TESTE DE SOLUBILIDADE E PERFIL DE DISSOLUÇÃO PRELIMINAR DE COMPRIMIDOS DE EMPAGLIFOZINA

Gabriela Rossi Brabo [1]

Andressa Tassinari da Silva [2]

Clesio Soldateli Paim [3]

Resumo:

O Diabetes Mellitus é uma doença metabólica que é caracterizado pelo aumento dos níveis de glicose no sangue causada por alteração ou secreção de insula, e estimasse que ate 2030 cerca de 300 milhões de indivíduos apresentem esta doença. E devido a este aumento significativo, as indústrias farmacêuticas tem se aperfeiçoado e criado novos fármacos que auxiliem na qualidade de vida destes pacientes. Um exemplo destes novos fármacos é a empaglifozina que inibe seletivamente a enzima co-tranportadora de sódio e glicose (SGLT-2), desta fora não há reabsorção tubular de glicose e esta por sua vez é excretada pela urina. No entanto, para que novos fármacos sejam desenvolvidos e liberados para o mercado existem alguns testes que são imprescindíveis na indústria farmacêutica, como o teste de solubilidade e o perfil de dissolução. Visto que a empaglifozina é uma hipoglicemiante relativamente novo e que há poucos estudos sobre sua solubilidade e ensaios de dissolução, o objetivo do trabalho é verificar qual a solubilidade do fármaco frente a diferentes meios (HCl 0,01 mol/L, HCl 0,1mol/L, tampão fosfato pH6,8 e tampão acetato pH 4,0) e a partir disto realizar ensaios preliminares de dissolução utilizando cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE).

Palavras-chave: dissolução,solubilidade

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

TESTE DE SOLUBILIDADE E PERFIL DE DISSOLUÇÃO PRELIMINAR DE COMPRIMIDOS DE EMPAGLIFOZINA

[1] Aluno de graduação. gabrielarossibrabo@gmail.com. Autor principal

[2] Aluno de graduação. tassinaridessa@gmail.com. Co-autor

[3] Docente. clesiopaim@unipampa.edu.br. Orientador

TESTE DE SOLUBILIDADE E PERFIL DE DISSOLUÇÃO PRELIMINAR DE COMPRIMIDOS DE EMPAGLIFOZINA

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus é conhecido como um quadro de doenças metabólicas, caracterizado pelo aumento dos níveis de glicose no sangue causado por uma alteração na secreção ou ação da insulina (FERREIRA et al. 2014). De acordo com a Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes há uma projeção de que até 2030, cerca de 300 milhões de indivíduos apresentem esta doença crônica. Devido a este aumento significativo, as indústrias farmacêuticas tem se aperfeiçoado e criado novos fármacos que auxiliem na qualidade de vida destes pacientes.

Um exemplo destes novos fármacos é a empaglifozina, a qual inibe seletivamente a enzima co-transportadora de sódio e glicose (SGLT-2). A inibição da SGLT-2 ocorre de forma seletiva, e desta forma não há receptação tubular de glicose pelo sangue e sua excreção ocorre pela urina (VANEETHA et al. 2017) Este mecanismo de ação é extremamente vantajoso, pois não depende da secreção ou ação da insulina visto que sua ação é renal .Desta forma reduz-se o risco de hipoglicemia que é um dos maiores efeitos colaterais da maioria dos hipoglicemiantes orais.(FERREIRA et al. 2014)

Para que estas formas farmacêuticas sejam liberadas para o consumo, alguns ensaios, tais como testes de dissolução devem ser realizados para garantir a eficácia terapêutica. Segundo Manadas, estes estudos são recursos indispensáveis durante todo o processo de desenvolvimento de fármaco, identificação de pontos críticos durante a produção, controle de qualidade, estabelecimento de correlações in vitro/in vivo e assuntos regulamentares (MANADAS et al. 2002).

A absorção de formas farmacêuticas sólidas por via oral depende da liberação do seu princípio ativo e para que isso aconteça diversos fatores devem ser levados em consideração, como a solubilidade no meio fisiológico e polaridade para permear as membranas. No entanto, o corpo humano é extremamente complexo e qualquer fator pode alterar a biodisponibilidade, por exemplo, o fluxo sanguíneo, pH do trato gastrointestinal ,o tamanho da partícula entre outros. (AZEVEDO et al. 2008)

A classificação biofarmacêutica (SBC) dos fármacos pode ser utilizada durante o processo de produção, onde há uma divisão de classes de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade, podendo ser realizado uma correlação in vitro/in vivo (CIVIV) (AMIDON et al. 1995).

A SBC recomendada de acordo com a literatura

- ✓ Classe 1: alta solubilidade e alta permeabilidade;
- ✓ Classe 2: baixa solubilidade e alta permeabilidade;
- ✓ Classe 3: alta solubilidade e baixa permeabilidade;
- ✓ Classe 4: baixa solubilidade e baixa permeabilidade;

De acordo com a Agencia de Vigilância Sanitária (Anvisa) esta classificação pode ser usada para determinar especificações de dissolução in vitro. A solubilidade de um fármaco é determinado pela dissolução da sua dosagem mais alta em um determinado volume que seria de 250 mL de uma solução tampão de pH 1,0 a 8,0. Para um fármaco ser considerado com alta solubilidade é necessário que a relação dose/solubilidade seja menor ou igual a 250 mL. Já um fármaco com alta permeabilidade, é aquele que geralmente apresenta biodisponibilidade absoluta maior que 90%, ou seja, quando não há instabilidade no trato gastrintestinal ou quando este parâmetro é determinado experimentalmente (ANVISA,2010).

Visto que a empaglifozina é uma hipoglicemiante relativamente novo e que há poucos estudos sobre sua solubilidade e ensaios de dissolução, o objetivo do trabalho é verificar a solubilidade do fármaco em diferentes meios de dissolução e avaliar o perfil de dissolução nestes meios utilizando a cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE) como método de quantificação.

2 METODOLOGIA

2.1 Condições cromatográficas

As amostras foram analisadas nas seguintes condições cromatográficas: fase móvel constituída de uma mistura de ACN 75% e trietilamina 0,3% pH 3,5 (ajustado com ácido fórmico a 20%) na seguinte proporção 55:45, vazão 1,0 mL/min, volume injeção de 10 µL, comprimento de onda 205 nm e coluna Shimpak® C18.

2.2 Preparação da curva padrão

Pesou-se 5,0 mg de empaglifozina padrão e transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL utilizando metanol como solvente. Desta forma a solução estoque apresentou concentração de 100 µg/mL. A partir desta solução estoque foram retiradas alíquotas nos volumes de 100, 200, 300, 400 e 500 µL e transferidos para o balão volumétrico de 10 mL para obter concentrações a 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL utilizando metanol como diluente.

2.3 Preparação da amostra para o teste de solubilidade (*condição sink*)

Pesou–se o equivalente a 2,5 mg de empaglifozina e transferiu-se para um erlenmeyer contendo um volume de 25 mL dos diferentes meios de dissolução testados: HCl 0,01 mol/L, HCl 0,1 mol/L, tampão fosfato pH 6,8 e tampão acetato pH 4,0, de modo a obter concentração teórica de 100 µg/mL. Estas soluções foram aquecidas à temperatura de 37°C por 1 hora e 2 horas e agitadas a cada 10 minutos. Após este período, foi retirado e filtrada uma alíquota de 5,0 mL desta solução. A partir do filtrado foi retirado uma alíquota de 1 mL e diluído em metanol, obtendo-se concentração final teórica de 50 µg/mL. As amostras foram feitas em duplicatas e analisadas por CLAE. Os resultados obtidos de porcentagem de dissolução foram avaliados a partir da curva padrão, realizada com a empaglifozina padrão.

2.4 Ensaio de dissolução

Para a definição do ensaio de dissolução foram avaliados os meios que apresentaram boa *condição sink* nos meios previamente testados: HCl 0,01 mol/L, HCl 0,1mol/L, tampão fosfato pH 6,8, tampão acetato pH 4,0 e água. Estes meios foram sonicados por 10 minutos para retirar as bolhas. A temperatura ficou mantida constate a 37,0 °C ± 0,5 °C e como aparato foram usadas as pás em velocidades de 50 e 75 rpm.

Foram utilizados para testes iniciais dois comprimidos e foram coletadas alíquotas de 5,0 mL no intervalo de 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 120 minutos. Logo em seguida, este meio de dissolução retirada foi reposto. As amostras foram filtradas diluídas em seus respectivos meios de dissolução, de modo a obter concentração final de 27,77 µg/mL.

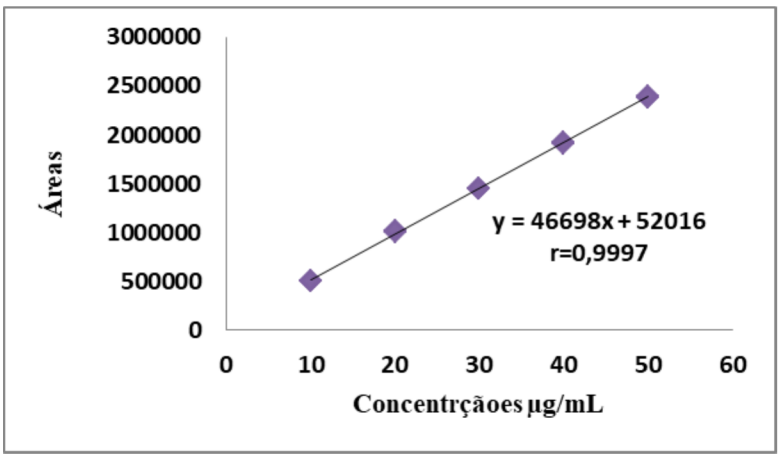
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A empaglifozina é um fármaco rapidamente absorvido pelo organismo apresentando concentrações plasmáticas máxima em torno de 1,5 hora após administração. Visto que o fármaco apresenta uma rápida absorção no organismo realizamos os testes de solubilidade para identificar qual seria o melhor meio para realizar a dissolução, e através da curva padrão foram feitos cálculos para constatar em qual meio o fármaco estaria mais solubilizado. Na tabela 1, é possível observar a média das áreas nas diferentes concentrações e na figura 1 o gráfico da curva padrão.

Tabela 1. Áreas obtidas na curva padrão da empaglifozina

Concentração (µg/mL)	10	20	30	40	50
	502477	1012958	1453242	1924185	2380954
	504168	1009013	1448384	1913426	2380435
	502082	1014195	1441785	1914848	2386613
	500621	1014128	1448008	1915211	2392191
Média	502337	1012573,5	1447854,75	1916917,5	2385048,25
DPR	0,29034692	0,24103716	0,32436808	0,25592391	0,23156978

Figura 2. Gráfico da curva Padrão da empaglifozina



A partir dos dados obtidos com o teste de solubilidade, observou-se que a empaglifozina apresenta uma alta solubilidade nos meios testados nos intervalos de 1 hora e 2 horas. Na tabela 2 e na tabela 3 pode-se analisar que o tampão fosfato pH 6,8 foi o que apresentou a melhor solubilidade entre os quatro meios testados, porém o fármaco apresenta um alta solubilidade em todos os meios, enquadrando-se no classe 1 da SBC.

Tabela 2.Comparação dos meios de dissolução no intervalo de 1 hora

Meios de dissolução	%Fámaco
Tampão pH 6,8	97,6658229
Tampão pH 4,0	88,01264293
HCl 0,01mol/L	96,32687724
HCl 0,1mol/L	93,42735519

Tabela 3. Comparação dos meios de dissolução no intervalo de 2 horas

Meios de dissolução	%Fámaco
Tampão pH 6,8	100,7636848
Tampão pH 4,0	89,36364285
HCl 0,01mol/L	91,66978068
HCl 0,1mol/L	92,55808556

A partir dos dados da solubilidade foram testados todos os meios para o perfil de dissolução com a finalidade de comprovar como seria o comportamento da empaglifozina em todos os meios de dissolução, visto que sua solubilidade foi bastante elevada. Contudo, o tampão fosfato pH 6,8 permaneceu apresentando as melhores porcentagens de dissolução.

Após a definição do tampão fosfato pH 6,8 para o perfil de dissolução, utilizou-se pás como aparato de dissolução a 50 e 75 rpm de velocidade, volume da cuba de 900 mL e temperatura a 37,0 °C ± 0,5 °C. Esta mudança na rotação foi realizada para verificarmos se a velocidade iria ou não interferir na dissolução do fármaco. No entanto, esta modificação deve ser realizada de forma cautelosa, de modo que o ensaio consiga mimetizar as condições fisiológicas do trato gastrointestinal.

O perfil de dissolução com a velocidade de 50 rpm apresentou uma porcentagem de fármaco de 83%, enquanto o perfil com velocidade de 75 rpm apresentou uma porcentagem de 100%. De acordo com as recomendações da Farmacopeia Brasileira, é preconizado que o fármaco deve ser dissolvido no período de 30 a 45 minutos e apresente uma porcentagem de dissolução de 70 a 75 % para fármacos com alta solubilidade. Como a empaglifozina apresenta alta solubilidade, encontra-se dentro do preconizado.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados dos testes de solubilidade e dos perfis de dissolução podemos concluir que a empaglifozina é um fármaco que apresenta alta solubilidade e que a

modificação na velocidade de rotação do aparato pás apresenta influência significativamente na liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica.

REFERÊNCIAS

AMIDON, G et al . A Theoretical basis for abiopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug productdissolution and *in vivo* bioavailability**. Pharmaceutical Research,** v.12, n.3, p.413-420, 1995.

ANVISA, Agencia Nacional de vigilância sanitária, **Resolução RDC-31**,agosto ,2010.

AZEVEDO ,R et al . Desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução para captopril em capsulas magistrais por CLAE. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**,vol 44,n.2,abr/jun,2008.

Diretriz da sociedade Brasileira de diabetes. Editora integrante do Gen, Rio Janeiro,2013-2014.

FERREIRA ,V et al.Avançoes farmacológicos no tratamento do Diabetes Tipo 2.**Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research-BJSCR** ,vol 8,n3,pag 72-78 ,set/nov,2014)

MANADAS, RUI et al . A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** , vol 38, n4, out/dez,2002.

VANEETHA.G et al. Desing and solubility enhancement of empaglifozin immediate release tabletes by using solid dispersion method.**Humam Jornals,** vol 10,setembro ,2017.