

# Efeito do pH e da presença de tensoativos no meio de dissolução na correlação *in vivo/in vitro* de comprimidos de glibenclamida não bioequivalentes

Effect of pH and surfactants in dissolution media to *in vivo/in vitro* correlation in glibenclamide tablets non bioequivalents

Edilene Bolutari Baptista<sup>1</sup> & Nadia Maria Volpato<sup>2</sup>

**RESUMO** – Diante da dificuldade de realização rotineira de ensaios de biodisponibilidade (BD), esforços têm sido empreendidos para que testes *in vitro* mimetizem o comportamento das formulações sólidas quando administradas ao paciente. O objetivo do presente trabalho foi testar diferentes condições para a dissolução de comprimidos de glibenclamida (GLB), utilizando duas formulações não bioequivalentes (referência e teste), cujos dados de BD foram cedidos ao estudo pela empresa responsável pela formulação teste. Para os testes de dissolução foram selecionados os meios: suco entérico simulado (SES) pH 6,8 sem tensoativo e adicionado de polissorbatato 80 (Poli 80) e laurilsulfato de sódio (LSS) nas concentrações de 0,1% e 1%, tampão acetato pH 5,5 adicionado dos mesmos tensoativos e tampão acetato pH 4,5 com Poli 80 1%. Foram empregados 900mL de meio e aparato pá com velocidade de 75rpm. A análise das alíquotas do meio de dissolução foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com condições desenvolvidas e validadas para o estudo. Os resultados encontrados para os perfis de dissolução foram condizentes com o teste de solubilidade, realizado previamente, demonstrando maiores percentuais dissolvidos nos meios de maior concentração de saturação da GLB. Verificou-se que o pH do meio exerce uma grande influência sobre a solubilidade da GLB e, quanto mais elevada, maior a capacidade de dissolução do fármaco da formulação, caso em que a presença de surfactante tem menor impacto na solubilização do ativo. A correlação *in vivo/in vitro* (CIVIV) foi realizada empregando-se nível C múltiplo, através do parâmetro farmacocinético área sob a curva (ASC) parcial. A análise do coeficiente de determinação e a inclinação das correlações obtidas apontaram o meio SES adicionado de Poli 80 1% como a condição mais promissora para a dissolução dos comprimidos de glibenclamida.

**PALAVRAS-CHAVE** – Glibenclamida, gliburida, dissolução, correlação *in vivo/in vitro*.

**SUMMARY** – Since the bioequivalence of formulations can be only proven *in vivo* and the accomplishment of this test routinely is impossible, efforts have been made in order to provide *in vitro* tests that reproduce the behavior of solid dosage forms when administered to the patients. The aim of the present work was to study different conditions for dissolution of glibenclamide (GLB) tablets, using two non bioequivalent formulations (reference and test), whose bioavailability data had been furnished by the company responsible for the test formulation. For the dissolution tests the selected media employed simulated intestinal fluid (SIF) pH 6.8 without surfactant and added polissorbato 80 (Poly 80) and sodium lauryl sulfate (SLS), buffer pH 4.5 added only Poly 80 1% and buffer pH 5.5 added Poly 80 and SLS, both 0.1% and 1% (w/v) concentration. USP apparatus 2 (paddle) at 75 rpm was used and the volume of the different dissolution media was 900mL. GLB analysis in the aliquots of dissolution medium, as well as the drug assay in the tablets, was carried out by HPLC with conditions developed and validated for the study. The dissolution profiles were roughly in accordance with previously determined solubility data, as larger dissolved drug amounts obtained in the media where Cs of GLB was higher. It was verified that the pH has a great influence on the GLB dissolution enhancing the capacity of drug dissolution from formulations at high values. In this case, the presence of surfactant had a minor impact in the GLB liberation. *In vivo/in vitro* correlation was developed applying level C approach with multiple points, using the partial areas under concentration-time curve (AUC) calculated for both products. Analysis of the determination coefficients and slopes of the obtained correlations, pointed out the SIF medium with Poly 80 1% as the promising condition for monitoring dissolution of GLB tablets.

**KEYWORDS** – Glibenclamide, glyburide, dissolution, *in vivo/in vitro* correlation.

## INTRODUÇÃO

O teste de dissolução de medicamentos tem sido empregado como uma excelente ferramenta na

detecção de problemas na formulação sólida que poderiam alterar a liberação do fármaco no organismo, garantindo, dessa forma, qualidade lote a lote, orientando o desenvolvimento de novas formulações e as-

Recebido em 17/01/2007

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/Faculdade de Farmácia/UFRJ

<sup>2</sup>Departamento de Produção e Controle de Medicamentos/Faculdade de Farmácia/UFRGS

segurando a uniformidade da qualidade e do desempenho do medicamento após eventuais alterações. Determinando a velocidade de liberação do fármaco e, conseqüentemente, sua absorção, existem, principalmente, dois fatores: a solubilidade da substância ativa e as características físico-químicas da forma farmacêutica. No caso de medicamentos novos, as especificações para a dissolução devem ser baseadas em dados obtidos de acordo com o estudo de biodisponibilidade (BD). Para os medicamentos genéricos, seguem as recomendações do medicamento referência (Anvisa, 2003b).

A glibenclamida (GLB), cujos sinônimos são: gliburida, glibenclamídeo, glibenzciclamida (Budavari, 2001), é um potente agente hipoglicemiante e uma das substâncias mais utilizadas da classe das sulfoniluréias em diversos países (Gilman, 2001). A matéria-prima apresenta-se sob a forma de pó cristalino branco, é praticamente insolúvel em água e éter etílico, solúvel em dimetilformamida, pouco solúvel em etanol, metanol e clorofórmio, dissolve-se em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos (Farmacopéia Brasileira, 2001; Martindale, 1999). Seu  $pka$  é de 5,3 e a DL50 em ratos e camundongos é superior a 20g/kg por via oral (Budavari, 2001). A administração usual de GLB é em dose única diária com recomendação inicial da dose adulta de 2,5 a 5 mg para a forma não micronizada, sendo relatadas indicações de até 20mg diários. Para a forma farmacêutica com GLB micronizada, as doses são menores, de 1,5 a 3mg diários com um máximo de 12mg diários em virtude da maior BD. (Martindale, 1999).

Sendo o teste de dissolução utilizado para monitorar os processos de fabricação de medicamentos, a correlação dos dados obtidos *in vitro* com aqueles originários de estudos em humanos, caracteriza uma forma de validação das condições empregadas neste teste. A preocupação em desenvolver métodos de dissolução que reflitam o processo de absorção *in vivo*, caracterizando-os através de correlações dos dados, tem sido alvo de pesquisadores há algumas décadas. Dentre os primeiros relatos, Levy, Leonards & Procknal (1965) utilizaram a CIVIV em seus estudos com o ácido acetilsalicílico. O estabelecimento da CIVIV visa compreender a dependência do processo de absorção do fármaco com o processo de sua liberação da forma farmacêutica estudada *in vitro* (Cutler, Beyssac & Aiache, 1997). A relação entre as propriedades, biológica e físico-química, é expressa quantitativamente (The United, 2004). Se o fármaco é altamente permeável e a dissolução é o passo limitante, a CIVIV pode ser desenvolvida (Uppoor, 2001).

Assim, diante do exposto, pretendeu-se desenvolver uma metodologia para a dissolução de comprimidos de GLB de liberação imediata, ainda não oficializada por nenhuma Farmacopéia, estabelecendo-se condições que *in vitro* poderão servir de base para prever o comportamento desses medicamentos no organismo e, conseqüentemente, utilizar tal método em análises de rotina do Controle de Qualidade. Foram utilizadas duas formulações de comprimidos de GLB 5mg, sendo uma denominada de medicamento teste e a outra, de medicamento referência, cujo estudo comparativo dos perfis farmacocinéticos, após a administração oral em voluntários sadios, determinou a não bioequivalência (BE) de tais formulações.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Medicamentos, reagentes e meios de dissolução**

Os produtos empregados no estudo foram o medicamento teste (T) Glibenclamida - comprimidos 5mg, fabricado por Knoll Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda (atual Abbott do Brasil), lote 0101001, produzidos em janeiro/2001 e válidos por 4 anos e o medicamento referência (R) Daonil® - comprimidos 5mg, fabricado por Aventis Pharma, lote 301352, produzidos em março/2003 e válidos por 3 anos. Foi utilizado glibenclamida substância química de referência da Farmacopéia Brasileira, lote 1018, com teor declarado de 99,84% e glibenclamida matéria-prima fornecida pela Abbott do Brasil, fabricante Cadilla, lote 10989, como padrão de trabalho.

Para a cromatografia líquida foram utilizados solventes de grau CLAE adquiridos da empresa Tedia (Rio de Janeiro, Brasil). Dihidrogeno fosfato de potássio, etanol, metanol e polissobato 80 (Poli 80) foram obtidos da empresa Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Laurilsulfato de sódio (LSS) proveio da Synth (São Paulo, Brasil) e os demais reagentes de grau analítico foram adquiridos da empresa Merck (Rio de Janeiro, Brasil).

*Suco Entérico Simulado (SES), Tampão Acetato pH 4,5 e Tampão Acetato pH 5,5* foram preparados de acordo com a Farmacopéia Americana (THE UNITED, 2004). *Suco Entérico Simulado Modificado* foi preparado pesando-se 7,0g de diidrogeno fosfato de sódio monodratado e 6,0 g de monoidrogeno fosfato dissódico que eram adicionados a 500mL de água destilada; o pH era ajustado com NaOH 0,2 N ou HCl 0,2 N para  $6,8 \pm 0,1$  e o volume completado a 1000mL com água destilada (Morita, 2001; Silva, 2003). A modificação foi introduzida para permitir a adição posterior de LSS. As leituras de pH foram feitas após a adição dos tensoativos Poli 80 e LSS ao meio, quando presentes. As concentrações de 0,1% e 1% (p/V) dos surfactantes foram selecionadas com o intuito de avaliar a influência de concentrações extremas dos mesmos.

### **Determinação da solubilidade da GLB em diferentes meios**

A solubilidade da GLB foi determinada nos meios descritos acima com e sem tensoativos. Em tubo de ensaio contendo, aproximadamente, 100mg de GLB, foram adicionados 10mL do meio a ser avaliado, garantindo dessa forma, um excesso de GLB no sistema. Os tubos foram levados a um banho-maria a 37°C, sob agitação magnética constante de 800rpm. Após 24 horas, os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 500 rpm e, imediatamente, o sobrenadante foi filtrado através de membrana de 0,45µm de poro. A solução resultante da filtração foi analisada quantitativamente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O teste foi realizado em duplicata para cada meio.

### **Análise quantitativa da glibenclamida por CLAE**

A análise procedeu-se em cromatógrafo a líquido Shimadzu, com injetor automático e provido de detector UV com arranjo de fotodiodos. Empregou-se coluna Sulpeco® (supelcosil TM LC-8 de 4,6mm x 150mm), mantida à temperatura ambiente e fase móvel composta por acetonitrila:solução aquosa de ácido acético 1% (50:50) a uma vazão de 1,5mL/min. O volume injetado foi de 40µL e a detecção foi a 227nm (El-Massik *et al.*,

1996; Lobenberg *et al.*, 2000). Curvas-padrão na faixa de 0,6 a 8,0µg/mL foram diariamente preparadas a partir de uma solução estoque de GLB padrão de trabalho de 400mg/mL em acetonitrila para CLAE. Um esquema de diluição foi planejado de modo a englobar, na faixa da curva padrão, todas as concentrações possíveis para as soluções a serem analisadas na determinação do perfil de dissolução dos comprimidos. Para a validação da análise de GLB por CLAE, foram realizados testes prévios que comprovassem a especificidade do método, a linearidade de resposta e a precisão intra e interdia, de acordo com as exigências vigentes (Anvisa, 2003a).

#### Caracterização dos comprimidos de GLB

A caracterização dos comprimidos teste e referência foi realizada por meio dos ensaios descritos na monografia da Farmacopéia Brasileira (2001), sendo todos os testes clássicos para a forma farmacêutica, a saber: peso médio e variação de peso, uniformidade de dose por conteúdo, dureza, friabilidade, desintegração e teor.

#### Ensaio de dissolução

O estudo foi conduzido em dissolutor da marca Vankel, empregando-se pá (método 2) a 75rpm, com coleta automática das alíquotas do meio, através de cânulas providas de filtros cilíndricos de 10µm de porosidade, em até 3h. Para cada meio, realizava-se o perfil de dissolução com 3 comprimidos teste e 3 comprimidos referência, em dois dias de ensaio, totalizando 6 réplicas para cada medicamento e garantindo que ambos sofressem as mesmas influências na análise. Não houve reposição do meio de dissolução e as amostras foram transferidas para *vials* para a análise cromatográfica.

#### Tratamento dos dados *in vivo* e estabelecimento da correlação *in vivo/in vitro*

O estudo de BE da GLB foi cedido pela indústria fabricante da formulação teste e realizado com 24 voluntários de ambos os sexos, em estudo aberto, cruzado de duas fases, com administração de dose única de cada formulação por período a cada voluntário (Synchrophar, 2001). Brevemente, as amostras de sangue foram colhidas previamente à administração e até 24 horas após, em intervalos pré-determinados e a concentração plasmática de GLB foi determinada através de CLAE acoplada a um sistema de espectrometria de massas. Os parâmetros farmacocinéticos obtidos para os medicamentos referência e teste, respectivamente, foram:  $C_{\max}$  de 840 e 332 ng/mL;  $T_{\max}$  (médio) de 2,25 e 3,65 h e  $ASC_{\infty}$  de 3450 e 2296 ng.h/mL (Synchrophar, 2001).

A correlação dos percentuais dissolvidos *in vitro* com os dados *in vivo*, na formação dos pares de coordenadas para a CIVIV, foi realizada em tempos iguais, a saber: 30, 60, 90, 120 e 180 minutos. Optou-se por trabalhar com a correlação nível C múltipla, correlacionando os dados de dissolução com ASC parcial do gráfico de concentração plasmática *versus* tempo, obtidos pelo método trapezoidal. Embora seja um dado menos refinado que a fração absorvida, também é capaz de fornecer informações relevantes das formulações (Uppoor, 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os medicamentos, referência e teste, foram aprovados em todos os ensaios de caracterização de comprimidos (dados não mostrados).

Os resultados obtidos para a concentração de saturação (Cs) da GLB nos meios avaliados são apresentados na Tabela I. Na presença de surfactante, todos os meios promoveram uma melhor solubilidade do fármaco, sendo esta crescente com o aumento da concentração de Poli 80 e LSS. O maior poder de solubilização do LSS pode ser evidenciado pelos maiores valores de Cs para GLB quando esse foi empregado.

Acreditando que de fato as condições fisiológicas são as mais adequadas ao teste de dissolução, foram selecionados meios cujos valores de pH estavam englobados na faixa 1,0 – 6,8 (CDER/FDA, 1997). Por outro lado, de acordo com as recomendações do CDER (2000), o número de condições a serem testadas depende das características de ionização da substância, como a GLB é um ácido fraco de pKa 5,3 e de baixa solubilidade em meios aquosos, foram descartados os meios com pH muito baixo, pois tal condição não favoreceria a dissolução, assim foram selecionados pH 4,5; pH 5,5 e pH 6,8, este último descrito como SES (The United, 2004).

Analisando a Figuras 1 (a) e (b), nota-se que em pH 5,5 o LSS promoveu maior liberação de GLB tanto do medicamento referência quanto do teste, quando comparado ao Poli 80 em concentrações iguais. Nas duas concentrações de tensoativos empregadas, o medicamento referência apresentou um maior percentual dissolvido durante as 3 horas de ensaio. Na Figura 1 (c) e (d), observa-se o comportamento dos medicamentos no meio SES pH 6,8. Quando da adição de 0,1% de LSS ou Poli 80, a liberação de GLB foi mais lenta e incompleta para ambas formulações. Adicionando 1% de Poli 80, a dissolução atinge 70,45% em 10 minutos para o medicamento referência que, ao final dos 180 minutos, dissolve totalmente. Já com 1% de LSS, nos primeiros 10 minutos, o referência havia liberado o superior a 75% de GLB. No meio SES sem tensoativo (perfil não mostrado), o medicamento referência apresentou uma liberação mais gradativa nos primeiros pontos de coleta, de modo semelhante ao comportamento da formulação teste e ao contrário dos meios adicionados de surfactante. Nessas condições, o máximo dissolvido foi 76,74% para o referência e 50,96% para o teste, no final do ensaio.

Em tampão acetato pH 4,5 com Poli 80 1% as formulações atingiram baixos percentuais dissolvidos, principalmente o medicamento teste que em 15 minutos, não liberou 5% de GLB e em 180 minutos não ultrapassou 33% de fármaco dissolvido. O produto referência liberou apenas 60% de GLB ao final das 3 horas.

O uso de tensoativos nos meios, agindo como promotores de dissolução, é descrito por diversos autores. Dressman & Reppas (2000) discutem o efeito do surfactante no meio de dissolução referenciando o trabalho de Galia *et al.* (1998) em que formulações de albandazol foram avaliadas na presença e ausência de tensoativos e, assim como Lobenberg *et al.* (2000), os autores concluem a importância dos promotores na solubilidade dos fármacos pouco solúveis, porém seus trabalhos sugerem o uso de tensoativos endógenos como meios biorrelevantes, apontando que essas condições refletiriam melhor o comportamento *in vivo* das formu-

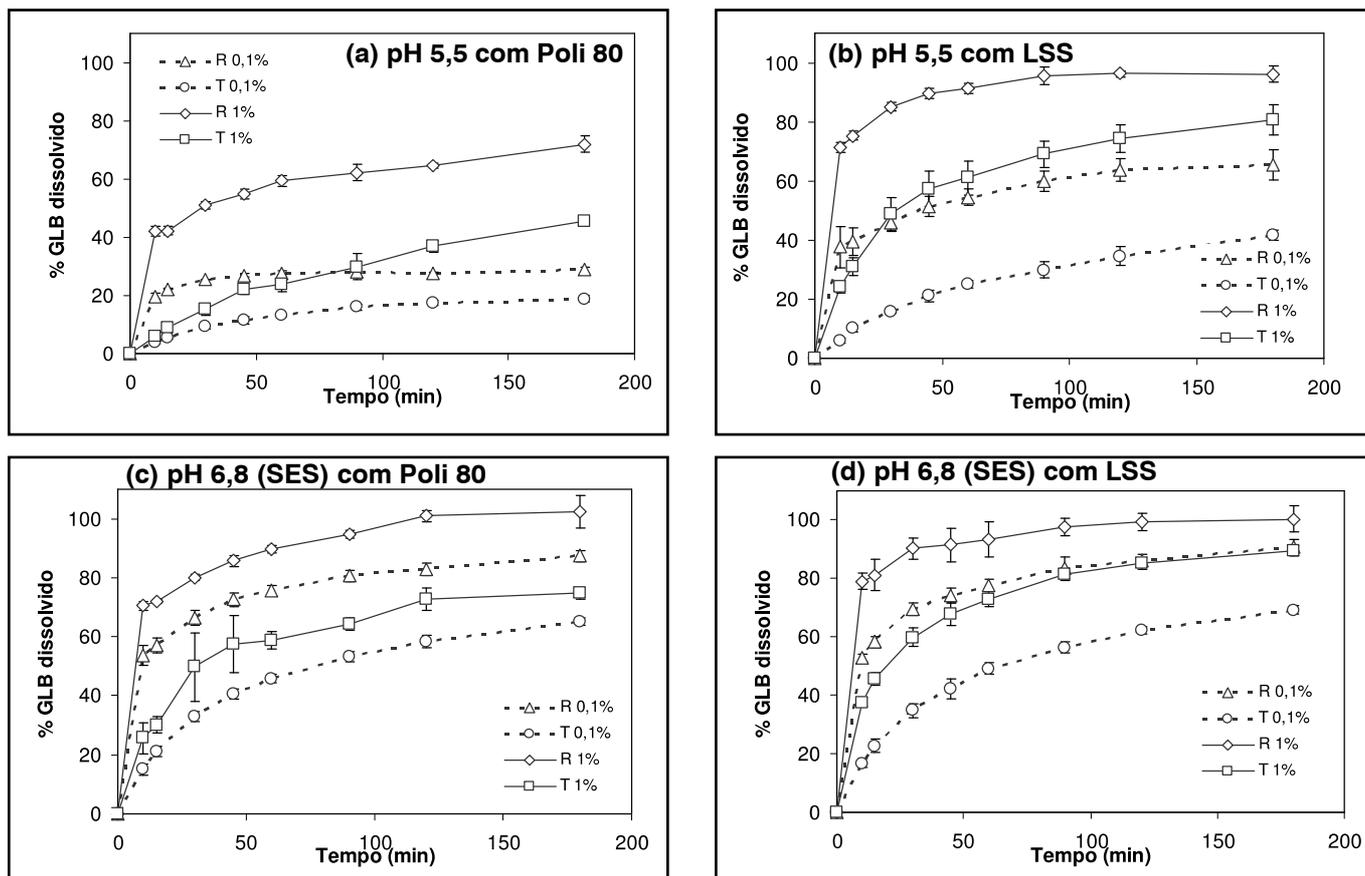


FIG. 1 - Perfis de dissolução da GLB dos comprimidos referência (R) e teste (T) em meio tampão acetato pH 5,5 adicionado de Poli 80 (a) ou LSS (b), ambos a 0,1% ou 1% (p/V) e meio SES pH 6,8 adicionado de Poli 80 (c) ou LSS (d), ambos a 0,1% ou 1% (p/V) (valores médios  $\pm$  dp; n = 6).

lações. De acordo com Lobenberg *et al.* (2000) e Wei & Lobenberg (2006), os melhores meios para discriminar as formulações de GLB empregadas em seu trabalho, foram aqueles que continham lecitina e taurocolato de sódio. Porém, tais tensoativos são custosos ao desenvolvimento das análises e também se acredita que surfactantes sintéticos, quando empregados em concentrações adequadas, podem refletir com sucesso o meio fisiológico. El-Massik *et al.* (1996) com o objetivo de propor um meio de dissolução para formulações de GLB, testaram diferentes combinações de pH com Poli 80 e etanol, ambos em diferentes concentrações. Embora os autores tenham utilizado também etanol, que não é recomendado, observa-se tanto pelos seus resultados, como pelos apresentados na **Tabela I**, que o poder solubilizante dos tensoativos LSS e Poli 80 variavam de acordo com o pH do meio.

Portanto, é interessante analisar o efeito combinado do pH e surfactante na solubilização da GLB. De acordo com os resultados apresentados na **Tabela I**, os menores valores de Cs são para o pH 4,5 e para as menores concentrações de tensoativo. Os efeitos do pH juntamente com o tensoativo na promoção da solubilidade da GLB podem ser observados na **Figura 2**, onde se percebe que a influência do surfactante é mais acentuada para os menores valores de pH, pois no meio tampão acetato pH 4,5 as razões de Cs são maiores do que as encontradas para pH 5,5 e 6,8. O LSS, tensoativo aniônico, tem seu efeito drasticamente reduzido em pH 6,8; uma vez que as espécies ionizadas do fármaco têm menos afinidade pelas micelas de LSS. Esta observação leva a acreditar que as concentrações máximas atin-

gidas para a GLB nos testes de solubilidade e dissolução, deveram-se, principalmente ao pH.

**TABELA I**  
Solubilidade da GLB nos meios avaliados, expressa como concentração de saturação (Cs) a 37°C

Meio	Concentração de GLB Cs ( $\mu\text{g/mL}$ )
Tampão pH 4,5	ND
Tampão pH 4,5 + Poli 80 0,1%	3,49
Tampão pH 4,5 + Poli 80 1%	12,82
Tampão pH 4,5 + LSS 0,1%	8,79
Tampão pH 4,5 + LSS 1%	74,63
Tampão pH 5,5	ND
Tampão pH 5,5 + Poli 80 0,1%	8,85
Tampão pH 5,5 + Poli 80 1%	29,02
Tampão pH 5,5 + LSS 0,1%	43,81
Tampão pH 5,5 + LSS 1%	290,01
SES	9,80
SES + Poli 80 0,1%	46,22
SES + Poli 80 1%	86,82
SES + LSS 0,1%	71,87
SES + LSS 1%	161,65

ND = Não determinado (concentração  $<<$  5 $\mu\text{g/mL}$ ).

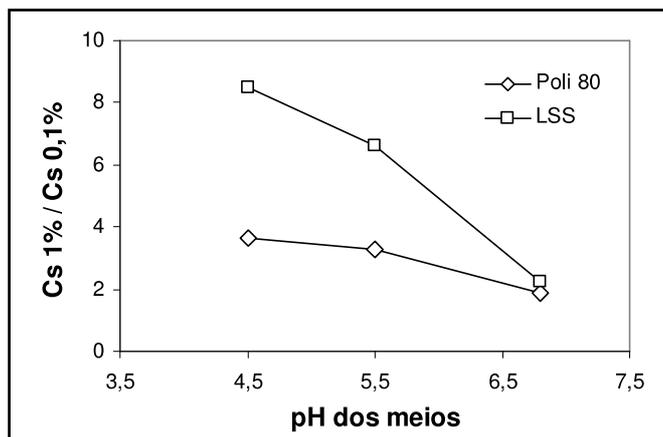


FIG. 2 - Promoção da solubilidade da GLB nos meios de dissolução contendo Poli 80 e LSS expressa como razão entre as concentrações de saturação do fármaco quando do emprego de 0,1 e 1% de cada tensoativo em função do pH dos meios.

De forma semelhante, Löbenberg & Amidon (2000) discutiram a influência de ambos fatores (pH e tensoativo) na solubilização do piroxicam, concluindo que o aumento na dissolução deveu-se muito mais ao aumento de pH do que ao efeito do surfactante, porém os autores afirmam que há uma resposta conjunta. Isso também pôde ser comprovado na dissolução da GLB. A maior influência do pH na dissolução da GLB pode ser exemplificada na Figura 3 onde são apresentados os perfis de dissolução do medicamento referência em uma mesma concentração de determinado tensoativo com diferentes valores de pH dos meios. Em pH 4,5 o surfactante não foi suficiente para promover dissolução da GLB como em 6,8. As mesmas conclusões são obtidas quando analisados os perfis do medicamento teste, porém com menores percentuais dissolvidos alcançados.

Na USP 23 – NF 18 (The United, 1995) foi proposto para a GLB o meio tampão borato pH 9,5 para o teste de dissolução. Embora tal meio tenha sido retirado do compêndio nas edições posteriores e contestado por autores como El-Massik *et al.* (1996), quando as formulações teste e referência deste estudo, que *in vivo* não foram bioequivalentes, foram ensaiadas em tampão borato pH 9,5; ambos produtos apresentaram mais de 90% de dissolução para o fármaco em apenas 15 minutos. A utilização dessa condição demonstra a marcante influência da elevação do pH na dissolução da GLB.

Todos os meios testados para as formulações de GLB mostraram-se satisfatórios quanto à capacidade de distinguir as formulações. Porém, partindo-se da premissa que o percentual máximo dissolvido de GLB para o medicamento referência deveria estar próximo de 100%, tal fato não foi observado em alguns meios, mesmo não tendo sido alcançada a saturação. Os meios de dissolução que apresentaram os maiores percentuais dissolvidos para o referência foram os de elevada Cs de GLB (>70µg/mL), ou seja, numa rigorosa condição *sink* onde a solubilização total da dose de 5mg resultasse em concentração inferior a 0,1Cs.

Embora, Lindenberg, Kopp & Dressman (2004) tenham ponderado em seu trabalho que a GLB poderia ser também classificada como um fármaco da classe IV, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Amidon *et al.*, 1995), a maioria dos autores a consideram como fármaco classe II, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (Galia *et al.*,

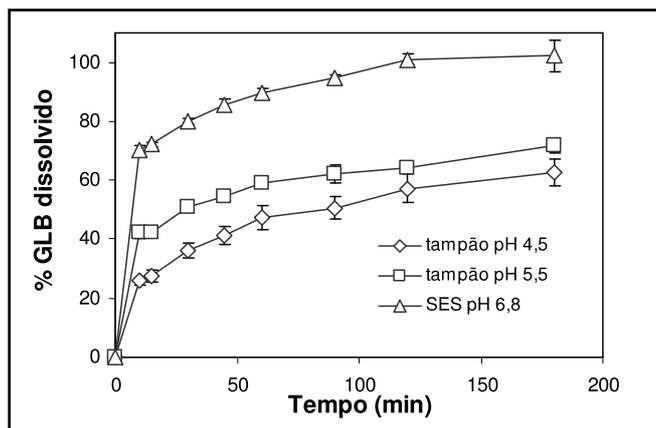


FIG. 3 - Perfis de dissolução da GLB do comprimido referência nos meios SES, tampão acetato pH 5,5 e tampão acetato pH 4,5 adicionados de Poli 80 na concentração de 1% (p/v).

1998). Dessa forma, a dissolução para a GLB pode ser considerada como o passo limitante para que a molécula seja absorvida e possa exercer a função hipoglicêmica.

No estudo de CIVIV buscou-se atingir um nível C múltiplo, uma vez que não houve sucesso em aplicar o nível A, face à dificuldade de definir o modelo de compartimento farmacocinético da GLB e de obter valores concordantes entre si para a constante de eliminação, dependendo do método de cálculo empregado. Portanto, sabendo que a área sob a curva (ASC) pode ser considerada representativa da quantidade de fármaco absorvido após a administração de dose única de um medicamento que alcança a circulação sistêmica (DI Santo, 1995), esse foi o parâmetro farmacocinético escolhido para a CIVIV nível C múltiplo, embora quando tal correlação é desenvolvida com sucesso, uma correlação nível A também poderia ter sido alcançada (Uppoor, 2001).

A interpretação dos gráficos de CIVIV foi realizada avaliando-se o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) conjuntamente com a inclinação e os perfis de dissolução (Volpato *et al.*, 2004). O  $r^2$  é descrito por Cutler, Beyssac & Aiache (1997) como medida da proporção total da variância e a inclinação aparece como um dado razoável da extensão da CIVIV. Lonbenberg *et al.* (2000) sugerem as melhores condições de dissolução para comprimidos de GLB, com meios biorrelevantes, através da análise do  $r^2$  obtido nos gráficos de CIVIV. Para uma correlação C múltipla, os dados *in vivo* constam de valores de área, e não fração de fármaco absorvida como nos exemplos acima, logo a interpretação dos parâmetros estatísticos torna-se mais complexa, principalmente para a inclinação. Assim, foram consideradas como não adequadas as condições que forneceram baixa quantidade dissolvida para o medicamentos referência (ver Figura 1) bem como aquelas que forneceram inclinação muito diferente entre os produtos e/ou de elevado valor (quase uma linha vertical). Quanto ao  $r^2$ , aqueles superiores a 0,7 (equivalente a coeficiente de correlação >0,84) foram considerados razoavelmente adequados para o caso.

Desse modo, a condição de SES pH 6,8 adicionado de Poli 80 1% desponta como a mais promissora dentre as testadas, uma vez que apresentou, para ambas formulações,  $r^2$  superior a 0,7 e semelhantes entre si, inclinação das retas relativamente próximas, quando comparadas às outras condições, e ainda, percentual dis-

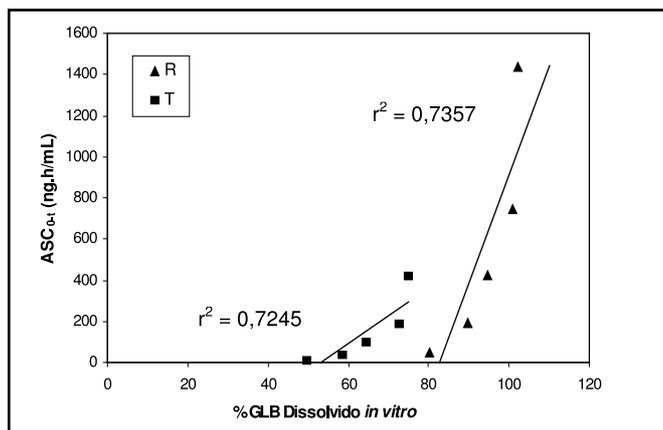


FIG. 4 - Correlação entre ASC parcial e o % de dissolução de GLB obtido no meio SES com Poli 80 1% (p/V), em tempos iguais ( $r^2$  = coeficiente de determinação).

solvido para o medicamento referência próximo a 100%. (Figura 4)

## REFERÊNCIAS

- Amidon, G.L.; Lennernas, H.; Sah, V.P.; Crison, J.R. A theoretical basic for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, 12, n.3, p.413-420, 1995.
- Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 jun. 2003a.
- Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 901, de 29 de maio de 2003. Estabelece regulamento técnico para medicamentos genéricos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 jun. 2003b.
- Budavari (Ed.) The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13. ed. Whitehouse Station, N. J.: Merck e Co. Inc., 2001.
- CDER/FDA. Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms, 1997. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Acesso em mai. 2003.
- Cutler, D. J.; Beyssac, E.; Aiache, J.M. Level B and C in vivo/in vitro correlations: statistical considerations. *Int. J. Pharm.*, v.158, p. 185-193, 1997.
- Di Santo, A. R. Bioavailability and Bioequivalency Testing. In: MISCHER, A. (Ed.). *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 19th ed. Easton: Mack Publishing Company, 1995. v1. cap.35, p.605-612.
- Dressman, J.B.; Reppas, C. In vivo-in vitro correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v. 11, suppl. 2, p.S73-S80, 2000.
- El-Massik, M.A.; Darwish, I.A.; Hassan, E.E.; El-Khordagui, L.K. Development of a dissolution medium for glibenclamide. *Int. J. Pharm.*, v.140, p.69-76, 1996.

- Farmacopéia Brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2001. fasc.3. Monografia Glibenclamida comprimidos 153.1.
- Galia, E.; Nicolaidis, E.; Horter D.; Lobenberg, R.; Reppas, C.; Dressman, J.B. Evaluation of various Dissolution Media for Predicting In Vivo Performance of Classe I and II Drugs. *Pharm. Res.*, v.15, nº 5, p.698-705, 1998.
- Gilman, A. G.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor, P. The pharmacological basis of therapeutics. 10 ed. McGraw-Hill, 2001.
- Levy, G.; Leonards, J.; Procknal, J. Development of in vitro dissolution tests which correlate quantitatively with dissolution rate-limited drug absorption in man. *J. Pharm. Sci.*, v. 54, nº 12, p. 1719-1722, 1965.
- Lindenberg, M.; Kopp, S. Dressman, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur. J. Pharmaceut. Biopharm.*, v.58, p. 265-278, 2004.
- Löbenberg, R.; Amidon, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharmaceut. Biopharm.*, v.50, p. 3-12, 2000.
- Löbenberg, R.; Krämer, J.; Shah, V.P.; Amidon, G.L.; Dressman, J.B. Dissolution Testing as a Prognostic tool for Oral Drug Absorption: Dissolution Behavior of Glibenclamide. *Pharm. Res.*, v.17, p. 439-444, 2000.
- Martindale: The Complete Drug Reference. 32th ed. London: Pharmaceutica Press, 1999. p.319-320.
- Morita, T. Manual de soluções, reagentes e solventes. Padronização-preparação-purificação. Editora Edgard Blücher Ltda. IV.56.11, 2001, p.276.
- Silva, M.O.R. Estudos de correlação *in vivo/in vitro* empregando comprimidos de nimesulida não bioequivalentes. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
- Synchrophar – Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos. *Relatório Final do Estudo de Bioequivalência de Glibenclamida 5 mg*. São Paulo, Set. 2001.
- United States Pharmacopeia. 23th ed. NF-18, Supp. 1. Rockville: U.S.P Convention, 1995.
- United States Pharmacopeia. 27th ed. Rockville: U.S.P Convention, 2004
- Uppoor, V.R.S. Regulatory perspectives on in vitro (dissolution)/in vivo (bioavailability) correlations. *J. of Controll. Rel.*, v.72, p.127-132, 2001.
- Volpato, N.M.; Silva, R.L.; Brito, A.P.P.; Gonçalves, J.C.S.; Vaisman, M.; Noel, F. Multiple level C in vitro/in vivo correlation of dissolution profiles of two L-thyroxine tablets with pharmacokinetics data obtained from patients treated for hypothyroidism. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.21, p. 655-660, 2004.
- Wei, H. & Löbenberg, R. Biorelevant dissolution media as a predictive tool for glyburide a class II drug. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.29, p. 45-52, 2006.

Endereço para correspondência

N. M. Volpato

Departamento de Produção e Controle de Medicamentos

Faculdade de Farmácia da/UFRGS

Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre, RS, 90610-000

E-mail: nadiavolpato@farmacia.ufrgs.br