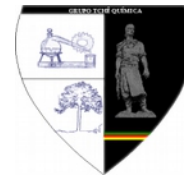




CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO ANTIRRETROVIRAL EFAVIRENZ A PARTIR DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

CHARACTERIZATION OF DRUG ANTIRETROVIRAL EFAVIRENZ FROM THE METHOD OF INTRINSIC DISSOLUTION



VILARINHO, Ana Cristina Sousa Gramoza^{1*}; SOARES SOBRINHO, José Lamartine³; SOARES, Monica Felts de La Roca⁴; NUNES, Livio Cesar Cunha²

^{1,2} Universidade Federal do Piauí, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga - Teresina - PI
Coordenadoria de Comunicação Social, cep 64049-550, Teresina – PI, Brasil
(fone: +55 86 3215-5525; fax: +55 86 3215-5526)

^{3,4} Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Av. Artur de Sá, S/N, cep 50740-520, Recife– PE, Brasil
(fone: +55 81 32721383)

* Autor correspondente
e-mail: acsgv@hotmail.com

Received 25 March 2013; accepted 29 March 2013

RESUMO

A dissolução intrínseca é um teste que tem sido utilizado durante muitos anos para a caracterização das drogas sólidas. Este trabalho objetivou a caracterização do fármaco antirretroviral efavirenz a partir da dissolução intrínseca e comparação com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB). Inicialmente, preparou-se a curva de calibração com 5 pontos lidas no comprimento de onda de 247 nm, a fim de analisar a concentração das amostras. Para a formação da pastilha utilizou-se 20 mg do fármaco sob pressão de 2 toneladas durante 1 minuto. Em seguida, realizou-se o teste de dissolução intrínseca no meio lauril sulfato de sódio a 0,5% a 37°C, sob agitação de 50 rpm. Ao analisar os dados obtidos, observou-se que a curva de calibração foi linear apresentando $r = 0,9998$. Em relação a velocidade de dissolução intrínseca (VDI), esta foi igual a 0,0058 mg/mL/min corroborando com o SBC sendo um fármaco de baixíssima solubilidade em água. Dessa forma, por dispor de condições mais controladas a dissolução intrínseca tem se tornado evidência com o propósito de ser empregado no SBC, sendo utilizado para caracterização de fármacos.

Palavras-chave: Sistema de classificação biofarmacêutica. Velocidade de dissolução intrínseca. Calibração.

ABSTRACT

The intrinsic dissolution is a test which has been used for many years for the characterization of solid drug. This study aimed to characterize the antiretroviral drug efavirenz from the intrinsic dissolution and compared to the biopharmaceutical classification system (BCS). Initially, was prepared a calibration curve with 5 points read at wavelength of 247 nm in order to analyze the concentration of the samples. For the formation of the tablet was used 20 mg of the drug under pressure of 2 tons for 1 minute. Then, the test was carried out intrinsic dissolution in the middle sodium lauryl sulphate 0.5% at 37 ° C under agitation of 50 rpm. By analyzing the data obtained, it was observed that the calibration curve was linear with $r = 0.9998$. Regarding the intrinsic dissolution rate (VDI), this was equal to 0.0058 mg/ml/min corroborating the SBC is a drug of low water solubility. Thus, by having more controlled conditions the intrinsic dissolution has become evidence for the purpose of being employed in the SBC and is used for characterization of pharmaceuticals.

Keywords: Biopharmaceutical classification system. Intrinsic dissolution rate . Calibration.

INTRODUÇÃO

A dissolução intrínseca é um teste que tem sido utilizado durante muitos anos para a caracterização das drogas sólidas (AMIDON *et al.*, 1982; YU AND AMIDON, 1999). A faixa ou velocidade de dissolução intrínseca (VDI) é definida como a faixa de dissolução de substâncias puras sob condições constantes de área superficial, temperatura, agitação e pH (UNITED STATES PHAMACOPEIA, 2009).

Isto fornece informações valiosas como o comportamento físico-químico da substância no meio de dissolução e a boa correlação entre a solubilidade e a faixa de dissolução intrínseca dos fármacos (NICKLASSON *et al.*, 1981, 1988; GU *et al.*, 1987).

A VDI pode ser utilizada para avaliar parâmetros como: determinação de parâmetros termodinâmicos associado com a fase de transição da cristalinidade, determinação da faixa de pH para perfis de dissolução, estudo de surfactantes e efeitos do pH na solubilização de fármacos de baixa solubilidade (WADKE AND REIER, 1972; DAHLAN *et al.*, 1987; JINNO *et al.*, 2000; CHAN AND GRANT, 1989).

Segundo o SCB, a solubilidade de um fármaco é determinada pela dissolução da dosagem mais alta de um medicamento em 250 mL de uma solução tampão de pH entre 1,0 e 8,0. Um fármaco é considerado altamente solúvel quando o resultado, em volume, da relação dose/solubilidade é menor ou igual a 250 mL (FDA, 1997).

A VDI está relacionada à velocidade e não a um equilíbrio, de modo que esperasse uma melhor correlação entre a dissolução *in vivo* da substância, e consequentemente com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), do que com a solubilidade. Por esse motivo, tem sido sugerido que a VDI seja utilizado para classificar os fármacos ao invés da solubilidade. (AMIDON *et al.*, 1995; YU *et al.*, 2004).

Desta forma, resultados discrepantes podem existir entre os métodos de solubilidade e de VDI (YU, 2004), já que no primeiro considera-se a quantidade de fármaco utilizado e no segundo não, pois este analisa a quantidade de material necessária para a saturação.

O típico aparato consiste em uma punção e uma matriz fabricada a partir de aço resistente.

A punção é inserida na cavidade da matriz e o material teste é comprimido com uma prensa hidráulica. A pastilha compacta é formada na cavidade, contendo uma única face exposta com área definida no fundo da matriz (Figura 1). O pó é comprimido com uma prensa hidráulica por 1 minuto na compressão mínima necessária para formar uma pastilha não desintegrante (UNITED STATES PHAMACOPEIA, 2009).

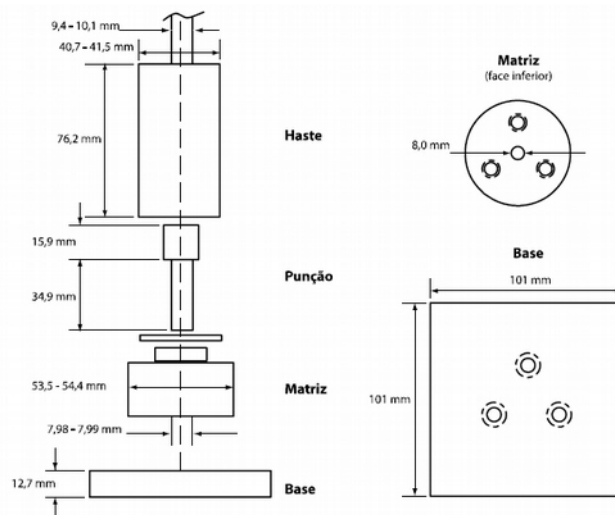


Figura 1. Equipamento para dissolução intrínseca.

Existem dois métodos para a realização da dissolução intrínseca: sistema de disco rotativo, também conhecido com “Wood’s apparatus”, e sistema de disco fixo (Figura 2).

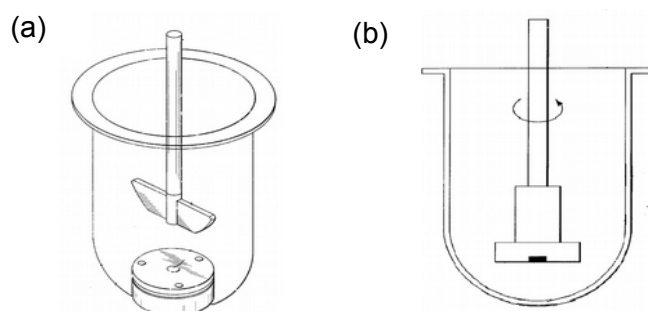


Figura 2. Tipos de dissolução intrínseca: sistema de disco estacionário ou fixo (a) e rotatório (b).

A utilização do disco rotativo é mais comum, porém boa correlação dos resultados é observada em comparação com o sistema de

disco fixo e até com outros sistemas não descritos em farmacopéias, mas já testados em estudos para a determinação da velocidade de dissolução intrínseca, como o método da célula de fluxo e um aparato em miniatura (Mini-IDR™) semelhante ao disco rotativo (BERGER *et al.*, 2007; LEHTO *et al.*, 2008; PELTONEN *et al.*, 2003; TSINMAN *et al.*, 2009; VIEGAS *et al.*, 2001).

Em relação ao modelo de disco rotativo, esta desvantagem está relacionada a formação de bolhas na pastilha formada na superfície da matriz; além disso, pelo fato do aparato rotatório deste ser mais pesado, cerca de 512g, em relação ao aparato pá, por volta de 144g, pode haver decréscimo de aproximadamente de 2°C da temperatura do meio de dissolução. Ambos os problemas podem gerar uma diminuição da efetividade da dissolução intrínseca (VIEGAS *et al.*, 2001; UNITED STATES PATENT, 2002)

Efavirenz

Efavirenz é um agente antirretroviral classificado como inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídicos (ITRNNs) (Figura 3 e Tabela 1). Juntamente com os fármacos lamivudina e zidovudina, dentro da classe de ITRNN, o EFV é considerado como fármaco de primeira escolha, preferencial à nevirapina, exceto para gestantes e crianças menores de 3 anos. Essa opção está fundamentada na sua elevada potência de supressão viral, comprovada eficácia a longo prazo e ao menor risco de efeitos adversos sérios (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009).

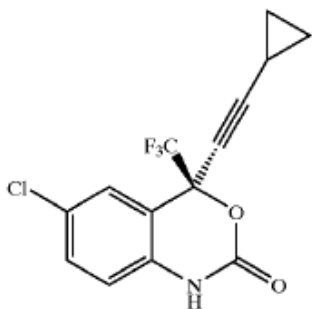


Figura 3. Estrutura química do EFV.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do fármaco efavirenz.

Características	Descrição
Nome químico	(S)-6-Chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4 (trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one
Fórmula molecular	C ₁₄ H ₉ ClF ₃ NO ₂
Peso molecular	315.68 g/mol
pKa	10,3
Descrição	Pó cristalino branco ou quase branco, inodoro
Faixa de fusão	136 °C a 141 °C
Solubilidade	Praticamente insolúvel em água, solúvel em metanol e diclorometano

Fonte: Adaptado de PATENTE US 6673372 Crystalline Efavirenz.

Visto isso, objetivou-se a caracterização deste fármaco a partir da dissolução intrínseca para sua melhor caracterização e comparação com o SCB.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Matérias primas e vidrarias

Nesta análise foi utilizada a matéria-prima EFZ Cristália® (lote 15845). Como meio de dissolução foi utilizado lauril sulfato de sódio a 0,5%. Utilizou-se álcool etílico absoluto na etapa inicial da curva de calibração. Foram utilizados também papéis de filtro quantitativos, tubos de ensaio, balões volumétricos e pipetas volumétricas devidamente calibrados.

2.2. Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram balança analítica Chio® modelo JK-200, espectrofotômetro UV-VIS Varian® modelo Cary 30; Dissolutor Nova Ética Modelo 299 com seis cubas;

2.3. Metodologia

2.3.1 Preparação da solução amostra

As amostras de EFV puro foram analiticamente pesadas e solubilizadas. Como solvente, foi utilizado um solução de álcool etílico absoluto, obtendo-se uma concentração de 400

µg/mL. As amostras foram preparadas em triplicata.

2.3.2 Preparação da curva controle

Partindo da solução estoque do padrão de EFV (400 µg mL⁻¹), foram realizadas diluições com o meio lauril sulfato de sódio (LSS) 0,5% para a obtenção das seguintes concentrações: 2, 4, 8, 10 e 12 µg/mL. A curva controle foi preparada e as amostras foram lidas no comprimento de onda de 247nm. Esta curva também foi utilizada para o cálculo das concentrações das amostras.

2.3.3 Desenvolvimento do método analítico

Pesou-se 20 mg de fármaco, e em seguida realizou-se a compressão do pó dentro da cavidade no interior da matriz do aparato de dissolução intrínseca, através de uma prensa hidráulica. A pressão exercida sob o pó foi de 2 toneladas durante 1 minuto. Na dissolução intrínseca foi utilizado o meio LSS 0,5%, a temperatura de 37°C, sob agitação de 50 rpm. Esta técnica foi realizada com o disco estacionário no fundo da cuba, onde foi utilizado o aparato tipo 2 (pá). Esta dissolução foi realizada durante 60 minutos, nos quais as alíquotas de 10 mL foram retiradas nos tempos 10, 20, 30, 45 e 60 minutos. Estas amostragens foram feitas sem reposição, no entanto os resultados foram matematicamente corrigidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nos Gráfico 1, observa-se que as concentrações com suas respectivas absorbâncias apresentaram-se de forma linear, o que pode ser confirmado com o descrito na Tabela 2 pois o coeficiente de correlação (r) de apresentou valor superior a 0,99, como recomendado pela ANVISA através da RDC 899/2003.

Tabela 2. Dados obtidos a partir da curva de calibração do EFV e 5TiO1.

Dados	EFV
r	0,9998
Slope	0,0492
Intercepto	0,0044

Legenda: r (coeficiente de correlação).

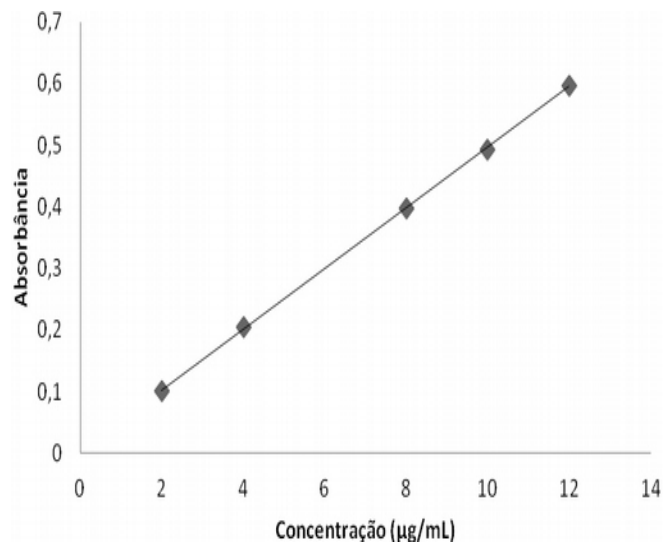


Gráfico 1. Curva de calibração do EFV.

A mensuração da faixa de dissolução intrínseca é uma ferramenta funcional na caracterização de drogas ou excipientes puros. A faixa de dissolução intrínseca é definida como faixa de dissolução de substâncias puras sob condições de área superficial constante (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2009).

A VDI é facilmente calculada por:

$$J = \frac{V \cdot dc \cdot 1}{d \cdot t \cdot A} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde *J* é a faixa de dissolução intrínseca, *V* é o volume do meio de dissolução, *c* é a concentração, *A* é a área da cavidade da matriz, e *t* é o tempo (YU *et al.*, 2004).

Para o cálculo da VDI é necessário construir um gráfico da quantidade acumulada de fármaco dissolvido em função do tempo e, pela regressão linear dos pontos, com a obtenção da equação da reta, tem-se a velocidade de dissolução em unidade de massa por segundo, representada pelo valor do coeficiente angular. A velocidade de dissolução é determinada dividindo-se esse valor pela área superficial do compactado em cm², sendo reportada em unidade de massa cm⁻² s⁻¹ (UNITED STATES PHAMACOPEIA, 2009).

O gráfico obtido da quantidade de fármaco dissolvido em função do tempo pode apresentar curvatura (alteração da inclinação da reta) e, neste caso, deve-se considerar apenas a região linear inicial para o cálculo da velocidade de dissolução (UNITED STATES

PHARMACOPEIA, 2009). Apesar de o Gráfico 2 apresentar coeficiente de correlação menor que 0,99 (Tabela 3), os coeficientes angulares (slope) foram utilizados para o cálculo da VDI já que estes pontos foram os que se mostraram em ascensão antes de a concentração do fármaco chegar ao equilíbrio. Este fato pode ser devido a baixa solubilidade do fármaco no meio fazendo com que apenas uma pequena quantidade esteja dissolvida no meio (Gráfico 2), podendo gerar flutuações no próprio equipamento comprometendo a linearidade.

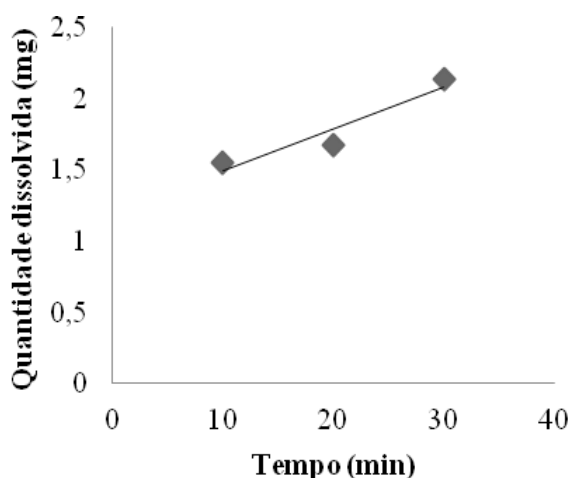


Gráfico 2. Região inicial linear dos fármacos EFV.

Tabela 3. Dados obtidos a partir da dissolução intrínseca dos fármacos EFV e 5TiO1.

Dados	EFV
r	0,8976
Slope	0,0291
Intercepto	1,2051

Legenda: r (coeficiente de correlação).

O conhecimento da velocidade de dissolução intrínseca é útil na predição de prováveis problemas de absorção relacionados a velocidade de dissolução. Tipicamente taxas de dissolução intrínseca maiores que 0,1 mg/min/cm² ou 0,0017 mg/cm²/s, indicam que possivelmente absorção não está associada à velocidade de dissolução, ao passo que, taxas

de dissolução intrínseca menores que 0,1 mg/min/cm² sugerem que a dissolução será a etapa limitante para a absorção, seja, fármacos com VDI acima desse valor seriam considerados de alta solubilidade e velocidades abaixo desse limite, indicariam fármacos de baixa solubilidade (YU *et al*, 2004).

Tabela 4. Velocidade de dissolução intrínseca (VDI) dos fármacos EFV e 5TiO1.

Fármaco	VDI (mg/mL/min)
EFV	0,0058

Na Tabela 4, observa-se que o fármaco apresentou-se abaixo da faixa, se classificando como de baixa solubilidade, de acordo com a medida da VDI, estando também em concordância com SBC. Desta forma, este método evidenciou as características do fármaco puro, devido a suas condições mais controladas. Em diversos estudos, atualmente, tem-se demonstrado a importância da utilização deste método para maior confiabilidade no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), visto que em um ensaio de solubilidade convencional, onde a quantidade de um fármaco é mantida sob agitação e temperaturas constantes até a saturação da solução, a determinação da real solubilidade do material pode ser comprometida, devido as possíveis ocorrências de recristalizações durante o ensaio, que podem provocar alteração da forma cristalina, formação de hidratos e solvatos (YAZDNIAN *et al.*, 2004; ZAKERI-MILANI, 2009).

CONCLUSÕES:

Com a análise dos fármacos, observa-se que a dissolução intrínseca avalia de maneira precisa as propriedades do fármaco em questão, justamente por dispor de condições mais controladas durante o experimento. Dessa forma, a dissolução intrínseca tem se tornado evidência com o propósito de ser empregado no SBC, sendo utilizado para caracterização de fármacos.

REFERÊNCIAS:

1. AMIDON, G.E., HIGUCHI, W.I., HO, N.F. *J. Pharm. Sciences*, **1982**, 71, 77–84.
2. AMIDON G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. *Pharm. Res.*, **1995**, 12,

413-420.

3. BERGER, C. M.; TSINMAN, O.; VOLOBOY, D.; LIPP, D.; STONES, S.; AVDEEF, A. *Dissolution Technologies*, **2007**, 39-41.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: Manual de Bolso, Brasília, DF, **2008**, p.244.

5. BRASIL. Ministério da Saúde. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV: manual de bolso, Brasília, DF, 2009. p. 200.

6. CHAN, H.K., GRANT, D.J. *Intern. J. Pharm.*, **1989**, 57, 117-124.

7. DAHLAN, R., MCDONALD, C., SUNDERLAND, V.B. *J. Pharm. and Pharmac.*, **1987**, 39, 246-251.

8. GUIDANCE for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville: FDA, **1997**.

9. GU, L.; HUYNH, O.; BECKER, A.; PETERS, S.; NGUYEN, H.; CHU, N. *Drug Devel. Ind. Pharm.*, **1987**, 13, 437-448.

10. JINNO, J., CRISON, J.R., AMIDON, G.L. *J. Pharm. Sci.*, **2000**, 89, 268-274.

11. LEHTO, P.; AALTONEN, J.; NIEMELÄ, P.; RANTANEN, J.; HIRVONEN, J.; TANNINEN, V. P.; PELTONEN, L. *Intern. J. Pharm.*, **2008**, 363, 66-72.

12. NICKLASSON, M.; BRODIN, A.; NYQVIST, H. *Acta Pharm. Suecica*, **1981**, 18, 119-128.

13. NICKLASSON, M.; FYHR, P.; MAGNUSSON, A. B.; GUNNVALD, K. *Inter. J. Pharm.*, **1988**, 46, 247-254.

14. PELTONEN, L.; LILJEROTH, P.; HEIKKILÄ, T.; KONTTURI, K.; HIRVONEN, J. *Eur. J. Pharm. Sc.*, **2003**, 19, 395-401.

15. TSINMAN, K.; AVDEEF, A.; TSINMAN, O.; VOLOBOY, D. *Pharm. Res.*, **2009**, 26, 9, 2093-2100.

16. UNITED STATES PATENT. Distek, Inc., North Brunswick, NJ (US). Tacey X. Viegas, Gerald Brinker, Michael Cai. Intrinsic Dissolution Apparatus with Stationary Sample Holder. US6497157, 13 nov. 2000, 24 dec. **2002**.

17. VIEGAS, T. X.; CURATELLA, R. U.; WINKLE, L. L. V.; BRINKER, G. *Pharm. Tech.*, **2001**, 6, 44-53.

18. UNITED STATES PHARMACOPEIA. 32 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

19. WADKE, D.A.; REIER, G.E. *J. Pharm. Sci.* **1972**, 61, 868-871.

20. YAZDANIAN, M.; BRIGGS.; JANKOVSKY, C.; HAWI, A. *Pharm. Res.*, **2004**, 21, 2, 293-299.

21. YU, L.X., AMIDON, G.L. Analytical solutions to mass transfer. In: AMIDON, G.L., LEE, P.I., TOPP, E.M. Transport Processes in Pharmaceutical Systems. Marcel Dekker, Inc., pp. 23-54, **1999**.

22. YU, L. X.; CARLIN, A. S.; AMIDON, G. L.; HUSSAIN, A. S. *Inter. J. Pharm.*, **2004**, 270, 221-227.

23. ZAKERI-MILANI, P.; BARZEGAR-JALALI, M.; AZIMI, M.; VALIZADEH, H. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2009**, 73, 102-106.