três laboratórios, nos aparelhos célula de fluxo e USP 2 podem ser observados na Tab. V.

A partir da análise dos parâmetros farmacocinéticos, obtidos após administração das formulações A, B e C, não se constatou diferença significativa na ANOVA para o parâmetro ASC ($p < 0,05$) entre os

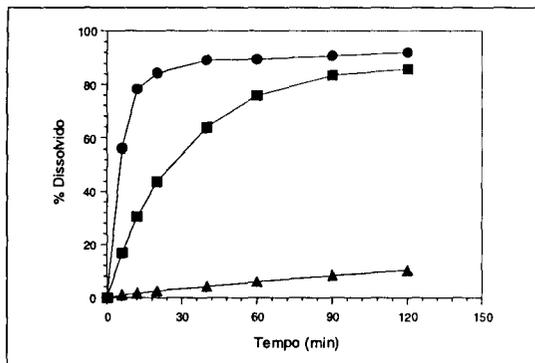


FIG. 7 - Perfis de dissolução das amostras de comprimidos de sulfametoxazol dos laboratórios A (l), B (n) e C (s), em aparelho de célula de fluxo com HCl 0,1 N como meio de dissolução (Silva, 1994).

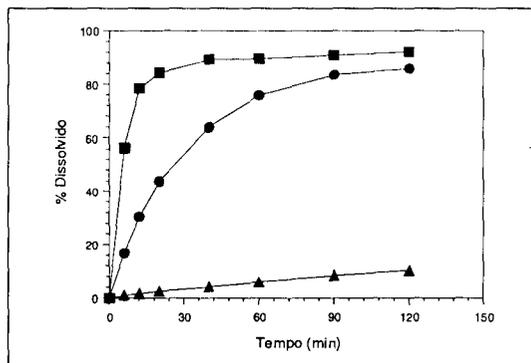


FIG. 8 - Perfis de dissolução das amostras dos comprimidos de sulfametoxazol dos laboratórios A (l), B (n) e C (s), em aparelho de dissolução USP 2, utilizando HCl 0,1 N como líquido de dissolução (Silva, 1994).

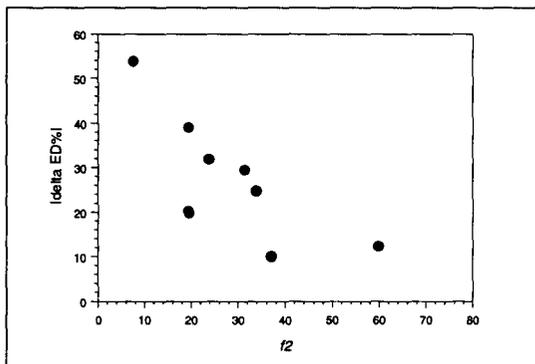


FIG. 9 - Comparação entre as DED% e os valores de f_2 .

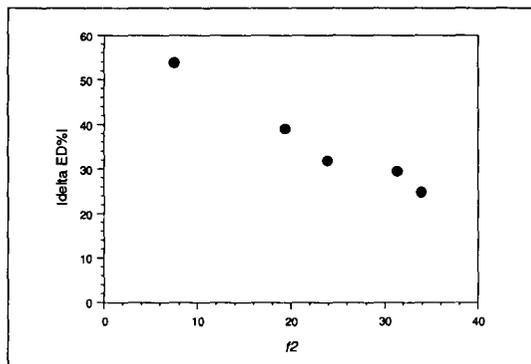


FIG. 10 - Comparação entre as DED% e os valores de f_2 para as formulações sólidas.

três laboratórios. Em relação a $C_{máx}$ os laboratórios B e C não diferiram do laboratório A, e em relação a $T_{máx}$ os laboratórios A e B diferiram entre si ($p < 0,05$). Estes resultados levaram à determinação da bioequivalência entre as formulações dos laboratórios A e C.

Comparação entre ED% e f_2

A Fig. 9 representa a comparação dos valores encontrados para as diferenças entre as ED% versus f_2 , para cada par de perfis de dissolução avaliado, de todas formulações utilizadas. A Fig. 10 representa também a correlação entre ED% e f_2 , mas refere-se somente aos valores obtidos com as formulações sólidas cujo teste de dissolução foi realizado em célula de fluxo. Os valores referentes às suspensões de amoxicilina não foram considerados na Fig. 10 porque o FDA e a ANVISA recomendam o uso do f_2 para formulações sólidas, já os dados referentes à dissolução dos comprimidos de sulfametoxazol em aparelho USP 2 não foram considerados para padronizar o equipamento utilizado nos testes de dissolução.

DISCUSSÃO

Cápsulas de 500mg de amoxicilina (AMX-C)

Na comparação dos perfis de dissolução das cápsulas dos laboratórios A e B, através da ED%, observou-se diferença estatisticamente significativa entre eles (Tab. II). A ED% das cápsulas do laboratório B é significativamente maior que a ED% das cápsulas do laboratório A. Este último, apresentou menor percentagem de amoxicilina dissolvida após os 120 minutos (Fig. 3).

Quando esses perfis de dissolução, foram comparados através do f_2 , o valor obtido foi de 29,5 (Tab. II), indicando ausência de similaridade entre as formulações A e B.

Através desses resultados, pode-se verificar que os dois métodos, ED% e f_2 , mostraram que as cápsulas produzidas pelo laboratório A (referência) e pelo B (teste) não apresentam comportamento similar durante a dissolução.

Quando avaliou-se a equivalência biológica entre as cápsulas dos dois laboratórios, em voluntários adultos, saudáveis, as mesmas mostraram-se bio-inequivalentes. Dessa forma, a conclusão de não similaridade entre os perfis de dissolução das cápsulas dos dois laboratórios, obtida pelos dois métodos, é coerente e prevê a bio-inequivalência entre essas formulações.

Suspensões extemporâneas de amoxicilina contendo 250 mg/5mL (AMX-S)

Os valores do percentual de eficiência de dissolução (ED%), obtidos através da ASC de dissolução das suspensões dos laboratórios A, B e C apresentaram diferença estatisticamente significativa nas condições experimentais realizadas (Tab. III).

Quando os perfis de dissolução das suspensões dos três laboratórios foram comparados através do fator de similaridade (f_2), o valor encontrado para esta variável foi 10, quando os perfis das amostras dos laboratórios A e B foram comparadas, e 19,8 quando a comparação se deu entre as amostras dos laboratórios A e C (Tab. III).

Novamente, os resultados obtidos com os dois métodos equivalem-se, indicando que os perfis de

dissolução dos dois produtos não são similares ao perfil do produto referência.

Quando o comportamento das amostras de suspensão de amoxicilina foi avaliado quanto à equivalência biológica em voluntários, os resultados indicaram que as formulações dos laboratórios A e B são bioequivalentes, nas condições experimentais utilizadas.

A partir desses dados pode-se verificar que as formulações consideradas bioequivalentes são as que apresentaram a maior diferença nos valores de ED% e o menor valor de f_2 quando seus perfis de dissolução foram comparados. Assim, apesar das suspensões dos três laboratórios apresentarem comportamento diferente durante o teste de dissolução, o que foi constatado através de dois métodos, esses dados não apresentam correlação com suas respectivas biodisponibilidades.

Comparando-se os resultados obtidos para as cápsulas e suspensões contendo amoxicilina, em relação à possibilidade de correlacionar a similaridade entre os perfis de dissolução com a bioequivalência entre as formulações, pode-se verificar que para as cápsulas essa correlação foi coerente, no entanto, para as suspensões não se obteve o mesmo resultado. Como a amoxicilina é um fármaco que apresenta alta solubilidade (Parfih, 1999) e baixa permeabilidade (FDA, 2000) ela poderia ser classificada no grupo III, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (Amidon *et al.*, 1995), sendo sua biodisponibilidade limitada pela permeabilidade e não pela dissolução a partir da forma farmacêutica. Desse modo, a IVIVC pode ou não ser alcançada, pois a permeabilidade é o fator limitante na absorção deste fármaco.

Comprimidos revestidos de estearato de eritromicina (ETM)

Na avaliação da ED% para os comprimidos contendo eritromicina, considerou-se apenas os valores obtidos quando o meio de dissolução foi o tampão fosfato pH 7,5, pois trata-se de comprimidos revestidos e os mesmos não devem apresentar um percentual dissolvido considerável em água e HCl 0,1 N.

Os comprimidos revestidos de estearato de eritromicina dos laboratórios A, B e C apresentaram perfis de dissolução semelhantes (Fig. 5), diferindo no percentual de substância ativa liberada em cada tempo.

A comparação dos valores de ED% em tampão fosfato pH 7,5, mostrou, através do teste de Tuckey, que o produto B difere estatisticamente do produto A, sendo significativamente menor (Tab. IV). Por outro lado, os produtos A e C possuem ED% semelhantes.

Quando o f_2 foi utilizado para comparar os perfis de dissolução dos comprimidos dos laboratórios A e B, o valor encontrado foi 39,0 e quando comparou-se os perfis entre os comprimidos dos laboratórios A e C o valor de f_2 foi 53,8 (Tabela IV), podendo-se concluir, com base nos valores calculados de f_2 , que os laboratórios A e C apresentam perfis de dissolução similares, o que coincide com os resultados obtidos quando os mesmos são comparados através da ED%.

Os estudos de biodisponibilidade da substância *in vivo*, realizados com a finalidade de verificar o comportamento dos comprimidos quando administrados oralmente em dose única a coelhos, mostram que todas as formulações (A, B e C) não são bioequivalentes.

Desse modo, os resultados obtidos com a análise dos dados de dissolução, os quais indicaram similaridade entre os perfis apresentados pelos comprimidos dos laboratórios A e C, não predisseram a bio-inequivalência entre as formulações. Apesar da eritromicina ser praticamente insolúvel em água (Parfih, 1999) não existem dados na literatura a respeito de sua permeabilidade, não sendo possível estabelecer em que grupo da classificação biofarmacêutica (Amidon *et al.*, 1995) este fármaco se encontra e determinar a possibilidade de obter-se correlação IVIV. *midos de sulfametoxazol (SMZ)*

Os resultados dos testes de dissolução com amostras de comprimidos dos laboratórios A, B e C, em aparelho de célula de fluxo, apresentaram comportamentos bem diferenciados, como pode ser observado na Fig. 7. A clara diferença entre os perfis de dissolução dos comprimidos desses três laboratórios também foi confirmada através da comparação da ED% das amostras dos três laboratórios (Tab. V).

O comportamento de dissolução dos comprimidos, quando avaliados no aparelho de dissolução USP 2, também apresentou grande variabilidade entre os três laboratórios (Fig. 8). A ED%, calculada para os percentuais de dissolução obtidos neste aparelho, também apresentou diferença significativa entre os laboratórios avaliados (Tab. V).

Quando esses perfis de dissolução foram comparados através do cálculo de f_2 , o valor obtido para esta variável, em aparelho de célula de fluxo, entre os laboratórios A e B foi de 31,8 e entre os laboratórios A e C foi 24,7. Em aparelho de dissolução USP 2, o f_2 foi 20,3 e 12,3 para a comparação entre os perfis de dissolução apresentados pelos comprimidos dos laboratórios A e B e A e C, respectivamente (Tab. V).

Através da comparação dos resultados obtidos para ED% e f_2 pode-se observar que os dois métodos apontam dissimilaridade entre os perfis de dissolução dos comprimidos dos três laboratórios, nos dois aparelhos utilizados para determinar a dissolução.

Através da comparação dos parâmetros farmacocinéticos, ASC, $C_{m\acute{a}x}$ e $T_{m\acute{a}x}$, as formulações dos laboratórios A e C foram consideradas bioequivalentes. Assim, comparando esse resultado com os resultados da %ED e f_2 , que indicaram a não similaridade entre os perfis de dissolução dos comprimidos dos laboratórios A e C, pode-se concluir que, para os comprimidos de sulfametoxazol avaliados, tanto os valores de ED% como os de f_2 , não tiveram valor preditivo para a biodisponibilidade entre as formulações dos laboratórios A e C. Do mesmo modo que para a eritromicina, não existem dados de literatura que permitam a classificação do sulfametoxazol no sistema de classificação biofarmacêutico (Amidon *et al.*, 1995).

Comparação entre ED% e f_2

Através dos gráficos representados nas Fig. 9 e 10, pode-se verificar que há uma tendência de correlação entre os dois parâmetros, f_2 e ED%. Desse modo, quanto maior a diferença entre as ED% das formulações teste e referência, menor é o valor de f_2 . Usando todos os dados relatados neste trabalho, o coeficiente de correlação calculado foi de -0,72. No entanto, quando utilizou-se somente os dados referentes às formulações sólidas e que tiveram o teste de dissolução realizado em célula de fluxo, este coeficiente de correlação passou a ser -0,98.

Um resultado semelhante foi observado por Anderson e colaboradores (1998) para a comparação de três lotes de um mesmo produto, utilizando nove embalagens sob condições diferente de temperatura e umidade.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi possível verificar que a eficiência de dissolução e o fator de similaridade apontaram os mesmos resultados quando utilizados para comparar perfis de dissolução. No entanto, a determinação de similaridade entre os perfis de dissolução nem sempre é preditiva da bioequivalência entre as formulações, pois esta correlação depende não somente das propriedades de dissolução das formulações, mas, também, das características de solubilidade e permeabilidade do fármaco que está sendo analisado.

REFERÊNCIAS

- Amidon, G.L.; Lennernäs, H.; Shah, V.P. *et al.* A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *In Vitro* Drug Product Dissolution and *In Vivo* Bioavailability. *Pharm. Res.*, 12(3): 413-419, 1995.
- Anderson, N.H.; Bauer, M.; Boussac, N. *et al.* A Evaluation of Fit Factors and Dissolution Efficiency for the Comparison of *In Vitro* Dissolution Profiles. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17: 811-822, 1998.
- ANVISA. Resolução nº 10 de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde, Brasil. Acesso em 21/05/01 e disponível na Internet no endereço: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/10-01rhc.htm>.
- Calil, L.N. *Estudo da Biodisponibilidade e Bioequivalência do Estearato de Eritromicina*. Porto Alegre: UFRGS, 1991. (Dissertação de Mestrado).
- Dressmam, J.B.; Amidon, G.L.; Reppas, C. *et al.* Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. *Pharm. Res.*, 15(1): 11-22, 1998.
- Elkoshi, Z. Dissolution Specifications Based on Release Rates. *J. Pharm. Sci.*, 88(4): 434-444, 1999.
- Emara, L.H.; El-Menshaw, B.S.; Estefan, M.Y. *In Vitro-In Vivo* Correlation and Comparative Bioavailability of Vincamine in Prolonged-Release Preparations. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26(3): 242-251, 2000.
- FDA. *Guidance for Industry, Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, In Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation*. CDER, USA, 1995. Acesso em 21/05/01 e disponível na Internet no endereço: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
- FDA. *Guidance for Industry, SUPAC-MR: Modified Release Solid Oral Dosage Forms, Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Dissolution Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation*. CDER, USA, 1997. Disponível na Internet no endereço: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm> Acesso em 21/05/01.
- FDA. *Guidance for Industry, Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System*. CDER, USA, 2000. Disponível na Internet no endereço: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm> Acesso em 21/05/01.
- Ju, H.L.; Liaw, S. On the Assessment of Similarity of Drug Dissolution Profiles – A Simulation Study. *Drug Inf. J.*, 31: 1273-1289, 1997.
- Khan, K.A.; Rhodes, C.T. The Concept of Dissolution Efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.*, 27(1): 48-49, 1975.
- Liu, J.; Ma, M.; Chow, S. Statistical Evaluation of Similarity Factor f_2 as a Criterion for Assessment of Similarity between Dissolution Profiles. *Drug Inf. J.*, 31: 1255-1271, 1997.
- Löbénberg, R.; Krämer, J.; Shah, V.P. *et al.* Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Dissolution Behavior of Glibenclamide. *Pharm. Res.*, 17(4): 439-444, 2000.
- Moore, J.W.; Flanner, H.H. Mathematical Comparison of Dissolution Profiles. *Pharm. Tech.*, 20(6): 64-74, 1996.
- Mylius, L.C.; Schapoval, E.E.S. Bioavailability Study of Coated Erythromycin Stearate Tablets in Rabbits. *Acta Farm. Bonaerense*, 15(2): 77-84, 1996.
- O'hara, T.; Dunne, A.; Kinahan, A.; *et al.* Review of Methodologies for the Comparison of Dissolution Profile Data. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 423: 167-171, 1997.
- O'hara, T.; Dunne, A.; Butler, J. *et al.* A Review of Methods Used to Compare Dissolution Profile Data. *PSITT*, 1(5): 214-223, 1998.
- Parfih, K. (Ed.) *Martindale: The Complete Drug Reference*. 32nd ed. London: Pharmaceutical Press, 1999. p. 151, 204.
- Pillay, V.; Fassih, R. Unconventional Dissolution Methodologies. *J. Pharm. Sci.*, 88(9): 843-851, 1999.
- Podczec, F. Comparison of *In Vitro* Dissolution Profiles by Calculating Mean Dissolution Time (MDT) or Mean Residence Time (MRT). *Int. J. Pharm.*, 97: 93-100, 1993.
- Poll, J.E.; Reki, G.S.; Shah, V.P. Methods to Compare Dissolution Profiles. *Drug Info. J.*, 30: 1113-1120, 1996.
- Poll, J.E.; Reki, G.S.; Augsburger, L.L. *et al.* Methods to Compare Dissolution Profiles and a Rationale for Wide Dissolution Specifications for Metoprolol Tartrate Tablets. *J. Pharm. Sci.*, 86(6): 690-700, 1997.
- Sathe, P.M.; Tsong, Y.; Shah, V.P. *In Vitro* Dissolution Profile Comparison: Statistics and Analysis, Model Dependent Approach. *Pharm. Res.*, 13(12): 1799-1803, 1996.
- Schuck, V.; Costa, T.D.; Schapoval, E.E.S. *Relatório de Estudo da Biodisponibilidade e Bioequivalência de Cápsulas de Amoxicilina*. Porto Alegre: UFRGS, 1998.
- Shah, V.P.; Tsong, Y.; Sathe, P. *et al.* *In Vitro* Dissolution Profile Comparison – Statistic and Analysis of the Similarity Factor, f_2 . *Pharm. Res.*, 15(6): 889-896, 1998.
- Silva, N.M. *Avaliação da Bioequivalência de Comprimidos Contendo Sulfametoxazol*. Porto Alegre: UFRGS, 1994. (Dissertação de Mestrado).
- Steppe, M. *Avaliação da Biodisponibilidade e Bioequivalência de Suspensões Extemporâneas de Amoxicilina*. Porto Alegre: UFRGS, 1996. (Dissertação de Mestrado).
- Tang, Y.; Gan, K. Statistical Evaluation of *In Vitro* Dissolution of Different Brands of Ciprofloxacin Hydrochloride Tablets and Capsules. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24(6): 549-552, 1998.
- Tsong, Y.; Hammerstrom, T.; Sathe, P. *et al.* Statistical Assessment of Mean Differences between Two Dissolution Data Sets. *Drug Info. J.*, 30: 1105-1112, 1996.
- USP 23: *The United States Pharmacopeia*. 23rd ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 1995. p. 1792.
- Vaughan, D.P.; Tucker, G.T. An Analysis of the Applications of Dissolution Efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.*, 28(12): 932-933, 1976.
- Yukse, N.; Kanik, A.E.; Baykara, T. Comparison of *In Vitro* Dissolution Profiles by ANOVA-based, Model-dependent and -independent Methods. *Int. J. Pharm.*, 209: 57-67, 2000.

Endereço para correspondência
 Prof^a Dr^a Teresa Dalla Costa
 Faculdade de Farmácia da UFRGS
 Av. Ipiranga, 2752 - Porto Alegre, RS, 90.610-000
 Fone (0xx51) 3316-5418 - Fax (0xx51) 3316-5437
 e-mail: teresadc@farmacia.ufrgs.br