

Análise químico-farmacêutica do fluconazol e especialidade farmacêutica cápsula

Helenilze Coelho¹, Audrei Nunes Fernandes Matinatti¹, Magali Benjamim de Araújo^{1*},
Ana Maria Bergold², Francie Bueno²

¹Departamento de Farmácia-Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas/Centro Universitário Federal,

²Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O fluconazol, derivado triazólico, apresenta atividade antifúngica sendo indicado no tratamento de grande variedade de infecções fúngicas. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estabelecer parâmetros de controle de qualidade para a matéria-prima de fluconazol e forma farmacêutica cápsula, subsidiando a elaboração da monografia para a Farmacopéia Brasileira. A matéria-prima do fluconazol pode ser caracterizada pelos seguintes testes: aspecto, solubilidade e faixa de fusão. As impurezas do fluconazol podem ser detectadas por ensaio-limite de cloreto, sulfato, ferro, metais pesados, perda por dessecação e cinzas sulfatadas. Entre as provas de identificação pode-se reconhecer o fármaco por reações químicas de grupos funcionais e por técnicas instrumentais. Para determinação quantitativa do fluconazol na matéria-prima, empregou-se a volumetria com ácido perclórico, em meio acético e detecção do ponto final por indicadores e a espectrofotometria na região do ultravioleta, utilizando hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm. Os parâmetros estabelecidos para o controle de qualidade das amostras de cápsulas dos laboratórios analisados foram aspecto, variação do peso, desintegração, teste de dissolução e perfil de dissolução. O método de doseamento do fluconazol, na forma farmacêutica cápsula, por espectrofotometria na região do ultravioleta apresentou linearidade, especificidade, precisão e exatidão dentro dos critérios de aceitação. Os lotes dos laboratórios C, D apresentaram perfis de dissolução similares ao medicamento de referência (laboratório E), demonstrando haver um comportamento homogêneo para estes medicamentos. Os lotes dos laboratórios A e B não apresentaram homogeneidade quanto ao perfil de dissolução, quando comparado com os demais laboratórios.

Unitermos

- Fluconazol
- Cápsulas
- Análise Farmacêutica
- Perfil de dissolução
- Espectrofotometria

*Correspondência:

M. B. Araújo
Depto. de Farmácia
Efoa/Ceufe
Rua Gabriel Monteiro da
Silva, 714
37.130-000
Alfenas MG - Brasil
E-mail: magali@int.efoa.br

INTRODUÇÃO

O fluconazol é derivado triazólico resultante da substituição do anel imidazólico por triazólico, o que favoreceu amplo espectro de ação e seletividade para o citocromo P₄₅₀ da célula fúngica. Exerce atividade sobre várias espécies de fungos causadores de micoses profundas e mucocutâneas, como *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* e várias espécies de cândida (Janssen *et al.*, 1987; Kowalsky *et al.*, 1990; Korolkovas, 2003).

A resolução nº84 (Brasil, 2002a) disciplina o registro, a comercialização, a dispensação de medicamentos genéricos e faz referência à necessidade de assegurar a qualidade, segurança e eficácia dos produtos farmacêuticos. A intercambialidade dos medicamentos deve ser assegurada não somente pela avaliação da qualidade das matérias-primas empregadas nos processos de fabricação, mas também mediante estudos de equivalência farmacêutica, bioequivalência e biodisponibilidade. A necessidade de tais estudos está relacionada à probabilidade de variação de efeito terapêutico dos medicamentos que contenham o mesmo fármaco (Bermudez, 1994; Moretto, 1999).

Considerando os medicamentos genéricos e possíveis similares do mercado nacional, o presente trabalho objetiva subsidiar a elaboração da monografia farmacopéica do fluconazol para matéria-prima e forma farmacêutica cápsula, de forma a garantir a qualidade e segurança dos produtos farmacêuticos contendo esse fármaco.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Fármaco, produtos farmacêuticos, reagentes e solventes

O fluconazol substância química de referência, lote 53692199/ZA-000805, foi cedido pelo laboratório Pfizer. A matéria-prima lote FZ070299, fabricada em 02/99 com validade em 01/02, foi adquirida do laboratório Biolab/Sanus.

As amostras das cápsulas contendo fluconazol 150 mg adquiridas dos laboratórios fabricantes foram codificadas por letra, Laboratório A, lote 9901219 A, fabricação em 04/99 e validade em 04/02; Laboratório B, lote 2056, fabricação em 03/99, validade em 03/01; Laboratório C, lote AA917, fabricação em 06/99, validade em 06/01; Laboratório D, lote 905225, fabricação em 05/99, validade em 05/01 e Laboratório E (medicamento de referência), lote 904-92003 B, fabricação em 04/99 com validade em 04/01, todos envasados em blister.

Os reagentes e os solventes utilizados nas análises foram de grau pró-análise.

Aparelhagem

Foram utilizados os seguintes equipamentos: aparelho para determinação de ponto de fusão Büchi, modelo 535; estufa de secagem Olidoff, modelo CZ; forno de mufla, modelo 315-s; medidor de pH Analion; balança analítica Kern, modelo 410; espectrofotômetro Shimadzu, modelo 1601 2PC; sistema de purificação de água TKA-HPW; modelo LAB-HPW, aparelho de desintegração Ética, modelo 300-1; aparelho de dissolução Ética, modelo 299/6, e Infravermelho Bomem.

Métodos

Matéria-prima

Caracterização

Os testes de caracterização desenvolvidos para matéria-prima basearam-se em relatos da literatura e informações dos fornecedores, podendo ser caracterizada pelo aspecto, ponto de fusão, solubilidade, determinação de impurezas como cloreto, sulfato, metais pesados, ferro cinzas sulfatadas e perda por dessecação (Merck, 1995; Connors, 1982; Korolkovas, 1984).

Identificação

Identificou-se o fluconazol na matéria-prima por reações químicas de grupamentos funcionais e por técnicas espectrofotométricas (Ewing, 1988; Cheronis *et al.*, 1963; Shriner *et al.*, 1983; Soares *et al.* 1988).

Reconhecimento da função alcoólica: (Teste de Jones): Dissolveram-se cerca de 50,0 mg de fluconazol em 20 gotas de acetona pura, adicionaram-se com agitação, 8 gotas de ácido crômico. O aparecimento de precipitado verde confirma a presença da função alcoólica.

Reconhecimento do átomo de flúor: (Teste de Keller): Adicionaram-se a cerca de 50,0 mg de fluconazol, 3,0 mL de cloreto férrico 1% SR em ácido acético glacial e agitou-se. Adicionou-se ácido sulfúrico R pelas paredes do tubo. Considera-se positivo a coloração que passa de laranja a amarelo.

Espectrofotometria na região do ultravioleta: Preparou-se solução de fluconazol, contendo 200,0 mg/mL em solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Procedeu-se à varredura espectral da amostra em cubeta de quartzo de 1 cm de espessura após o aparelho ter sido calibrado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

Espectrofotometria na região do infravermelho: O espectro do fluconazol na região do infravermelho foi

obtido pela técnica de KBr, por comparação com o padrão de referência.

Doseamento volumétrico

A determinação quantitativa da matéria-prima em meio não-aquoso, utilizando solução de ácido perclórico 0,1 M como titulante e cloreto de metilosilanilínio e *p*-naftolbenzeína como indicadores, usual no doseamento de substâncias de caráter base fraca, seguiram procedimentos descritos na literatura (Becket *et al.*, 1988; Korolkovas, 1984).

Validação do método de doseamento do fluconazol por espectrofotometria

Para determinação da linearidade, preparou-se solução contendo 1000,0 mg/mL de fluconazol padrão, que foram dessecados em estufa a 105 °C por duas horas, em hidróxido de sódio 0,1 M. Desta solução transferiram-se 5 alíquotas, medidas em bureta, cujos volumes variavam de 2,5 a 7,0 mL para balões volumétricos de 25 mL. Completaram-se os volumes dos balões com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Obtiveram-se, assim, concentrações que variaram de 100,0 a 280,0 mg/mL de fluconazol padrão. As soluções foram preparadas em triplicata e as leituras das absorvâncias efetuadas contra branco de hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm.

A especificidade do método foi determinada preparando-se soluções de padrão e da forma farmacêutica cápsula, do medicamento de referência, contendo 200,0 mg/mL de fluconazol em solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Efetuaram-se as leituras das soluções em 261 nm, em cubeta de quartzo de 1 cm de espessura, após o aparelho ter sido calibrado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

Na avaliação da precisão, preparou-se solução de fluconazol em solução de hidróxido de sódio 0,1 M com concentração final de 200,0 mg/mL. Efetuaram-se as leituras de absorvâncias contra branco de solução de hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm. Os ensaios foram realizados inter-

dias com 5 réplicas preparados em triplicata.

Para o teste de recuperação, foram preparadas soluções dos produtos farmacêuticos e do padrão com concentração de 1000,0 mg/mL em solução de hidróxido de sódio 0,1 M, transferindo-se alíquotas para balões volumétricos de 50 mL, conforme o esquema da Tabela I.

Foram feitas duas determinações para cada concentração e calculadas as percentagens de recuperação (% R).

• Determinação do teor de fluconazol na matéria-prima

Para determinação do teor de fluconazol na matéria-prima preparam-se em triplicata soluções de fluconazol padrão e 10 réplicas de soluções da matéria-prima com concentrações finais de 200,0 mg/mL. As leituras de absorvâncias dessas soluções foram efetuadas contra branco de hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm. O teor de fluconazol, na matéria-prima, foi calculado através dos valores das absorvâncias obtidas em relação ao padrão.

• Determinação do teor de fluconazol na forma farmacêutica cápsula

Pesaram-se 20 cápsulas correspondente a cada laboratório determinando-se os pesos médios. O pó foi misturado e homogeneizado. Pesaram-se exatamente o equivalente a 200,0 mg de fluconazol, que foram transferidos para balão volumétrico de 200 mL, completando-se o volume do balão com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Homogeneizou-se em ultra-som por 10 minutos e filtrou-se em papel de filtro quantitativo, desprezando-se os primeiros 10 mL. Retirou-se alíquota de 5 mL do filtrado, transferindo-se para balão volumétrico de 25 mL e completando-se o volume do balão com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. A solução final contém 200,0 mg/mL de fluconazol. Foram efetuadas as leituras das absorvâncias das soluções, de cada laboratório, a 261 nm. O teor de fluconazol nas amostras das cápsulas, de cada laboratório, foi calculado através dos valores das absorvâncias obtidas em relação ao padrão.

TABELA I - Preparo das soluções para o teste de recuperação de fluconazol, por espectrofotometria na região do UV, utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 M

Produtos farmacêuticos 1000,0 µg/mL (mL)	Solução padrão 1000,0 µg/mL (mL)	Concentração final (µg/mL)
5,0	-	100,0
5,0	2,5	150,0
5,0	5,0	200,0
5,0	7,5	250,0
-	5,0	100,0

Cápsulas

Análises física e físico-química, identificação do princípio ativo através dos grupos funcionais da molécula, variação do peso e teste de desintegração foram realizados para avaliação da qualidade das cápsulas (F. Bras., 1988; Soares *et al.*, 1989).

Para o teste de dissolução utilizou-se aparato 2, com 900 mL de solução de tampão fosfato 0,2 M pH 7,0 como meio de dissolução mantido a $37,0 \pm 0,5$ °C, velocidade de agitação igual a 100 rpm, analisando-se 5 cápsulas de cada fabricante. Coletaram-se alíquotas de 10 mL do meio no tempo de 60 minutos, filtrando-se em papel de filtro quantitativo Whatman 44. Solução de padrão foi preparada na concentração de 166,67 mg/mL. Procedeu-se à leitura das absorvâncias das soluções em espectrofotômetro na região do UV a 261 nm, utilizando tampão fosfato monobásico 0,2 M pH 7,0 como branco. O ensaio foi feito em duplicata.

A curva de percentagem dissolvida do fármaco em função do tempo foi obtida, utilizando-se os parâmetros estabelecidos no ensaio de dissolução, porém, coletando-se as amostras nos intervalos de 10, 20, 30, 40, 50 e 60

minutos, após a introdução da cápsula no meio de dissolução. O ensaio foi realizado em triplicada. Após a retirada de cada alíquota, efetuou-se a reposição do volume do meio de dissolução, empregando-se tampão fosfato monobásico 0,2 M pH 7,0. Alíquotas de 10 mL foram filtradas em papel de filtro quantitativo Whatman 44 e as leituras das absorvâncias das soluções efetuadas em espectrofotômetro na região do UV a 261 nm, usando tampão fosfato monobásico 0,2 M pH 7,0 como branco.

A comparação entre os perfis de dissolução dos lotes analisados, obtidos em condições idênticas, foi feita empregando-se o método modelo independente calculando-se o fator de diferença f_1 e fator de semelhança f_2 (Brasil, 2002b).

RESULTADOS

Matéria-prima

A caracterização, identificação e doseamento do fluconazol na matéria-prima originaram os resultados expostos na Tabela II.

TABELA II - Valores experimentais obtidos no controle de qualidade de fluconazol matéria-prima.

ANÁLISES APLICADAS	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
CARACTERIZAÇÃO		
Descrição (forma, odor e cor)	Pó branco e inodoro	De acordo
Solubilidade *	Água, <i>n</i> -hexano (PS), etanol, metanol (FS), acetona, dioxano, HCl 0,1 M, NaOH 0,1 M (S), acetato de etila, clorofórmio e éter etílico (LS)	De acordo
Faixa de fusão	138 °C a 140 °C	139-139,6 °C
Cloreto	Máximo 350 ppm	Menor que 350 ppm
Sulfato	Máximo 0,10%	Negativo
Metais pesados	Máximo 25 ppm	Menor que 25 ppm
Ferro	Máximo 25 ppm	Negativo
Perda por dessecação	Máximo 0,50%	0,38%
Cinzas sulfatadas	Máximo 0,20%	0,01%
IDENTIFICAÇÃO		
Varredura espectral na região do UV	O espectro de absorção na faixa de 200 a 400 nm exibe máximo em 261 nm	Positivo
Reconhecimento da função alcoólica	Precipitado verde	Positivo
Reconhecimento do átomo de flúor	Coloração deve passar a laranja e amarelo	Positivo
Espectro no infravermelho	Espectro semelhante ao do padrão	Positivo
DOSEAMENTO		
Volumetria em meio não aquoso		
- Cloreto de metilrosanilínio		$98,19 \pm 0,39$
- <i>p</i> -naftolbenzeína	Mínimo 98% máximo 102%	$98,63 \pm 0,39$
Espectrofotometria na região do UV		$100,15 \pm 0,92$

* Nomenclatura de acordo com a Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988)

Validação da metodologia analítica

Os parâmetros de validação da metodologia analítica estão representados nas Tabelas de III a V. A curva de calibração está representada na Figura 1.

Teste de recuperação

Os resultados do teste de recuperação para fluconazol, nas especialidades farmacêuticas cápsulas dos diversos laboratórios, podem ser observados na Tabela V.

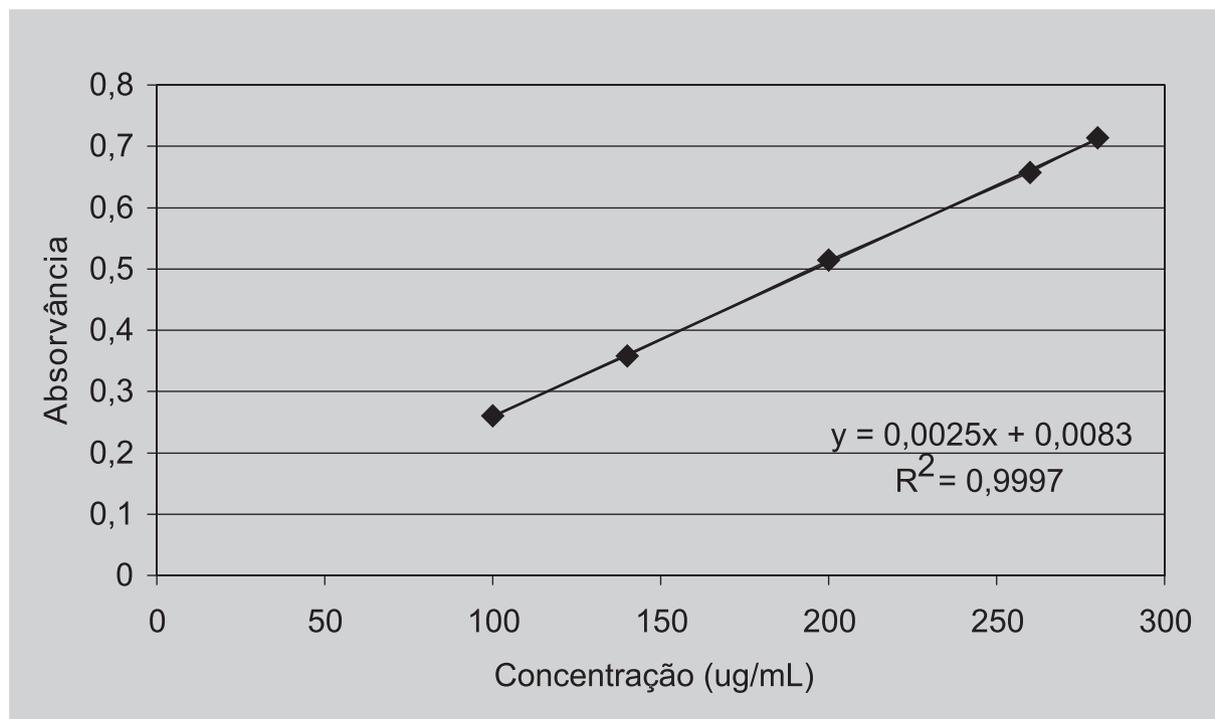


FIGURA 1 - Curva de calibração para fluconazol padrão por espectrofotometria de absorção no UV, utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm.

TABELA III – Dados relativos à especificidade do método para fluconazol, por espectrofotometria na região do UV, utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm

Amostra	Absorvância da solução*	Concentração encontrada (µg/mL)	Absorvância da solução**	Concentração encontrada (µg/mL)	Percentual de concordância (%)
1	0,521	200,00	0,551	208,72	104,36
2	0,528	202,69	0,546	206,82	102,03
3	0,528	202,69	0,547	207,20	102,22
4	0,516	198,08	0,539	204,16	103,07
5	0,518	198,85	0,550	208,34	104,77
6	0,528	202,69	0,549	207,96	102,60
7	0,518	198,85	0,549	207,96	104,58
8	0,519	199,23	0,547	207,20	104,00
9	0,519	199,23	0,548	207,58	104,19
10	0,523	200,77	0,549	207,96	103,58

*na ausência de excipiente; **na presença de excipientes; Média da concordância = 103,54; desvio padrão relativo = 0,97%

TABELA IV - Valores experimentais obtidos na determinação da precisão inter-dias para fluconazol pelo método espectrofotométrico na região do UV, em meio hidróxido de sódio 0,1 M 261 nm

AMOSTRA (N°)	ABSORVÂNCIA 1° dia	ABSORVÂNCIA 2° dia
1	0,551	0,549
2	0,546	0,549
3	0,547	0,547
4	0,539	0,548
5	0,550	0,549
Média	0,547	0,548
CV (%)	0,91	0,18

TABELA V - Valores experimentais obtidos no teste de recuperação realizado nas especialidades farmacêuticas cápsulas dos laboratórios A, B, C, D e E, pelo método espectrofotométrico no UV em meio hidróxido de sódio 0,1 M a 261 nm

AMOSTRAS	Concentração teórica (µg/mL)	Quantidade de padrão incorporada (µg/mL)	Quantidade de padrão recuperada (µg/mL)	Percentual de resposta (%)	Média (%)
Laboratório A	150,00	50,00	49,63	99,26	100,01
	200,00	100,00	102,26	102,26	
	250,00	150,00	147,75	98,50	
Laboratório B	150,00	50,00	49,25	98,50	99,08
	200,00	100,00	100,00	100,00	
	250,00	150,00	148,12	98,75	
Laboratório C	150,00	50,00	49,62	99,24	99,16
	200,00	100,00	100,00	100,00	
	250,00	150,00	147,36	98,24	
Laboratório D	150,00	50,00	49,25	98,50	99,00
	200,00	100,00	100,38	100,38	
	250,00	150,00	147,17	98,11	
Laboratório E	150,00	50,00	49,25	98,50	99,09
	200,00	100,00	98,52	98,52	
	250,00	150,00	150,38	100,25	

Cápsulas

Os resultados das análises realizadas para as cápsulas dos diferentes laboratórios estão expostos na Tabela VI.

Teste de dissolução

Os resultados obtidos no teste de dissolução das cápsulas encontram-se na Tabela VII. Os perfis de dissolução das amostras dos diferentes laboratórios estão representados na Figura 2 e, na Tabela VIII encontram-se os valores correspondentes ao cálculo dos fatores de diferença (f1) e semelhança (f2) entre os perfis de dissolução dos

laboratórios A, B, C, D com o medicamento de referência (laboratório E).

DISCUSSÃO

A integração do setor produtivo com o controle de qualidade, na indústria de medicamentos, exerce papel fundamental na garantia da execução das boas práticas de fabricação e de laboratório para que o fármaco possa alcançar sua forma farmacêutica final, garantindo ao paciente medicamento de ótima qualidade (Santoro, 1988).

A inobservância dos critérios relativos à qualidade das matérias-primas empregadas na produção dos medicamentos pode interferir na qualidade biofarmacêutica,

TABELA VI - Valores experimentais obtidos no controle de qualidade da forma farmacêutica cápsula dos diferentes laboratórios

ANÁLISES APLICADAS	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
CARACTERIZAÇÃO		
Aspecto	Cápsulas gelatinosas contendo pó branco	De acordo
IDENTIFICAÇÃO		
Varredura espectral na região do UV	Exibe máximo em 261 nm na faixa de 200 a 400 nm	Positivo
Reconhecimento da função alcoólica	Precipitado verde	Positivo
Reconhecimento do átomo de flúor	Coloração deve passar a laranja e amarelo	Positivo
Varição de peso*		
Laboratório A		319,60 ± 7,5%
Laboratório B	Até 300 mg ± 10%	263,72 ± 10%
Laboratório C	Acima de 300 mg ± 7,5%	309,05 ± 7,5%
Laboratório D		215,48 ± 10%
Laboratório E		361,51 ± 7,5%
Teste de desintegração*		
Laboratório A		5 min
Laboratório B	Máximo 30 min	5 min
Laboratório C		5 min
Laboratório D		5 min
Laboratório E		20 min
DOSEAMENTO		
Espectrofotometria na região do UV		
Laboratório A		99,14 ± 0,60
Laboratório B	Mínimo 90% e máximo 110%	102,42 ± 0,26
Laboratório C		102,53 ± 0,50
Laboratório D		96,32 ± 0,56
Laboratório E		103,69 ± 0,65

* Testes realizados de acordo com a Farmacopéia Brasileira 4ª edição

sendo fundamental a realização de análises físico-química e química da matéria-prima a ser utilizada na fabricação dos medicamentos para certificar sua adequação aos compêndios farmacêuticos.

Por outro lado, estudos de dissolução *in vitro* são relevantes, devido o reconhecimento dos fatores responsáveis pelas alterações na liberação do fármaco, a partir de sua forma farmacêutica. Os resultados desses estudos auxiliam na resolução de muitos problemas relativos à biodisponibilidade de medicamentos (Ferraz, 1994; Storpirtis *et al.*, 1999).

Seguindo estes pressupostos, a matéria-prima de fluconazol foi caracterizada pela descrição, apresentando-se como pó, branco, livre de partículas estranhas, compatível com o descrito na literatura (Merck, 1995). A diferen-

ça de solubilidade do fluconazol nos diversos solventes tem relevância para auxiliar os ensaios de impurezas, identificação e doseamento do princípio ativo. A maior solubilidade do fármaco foi verificada em solventes polares como etanol e metanol. Mostrou-se solúvel em acetona, solução de ácido clorídrico 0,1 M, dioxano e solução de hidróxido de sódio 0,1 M e pouco solúvel em acetato de etila e clorofórmio. As características para determinação de ponto de fusão observadas mostram uma faixa de fusão para o fluconazol de 139 °C a 139,6 °C, que confere com dados da literatura (Merck, 1995).

O reconhecimento dos grupos funcionais da molécula do fármaco foi efetuado por reações químicas descritas na literatura para função alcoólica e o átomo de flúor (Farmacopéia, 1988; Fitzgerald *et al.*, 1973; Korolkovas,

1984; Melentyeva *et al.*, 1998; Shriner *et al.*, 1983). O valor de absorção na região do ultravioleta no comprimento de onda de 261 nm corresponde à absorção máxima do fluconazol em solução de hidróxido de sódio 0,1M e pode ser utilizado para identificação do fármaco.

Os ensaios de impurezas realizados na matéria-prima representados inicialmente pela perda por dessecação

TABELA VII - Valores experimentais obtidos no teste de dissolução para fluconazol nas amostras de cápsulas provenientes dos laboratórios A, B, C, D e E, após 60 minutos, em meio de dissolução tampão fosfato monobásico 0,2 M pH 7,0 a 261 nm

AMOSTRAS	Q* (% de dissolução)	Q (médio) (%)
Laboratório A	84,72	86,14
	80,97	
	87,64	
	88,75	
	88,61	
Laboratório B	111,61	111,35
	112,92	
	109,27	
	112,40	
	110,57	
Laboratório C	84,95	84,55
	84,82	
	83,33	
	84,55	
	85,09	
Laboratório D	76,94	75,66
	73,05	
	76,24	
	74,30	
	77,78	
Laboratório E	89,56	86,01
	81,97	
	84,95	
	84,69	
	88,88	

*Os ensaios foram realizados em duplicata.

visou determinar a quantidade de substâncias voláteis de qualquer natureza. O valor médio das três determinações foi de 0,38% não alterando significativamente o grau de pureza da matéria-prima. A quantidade de impurezas inorgânicas presentes na matéria-prima foi avaliada pela determinação de cinzas sulfatadas apresentando valor baixo dessa impureza (0,01%). Para os ensaios-limites, preconizaram-se os limites estabelecidos pelo fornecedor do padrão de referência. A quantidade de metais pesados na amostra, verificada pela reação do metal pesado com tioacetamida, ficou abaixo do limite estabelecido de 25 ppm. Para o teste de ferro, cujo limite é de 25 ppm, observou-se que a amostra não apresentou nenhum traço de ferro, reconhecida pela coloração violácea, resultante da complexação de íons férrico com ácido tioglicólico SR. O ensaio para sulfato, com limite máximo estabelecido em 0,10%, foi realizado na amostra e não apresentou turbidez caracterizada pela reação de íons sulfato presentes com cloreto de bário SR. O ensaio-limite para cloreto foi proposto para detectar presença de cloreto na amostra decorrente da utilização da água utilizada no processo de síntese. A amostra apresentou turbidez, caracterizada pela reação química de nitrato de prata SR com cloreto, bem inferior ao limite estabelecido de 350 ppm.

O espectro de absorção, com melhor resolução para o fluconazol, foi obtido na concentração de 200 µg/mL utilizando solução de hidróxido de sódio 0,1 M como solvente, apresentando absorção máxima em 261 nm, permitindo desenvolver metodologia analítica para determinação do teor de fluconazol na matéria-prima e na forma farmacêutica cápsula.

Para estabelecer as características de desempenho do método analítico ao uso pretendido, parâmetros de linearidade, faixa de avaliação, sensibilidade, especificidade, precisão e exatidão foram determinados conforme recomendação da literatura (Brittain, 1988; Leite, 1998; Guia, 2000; Roque, 2001).

A linearidade avaliada pelo coeficiente de correlação $R^2 = 0,9997$ permite concluir a existência de correlação linear entre as concentrações de fluconazol e as absorvâncias das soluções. A faixa de avaliação representada pelos intervalos de concentrações dos níveis superior e inferior foram definidas pelas concentrações de 280,0 µg/mL

TABELA VIII - Valores correspondentes à determinação dos fatores de diferença (f1) e semelhança (f2) dos lotes dos laboratórios A, B, C e D com medicamento de referência (laboratório E)

	Laboratório A	Laboratório B	Laboratório C	Laboratório D
Fator de diferença (f1)	26,56	-	3,41	4,15
Fator de Semelhança (f2)	115,19	-	68,27	61,45

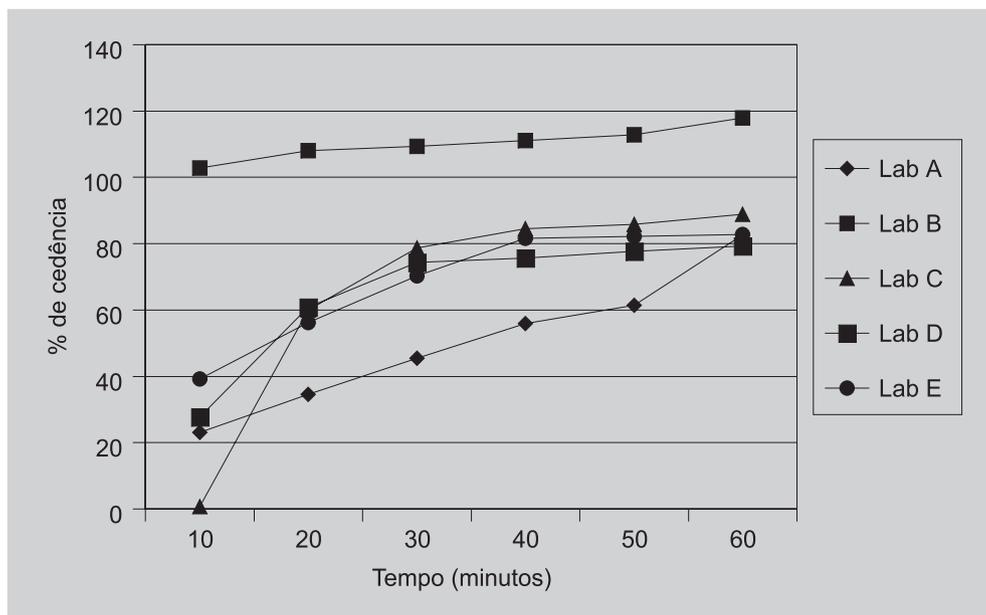


FIGURA 2 – Perfis de dissolução do fluconazol nas especialidades farmacêuticas cápsulas provenientes dos laboratórios A, B, C, D e E em meio de dissolução tampão fosfato monobásico 0,2 M pH 7,0 à 261 nm.

e 100,0 µg/mL de fluconazol e a sensibilidade avaliada pela inclinação da curva de calibração (Figura 1).

A especificidade do método é extremamente importante durante a validação de um método não cromatográfico, porque este não contém uma fase de separação que garanta a não interferência dos excipientes. Os métodos não cromatográficos contam com diferenças intrínsecas às propriedades físicas ou químicas para garantir sua capacidade de determinar com exatidão a concentração da substância em exame, mesmo em amostras contendo misturas complexas (Brittain, 1988). Nas análises realizadas, o desvio padrão relativo de 0,97% permite comprovar que os excipientes da formulação não interferem na determinação do fluconazol.

A precisão sob condições fixadas foi determinada através do coeficiente de variação, por aplicação do método à amostra em condições idênticas. Os valores do coeficiente de variação de 0,91% e 0,18% demonstram que o método possui precisão quando analisado em dias diferentes. São aceitáveis valores de coeficiente de variação igual ou abaixo de 1,0% (Brittain, 1988, Roque, 2000).

A exatidão do método foi determinada pelo teste de recuperação. Os valores médios obtidos para as cápsulas dos diversos laboratórios de 100,01%, 99,08%, 99,16%, 99,00% e 99,09%, correspondentes aos laboratórios A, B, C, D e E, indicam boa recuperação e o processo de preparo das amostras não é causador de perdas. Valores de porcentagem de recuperação entre 98% e 102% são aceitáveis (Brittain, 1988).

O doseamento desenvolvido para o fluconazol em meio não-aquoso com ácido perclórico foi proposto devido à pouca solubilidade do fluconazol em água e a possível protonização dos nitrogênios do anel triazólico (Catalan *et al.*, 1987). Os valores obtidos para a matéria-prima de 98,19% ± 0,39 utilizando cloreto de metilrosanilínio e 98,63 ± 0,39 com *p*-naftolbenzeína, não diferem entre si em mais que 1%. O teor de fluconazol na matéria-prima foi determinado, também, com base na curva de calibração do fluconazol substância química de referência apresentando teor de 100,15% ± 0,92.

Para os ensaios de controle de qualidade das cápsulas foram considerados os parâmetros aspecto, variação de peso, desintegração, doseamento, teste de dissolução e perfil de dissolução. Quanto ao aspecto as cápsulas dos laboratórios A, B, C, D e E são do tipo gelatinosa e apresentam superfície lisa. Embora padronizadas com cores diferentes, há homogeneidade quanto à cor e ao aspecto para cada laboratório.

Os resultados da variação de peso, na forma farmacêutica cápsula, mostraram que os laboratórios B e E apresentaram todas as unidades dentro dos limites especificados, os laboratórios A e D apresentaram 1 unidade fora dos limites especificados e o laboratório C apresentou 2 unidades fora dos limites especificados (Farmacopéia, 1988). Todos os laboratórios em nenhum dos casos excedem o dobro do limite, portanto cumprem os requisitos do teste.

O teste de desintegração avalia o tempo necessário para que a cápsula se desintegre. A Farmacopéia Brasilei-

ra 4ª edição considera a desintegração completa quando nenhum resíduo da cápsula, salvo fragmentos de matriz de cápsula insolúveis, permanece na tela metálica do aparelho de desintegração. Considera-se, também, como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa, que permanece sobre a tela do aparelho.

Os laboratórios B, C e D tiveram todas as cápsulas desintegradas em 5 minutos, o laboratório E teve todas as cápsulas desintegradas em 20 minutos e o laboratório A teve aos 5 minutos todas as cápsulas desintegradas, mas aos 45 minutos restavam fragmentos insolúveis de consistência mole. Como as amostras dos laboratórios se desintegraram dentro de 30 minutos, todos os laboratórios cumpriram os requisitos para o teste.

A presença do fármaco nas cápsulas dos diversos laboratórios estudados foi demonstrada pelas reações químicas dos grupos funcionais descritas na identificação da matéria-prima. Em todos laboratórios foi comprovada a presença de fluconazol.

Para a determinação quantitativa do fluconazol presente nas cápsulas adotou-se o critério de aceitação das especificações farmacêuticas cápsulas da Farmacopéia Brasileira 4ª edição, com variação mínima de 90% e máxima de 110% do valor rotulado. Todos os laboratórios avaliados apresentam teores dentro desta faixa, com valores de desvio padrão relativo baixos (Tabela VI).

O tempo de dissolução foi realizado tendo como base a solubilidade e a permeabilidade do fármaco seguindo o sistema de classificação biofarmacêutica (Brasil, 2002b). Para tanto, analisaram-se as melhores condições para realização do teste. A percentagem da quantidade de princípio ativo, declarado no rótulo do produto, liberado no meio de dissolução, dentro de um período de tempo, quando o produto é submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais, deve ser de, no mínimo 85% (Brasil, 2002b). As amostras dos laboratórios C e D apresentaram valores de percentual de cedência abaixo da especificação, as amostras dos laboratórios A e E demonstraram boa capacidade de liberação do fármaco nas condições estabelecidas para o teste de dissolução. Por outro lado, as amostras do laboratório B apresentaram percentual elevado de liberação do fármaco (Tabela VII).

A avaliação do perfil de dissolução do princípio ativo é ferramenta valiosa para diferenciar produtos similares do mercado farmacêutico (Del Comune, 1994). Fármacos altamente permeáveis são aqueles cuja biodisponibilidade absoluta é maior que 90%. O fluconazol é praticamente absorvido do trato gastrointestinal após administração por via oral. A biodisponibilidade é superior a 90% em jejum (Lacaz *et al.*, 1994; Korolkovas,

2003). O perfil de dissolução pode ser útil para avaliar a qualidade lote a lote, além de verificar o comportamento da formulação após alguma modificação no processo de fabricação ou mudança de formulação (Brasil, 2002b).

As cápsulas contendo fluconazol do laboratório A apresentaram, no teste de dissolução, aproximadamente 86% de cedência no tempo estabelecido para o ensaio, de 60 minutos. O perfil de dissolução do lote mostrou, neste mesmo tempo, percentual de liberação menor (82,62%), não havendo homogeneidade em relação aos demais laboratórios.

Pelos valores do teste de dissolução, a amostra de fluconazol do laboratório B apresentou percentual de cedência acima de 100% em 60 minutos. No perfil de dissolução desse medicamento, em 10 minutos, o lote liberou 102,78% do fármaco, mostrando dissolução rápida, indicando que o lote não é homogêneo em relação aos demais laboratórios.

No lote do laboratório C, observou-se percentual de cedência de 84,55%, no teste de dissolução, em 60 minutos. No perfil de dissolução este percentual de liberação ocorreu em 40 minutos.

Na amostra do laboratório D o percentual de cedência observado no teste de dissolução, de aproximadamente 76% em 60 minutos, foi visto no perfil de dissolução no tempo de 40 minutos.

O lote do laboratório E apresentou 86% de cedência, no teste de dissolução, no tempo de 60 minutos. O perfil de dissolução do lote mostrou homogeneidade com os lotes dos laboratórios C e D.

Os lotes dos laboratórios C e D foram considerados semelhantes ao lote do medicamento de referência, pois os valores do fator de diferença $f_1=3,41$ e $4,15$ e fator de semelhança $f_2=68,27$ e $61,45$, respectivamente, mantiveram-se dentro da faixa estabelecida pela legislação, $f_1=0$ a 15 e $f_2=50$ a 100 (Brasil, 2002b).

O lote do laboratório A apresentou fator de diferença fora da faixa de 0 a 15 e valor do fator de semelhança acima da faixa estabelecida pela legislação. Não foi possível calcular o fatores de diferença (f_1) e semelhança (f_2) para o lote do laboratório B. A falta de homogeneidade entre os lotes dos laboratórios A e B, em relação aos demais laboratórios, deve ser corrigida para garantir a reprodutibilidade do comportamento das cápsulas contendo fluconazol.

CONCLUSÃO

Os laboratórios oficiais produtores de medicamentos necessitam de parâmetros farmacopéicos para garantir a qualidade dos insumos farmacêuticos utilizados no

desenvolvimento farmacotécnico para obterem produtos com qualidade, segurança e estabilidade.

O fluconazol não possui, ainda, monografia para matéria-prima e produto acabado em nenhum código oficial. Este fato tem gerado ausência de homogeneidade, pois cada laboratório produtor realiza as análises seguindo parâmetros próprios.

No presente trabalho, a matéria-prima analisada apresentou qualidade satisfatória. O aspecto e a solubilidade foram compatíveis com a especificação encontrada. Os valores obtidos nos ensaios de impureza (faixa de fusão, umidade, cinzas sulfatadas, metais pesados, cloreto, sulfato e ferro) foram adequados atendendo os limites propostos pelos próprios laboratórios. A identidade do fármaco foi demonstrada por reações de grupos funcionais e por técnicas instrumentais. O teor de fluconazol na matéria-prima, tanto por volumetria em meio não-aquoso quanto por espectrofotometria no ultravioleta, demonstram a pureza do fármaco, .

Todos os lotes das cápsulas analisados quanto a variação de peso e desintegração apresentaram resultados condizentes frente às especificações estabelecidas pela Farmacopéia Brasileira 4ª edição para a forma farmacêutica cápsula.

A metodologia analítica desenvolvida para o doseamento do fluconazol por espectrofotometria na região do UV apresentou valores de desvio padrão relativo inferiores a 2%, para concentrações de 100 a 280mg/mL, para a especificidade, precisão e exatidão.

Os lotes dos laboratórios B e D não apresentaram bons resultados no teste de dissolução.

Nos perfis de dissolução os lotes dos laboratórios A e B não apresentaram comportamento homogêneo quando comparados com os demais laboratórios, o que foi constatado pelo cálculo dos fatores de diferença (f1) e semelhança (f2) para comparação dos perfis avaliados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos laboratórios Pfizer, pelo fornecimento da substância química de referência, e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica PIBIC/CNPq da Efoa/Ceufe, pelo apoio financeiro.

ABSTRACT

Chemical pharmaceutical analysis of fluconazole and its pharmaceutical speciality capsules

Fluconazole is a triazole derivated drug with an antifungal activity which is used in the treatment of a large variety of fungal infections. The objective of this work is

to establish parameters for the quality control of fluconazole itself, and the pharmaceutical specialities capsules, for elaboration of a monography for Brazilian Pharmacopeia. The raw material of fluconazol was characterized by the following tests: aspect, solubility and fusion range. The fluconazol impurities can be detected through limit assay of chloride, sulphate, iron, heavy metals, lost on drying and residue on ignition. Among the identification tests this drug can be recognized by chemical reactions of functional groups and instrumental methods. To determine the quantitative value of fluconazol in raw material it was used perchloric acid volumetry in acetic medium and period detection by indicators and ultraviolet spectrophotometry utilizing 0,1 M sodium hydroxide in 261 nm was used. Capsules samples from the analysed were aspect, average weight determination, disintegration, dissolution test and dissolution profile. The determination of drug in capsules by ultraviolet spectrophotometry demonstrated linearity, specificity, precision and accuracy. The lots of C, D, and E laboratories showed similar release profiles demonstrating a homogeneous behaviour. The lots of A and B laboratories did not show homogeneity in dissolution profile when compared to other laboratories.

UNITERMS: Fluconazole. Capsules. Pharmaceutical analyses. Dissolution profile. Spectrometry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECKETT, A. H.; STENLAKE, J. E. *Practical pharmaceutical chemistry*. 4. ed. London: Athlone Press, 1988. v.1, p. 165-172, v.2, p. 275-337.
- BERMUDEZ, J. Medicamentos genéricos: uma alternativa para o mercado brasileiro. *Cad. Saúde Públ.*, São Paulo, v. 10, p. 368-378, 1994.
- BRASIL. Resolução RDC nº 84, de 19 de março de 2002. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 20 mar. 2002a. Seção 1. [A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico para medicamentos genéricos].
- BRASIL. Resolução RDC nº 483, de 19 de março de 2002. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 20 de março de 2002b. Seção 1. [A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para Ensaio de Dissolução de Formas Farmacêuticas Sólidas Oraís de Liberação Imediata].

- BRITAIN, H. G. Validação de métodos não cromatográficos. *Pharm. Technol.*, São Paulo, v.2, p.4-9, 1988.
- CATALAN, J.; ABBOUD, J.L.; ELGUERO, M. Basicity and acidity of azoles. *Adv. Heterocycl. Chem.*, New York, v.41, p. 186-265, 1987.
- CHERONIS, N. O. D.; ENTRIKIN, J. B. *Identification of organic compounds*. New York: Wiley, 1963. 477 p.
- CONNORS, K. A. *A textbook of pharmaceutical analysis*. 3. ed. New York: Wiley Interscience, 1982. p. 46-65, 111-153.
- DEL COMUNE, A. P. *Avaliação biofarmacêutica in vitro de medicamentos contendo piroxicam e piroxicam-beta-ciclodextrina: Estudo comparativo do perfil de dissolução*. 1994. 119p. [Dissertação de Mestrado em Fármaco e Medicamentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
- EWING, G. W. *Métodos instrumentais de análise química*. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 1988. v.1, p.41-72.
- FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. V.1.1, V.1.4, V.1.5, V.2.2, V.2.9, V.2.10, V.3.2, V.3.4.5.
- FERRAZ, H. G. Fatores determinantes da dissolução de formas farmacêuticas sólidas - Parte 1: formulação e tecnologia de fabricação. *Infarma*, Brasília, v.3, n.1/6, p.17-19, 1994.
- FITZGERLD, T. J.; WALASZEK, E. J. Drug detection with color test. *Clin. Toxicol.*, New York, v.6, p.599-605, 1973.
- GUIA para laboratórios químicos: um auxílio à organização e ao credenciamento/ INMETRO. Rio de Janeiro: Interciência Ltda, 2000. p. 39- 41.
- LACAZ, C. S.; DEL NERO, G. *Drogas antifúngicas - terapêutica das micoses*. In: SILVA, P., ed. *Farmacologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 1156-1190.
- JANSSEN, P. A. J.; VANDEN BOSSCHE, H. Mode of action cytochrome P₄₅₀ monooxygenase inhibitors. Focus on azole derivates. *Arch. Pharm. Chem. Sci.*, Copenhagen, v. 15, p. 23-40, 1987.
- KOROLKOVAS, A. *Análise farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1984. 207 p.
- KOROLKOVAS, A. *Dicionário terapêutico guanabara*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p.18.18-18.19.
- KOWALSDY, S. F.; DIXON, D. M. Fluconazole: a new antifungal agent. *Clin. Pharmacy*, New York, v. 10, p. 179-190, 1990.
- LEITE, F. *Validação em análise química*. 3. ed. Campinas: Átomo, 1988. p.21- 39, 67.
- MELENTYEVA, G.; ANTONOVA, L. *Pharmaceutical chemistry*. Moscou: Mir Publishers, 1998. 564p.
- MERCK index. 12ed. Rahway: Merck & CO., INC., 1995. p. 1094.
- MORETTO, L. D. Fatores que influem na biodisponibilidade de fármacos e medicamentos. *Pharm. Technol.*, São Paulo, v.3, n.2, p.46-48, 1999.
- ROQUE, R. F. Produção de medicamentos na indústria farmacêutica. O controle de qualidade na nova realidade da indústria farmacêutica. *Racine*, São Paulo, 2001, p. 92 - 99.
- SANTORO, M. I. R. M. *Introdução ao controle de qualidade de medicamentos*, São Paulo: Atheneu, 1988. 121p.
- SHRINER, R. L.; FUSON, R. C.; CURTIN, O Y.; MORRIL, T. C. *Identificação sistemática dos compostos orgânicos*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1983. p. 65-70.
- SOARES, B. G.; SOUZA, N. A.; PIRES, D. X. *Química orgânica: teoria e técnicas de preparação, purificação e identificação de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p.284-291.
- STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e absorção de fármacos. *Rev. Bras. Cien. Farm.*, São Paulo, v.35, p.1-16, 1999.

Recebido para publicação em 12 de setembro de 2003.