

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS – FARMANGUINHOS

Hemilliano de Lemos

**Uso de meios de dissolução biorrelevantes como método preditivo
de biodisponibilidade oral**

Rio de Janeiro

2019

Hemilliano de Lemos

Uso de meios de dissolução biorrelevantes como método preditivo de biodisponibilidade oral.

Dissertação submetida ao corpo docente do Curso de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, de Farmanguinhos da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Rio de Janeiro

2019

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

L555u Lemos, Hemilliano de

Uso de meios de dissolução biorrelevantes como método preditivo biodisponibilidade oral. / Hemilliano de Lemos. – Rio de Janeiro, 2019.

xvii, 87 f. ; 30 cm.

Orientador: Helvécio Vinícius Antunes Rocha.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2019.

Bibliografia: f. 76-87

1. Perfil de Dissolução. 2. Meios Biorrelevantes. 3. Fluidos Gastrointestinais Humanos. 4. Bioequivalência. I. Título.

CDD 615.1

Hemilliano de Lemos

Uso de meios de dissolução biorrelevantes como método preditivo de biodisponibilidade oral.

Dissertação apresentada, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em 25 de fevereiro de 2019.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ (orientador)

Prof^a. Dr^a. Karen Medeiros Gonçalves
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof. Dr. Luiz Cláudio Rodrigues Pereira da Silva
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof^a. Dr^a. Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

À minha família e à minha esposa. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por terem me proporcionado uma boa educação e também por sempre me estimularem a estudar.

À minha esposa Marina, pela paciência nos momentos de ansiedade, pelo auxílio na correção e formatação do trabalho e pelo estímulo para a realização do mestrado.

Ao meu orientador doutor Helvécio Vinícius Antunes Rocha, pela presença demonstrada durante a orientação, pelas críticas construtivas na elaboração do trabalho e pelo exemplo profissional.

À Livia Deris Prado pelo auxílio na correção do trabalho, bem como todas as sugestões realizadas durante o desenvolvimento da dissertação.

Ao Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica, por permitir e incentivar a realização do mestrado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, por todo conhecimento transmitido durante as aulas.

À banca examinadora, que gentilmente aceitou o convite em participar da qualificação e da defesa da dissertação, bem como suas contribuições, tanto na qualificação quanto na defesa.

A todos os meus colegas e amigos do mestrado, pelo excelente convívio nesses dois anos.

Uma criança, um professor, um
livro e uma caneta podem mudar o
mundo.

(Malala Yousafzai, 2013)

RESUMO

DE LEMOS, Hemilliano. *Uso de meios de dissolução biorrelevantes como método preditivo de biodisponibilidade oral*. 2019. 87f. Dissertação Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

A dissolução é uma etapa fundamental para a absorção dos fármacos administrados pela via oral. Para se comparar o comportamento da dissolução de duas formulações, utiliza-se o teste do perfil de dissolução. Este ensaio é empregado no desenvolvimento de novos medicamentos genéricos e similares, nas alterações pós-registro, bem como na isenção do estudo de bioequivalência para formas farmacêuticas sólidas. O perfil de dissolução deve ser discriminativo, permitindo detectar alterações significativas entre duas formulações distintas, além disso, deve mimetizar ao máximo as condições encontradas *in vivo*. Muitos meios de dissolução descritos nas farmacopeias não são preditivos de biodisponibilidade, pois suas características físico-químicas diferem muito das encontradas *in vivo*. Dessa forma, pode ocorrer uma falsa impressão de bioequivalência quando esses meios são utilizados. Devido a isso, os meios biorrelevantes surgem como alternativa para contornar este problema, pois são descritos na literatura como sendo mais preditivos e discriminativos que os meios farmacopeicos. O objetivo desse trabalho é avaliar, com base na literatura técnico-científica, a relevância dos meios de dissolução biorrelevantes como preditivos de biodisponibilidade. Para isso, foi efetuada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados científicas *SCOPUS*, *SCIELO*, *SCIENCE DIRECT*, Periódicos Capes e *PUBMED*. Para esse trabalho, primeiro foi feita uma busca em artigos para verificar as propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais humanos. Posteriormente, foi realizada uma comparação entre estas propriedades dos fluidos gastrointestinais com as dos meios biorrelevantes e farmacopeicos. Por último, foi feita uma verificação dos resultados dos estudos de bioequivalência descritos na literatura com os resultados dos testes de perfil de dissolução em meios biorrelevantes. Os resultados demonstraram que há um número reduzido de publicações que analisaram algumas propriedades físico-químicas nos fluidos gastrointestinais, como por exemplo, a capacidade tamponante e a tensão superficial. Além disso, se observou uma alta variabilidade nos resultados descritos nos artigos científicos para algumas propriedades. Em relação ao comparativo dessas propriedades com os meios farmacopeicos e meios biorrelevantes, a análise mostrou que os meios biorrelevantes são mais semelhantes aos fluidos gastrointestinais do que os meios farmacopeicos. Por último, a comparação dos resultados do perfil de dissolução *in vitro* demonstra similaridade com os resultados obtidos *in vivo*. No entanto, foram encontrados poucos artigos na literatura que realizaram esse comparativo. Sendo assim, os meios biorrelevantes podem ser úteis para a análise do perfil de dissolução visando o desenvolvimento de novos medicamentos e formulações, no entanto, é necessário um maior número de estudos para verificação da efetividade desses meios.

Palavras-chave: Perfil de dissolução. Meios biorrelevantes. Fluidos gastrointestinais humanos. Bioequivalência.

ABSTRACT

Dissolution is a key step in the uptake of drugs administered orally. In order to compare the behavior of the dissolution of two formulations, the dissolution profile test is used. This assay is used in the development of new generic and similar drugs, post-registration changes, as well as exemption from the bioequivalence study for solid dosage forms. The dissolution profile must be discriminative, allowing to detect significant alterations between two distinct formulations, in addition, it should mimic the conditions found in vivo to the maximum extent possible. Many dissolution media described in pharmacopoeias are not predictive of bioavailability because their physico-chemical characteristics differ greatly from those found in vivo. In this way, a false impression of bioequivalence can occur when these media are used. Due to this, biorelevant media arise as an alternative to circumvent this problem, as they are described in the literature as being more predictive and discriminative than the pharmacopoeial medias. The objective of this work is to evaluate, based on the technical-scientific literature, the relevance of the biorelevant dissolution media as predictive of bioavailability. For this, a bibliographic search was carried out in scientific databases, such as: SCPOUS, SCILEO, SCIENCE DIRECT, *Periódicos Capes* and PUBMED. For this work, an initial research was done on articles to verify the physical-chemical properties of human gastrointestinal fluids. Subsequently, such properties were compared to those of the biorelevant and pharmacopoeial media. Finally, the results of the bioequivalence studies and the dissolution profile tests in biorelevant media described in the literature were compared. The results demonstrated that there is not a large number of studies that have analyzed some physicochemical properties in gastrointestinal fluids, such as buffer capacity and surface tension. In addition, a high variability was observed in the results described in the scientific articles for some of those properties. Regarding the comparison of these properties with pharmacopoeial media and biorelevant media, the analysis showed that the biorelevant media are more similar to gastrointestinal fluids than the pharmacopoeial media. Finally, comparison of in vitro dissolution profile results demonstrates similarity with results obtained in vivo. However, few studies were found in the literature that performed such comparison. Thus, biorelevant media may be useful for analyzing the dissolution profile aiming at the development of new drugs and formulations, however, a greater number of studies are necessary to verify the effectiveness of these media.

Key-words: Dissolution profile. Biorelevant media. Human gastrointestinal fluids. Bioequivalence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Análise das médias dos pH relatados nos estudos dos fluidos gastrointestinais em humanos.....	33
Figura 2: Análise das médias da osmolalidade relatados nos estudos dos fluidos gastrointestinais de humanos.....	41
Figura 3: Análise das médias da concentração de ácidos biliares totais relatados nos estudos dos fluidos gastrointestinais de humanos.	48
Figura 4: Perfil de dissolução de danazol cápsulas em vários meios de dissolução.	62
Figura 5: Perfil plasmático do fármaco danazol após a administração em jejum e no estado alimentado.	63
Figura 6: Concentração plasmática de cetoconazol após a administração em diferentes condições.	64
Figura 7: Perfil de dissolução de cetoconazol (Nizoral® 200 mg) em diferentes meios de dissolução.	65
Figura 8: Perfil de dissolução do medicamento Pantoprazol referência e teste, empregando o aparato 2 USP no meio de dissolução FaSSIF.	70
Figura 9: Perfil de dissolução do medicamento Pantoprazol referência e teste, empregando o aparato 2 USP no meio de dissolução FeSSIF.	70
Figura 10: Concentração plasmática versus tempo das formulações do medicamento pantoprazol referência e teste na condição jejum.	71
Figura 11: Concentração plasmática versus tempo das formulações do medicamento pantoprazol referência e teste na condição alimentado	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Expectativa de correlação in vitro – in vivo (CIVIV) para formas farmacêuticas de liberação imediata baseado no SCB.	5
Quadro 2: Comparativo dos parâmetros para a comprovação da bioisenção baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA E OMS.	6
Quadro 3: Fatores importantes da solubilidade de fármacos.	8
Quadro 4: Comparativo dos parâmetros para a comprovação da alta solubilidade de fármacos baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA E OMS.	9
Quadro 5: Comparativo dos parâmetros para a análise de dissolução de fármacos baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS.	11
Quadro 6: Valores de pH nas porções do trato gastrointestinal em indivíduos normais nos estados em jejum e alimentado.	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição dos meios de dissolução FaSSGF e FeSSGF.....	22
Tabela 2: Composição dos meios de dissolução FaSSIF e FeSSIF	24
Tabela 3: Composição dos meios de dissolução FaSSCoF e FeSSCoF.....	25
Tabela 4: Análise de pH coletado no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	31
Tabela 5: Análise de pH coletado no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	32
Tabela 6: Análise de pH coletado no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.....	32
Tabela 7: Análise do pH coletado no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.....	34
Tabela 8: Análise da capacidade tamponante no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	36
Tabela 9: Análise da capacidade tamponante no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	36
Tabela 10: Análise da capacidade tamponante no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.....	37
Tabela 11: Análise da capacidade tamponante no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.....	38
Tabela 12: Análise da osmolalidade no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	39
Tabela 13: Análise da osmolalidade no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	40
Tabela 14: Análise da osmolalidade no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.....	40
Tabela 15: Análise da osmolalidade no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.....	42
Tabela 16: Análise da tensão superficial no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	43
Tabela 17: Análise da tensão superficial no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.....	44

Tabela 18: Análise da tensão superficial no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.	44
Tabela 19: Análise da tensão superficial no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.	45
Tabela 20: Análise de ácidos biliares totais no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.	46
Tabela 21: Análise de ácidos biliares no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.	47
Tabela 22: Análise de ácidos biliares totais no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.	47
Tabela 23: Análise de ácidos biliares totais no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.	49
Tabela 24: Análise de proteínas totais no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.	50
Tabela 25: Análise de proteínas totais no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.	50
Tabela 26: Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal em jejum, do meio de dissolução biorrelevante FaSSGF e do meio de dissolução farmacopeico HCl 0,1 M pH 1,2.	52
Tabela 27: Comparativo das propriedades do fluido estomacal no estado alimentado com o meio de dissolução FeSSGF.	55
Tabela 28: Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido duodenal em jejum, fluido do jejuno em jejum, meio de dissolução biorrelevante FaSSIF e do meio de dissolução farmacopeico tampão fosfato pH 6,8.	57
Tabela 29: Comparativo das propriedades do fluido duodenal no estado alimentado, fluido do jejuno no estado alimentado, meio de dissolução FeSSIF.	59
Tabela 30: Informações farmacocinéticas do medicamento Adalat XL [®] e Adalat Eins [®]	66
Tabela 31: Razão alimentado jejum para os estudos in vivo e in vitro dos medicamentos Adalat XL [®] e Adalat Eins [®]	67
Tabela 32: Comparação dos resultados farmacocinéticos C _{max} e ASC entre os dados simulados em diferentes meios de dissolução e para o teste de bioequivalência.	68

Tabela 33: Análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos médios do medicamento teste em relação ao referênci após administração de pantoprazol em jejum.....	72
Tabela 34: Análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos médios do medicamento teste em relação ao referênci após administração de pantoprazol no estado alimentado.....	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	- Área sob a curva
CIVIV	- Correlação <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i>
C _{max}	- Concentração máxima
CMC	- Concentração Micelar Crítica
EMA	- <i>European Medicines Agency</i>
EUA	- Estados Unidos da América
FaSSCoF	- <i>Fasted-state simulated colonic fluid</i>
FaSSGF	- <i>Fasted-state simulated gastric fluid</i>
FaSSIF	- <i>Fasted-state simulated intestinal fluid</i>
FeSSCoF	- <i>Fed-state simulated colonic fluid</i>
FeSSGF	- <i>Fed-state simulated gastric fluid</i>
FeSSIF	- <i>Fed-state simulated intestinal fluid</i>
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
FGS	- Fluido gástrico simulado
FIS	- Fluido intestinal simulado
OMS	- Organização Mundial da Saúde
SCB	- Sistema de Classificação Biofarmacêutica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Correlação <i>in vitro-in vivo</i>	3
2.2	Sistema de Classificação Biofarmacêutica	4
2.2.1	Solubilidade	8
2.2.2	Dissolução	10
2.2.3	Permeabilidade.....	12
2.3	Fisiologia da absorção de fármacos	13
2.3.1	Estômago	14
2.3.2	Intestino delgado	15
2.3.3	Intestino grosso	15
2.4	Fatores que influenciam a dissolução de fármacos	15
2.4.1	Presença de alimento	16
2.4.2	pH.....	16
2.4.3	Tensoativos	17
2.4.4	Osmolalidade.....	18
2.4.5	Volume gástrico	18
2.4.6	Tampões e capacidade tamponante.....	19
2.4.7	Enzimas.....	20
2.4.8	Tensão superficial.....	20
2.4.9	Motilidade gástrica.....	21
2.4.10	Viscosidade	21
2.5	Meios biorrelevantes	21
2.5.1	Meios biorrelevantes utilizados no estômago	22
2.5.2	Meios biorrelevantes utilizados no intestino delgado.....	23
2.5.3	Meios biorrelevantes utilizados no intestino grosso.....	24
3	JUSTIFICATIVA	26
4	OBJETIVOS	28
4.1	Objetivo Geral	28

4.2	Objetivos específicos.....	28
5	METODOLOGIA.....	29
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1	Características físico-químicas dos fluidos gastrointestinais humanos	31
6.1.1	pH dos fluidos gastrointestinais	31
6.1.2	Capacidade tamponante dos fluidos gastrointestinais.....	35
6.1.3	Osmolalidade dos fluidos gastrointestinais.....	39
6.1.4	Tensão superficial dos fluidos gastrointestinais.....	43
6.1.5	Ácidos biliares nos fluidos gastrointestinais.....	45
6.1.6	Proteínas totais nos fluidos gastrointestinais.....	50
6.2	Comparativo dos fluidos gastrointestinais com os meios de dissolução	51
6.2.1	Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal em jejum com os meios de dissolução	52
6.2.2	Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal no estado alimentado com os meios de dissolução	54
6.2.3	Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido intestinal em jejum com os meios de dissolução	56
6.2.4	Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido intestinal no estado alimentado com os meios de dissolução.....	59
6.3	Estudos de Correlação <i>in vitro-in vivo</i>	61
6.3.1	Fármacos de Classificação Biofarmacêutica II	61
6.3.1.1	Estudo fármaco danazol.....	61
6.3.1.2	Estudo fármaco cetoconazol	63
6.3.1.3	Estudo fármaco nifedipino	66
6.3.1.4	Estudo fármaco glibenclamida	68
6.3.2	Fármacos de Classificação Biofarmacêutica III	69
6.3.2.1	Estudo fármaco pantoprazol.....	69
7	CONCLUSÃO.....	74
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	76

1 INTRODUÇÃO

A dissolução é uma etapa importante na absorção dos fármacos administrados pela via oral. Nessa etapa, o fármaco é dissolvido nos meios fisiológicos e fica disponível para ser absorvido pelas mucosas gastrointestinais (ALMUKAINZI *et al.*, 2014). Para se comparar o comportamento da dissolução *in vitro* de duas formulações (comprimidos, cápsulas, pós para suspensões, suspensões), utiliza-se o teste do perfil de dissolução (BRASIL, 2010).

O perfil de dissolução pode ser definido como um ensaio *in vitro* que permite a construção da curva de porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo, empregando-se, geralmente, as condições estabelecidas no teste de dissolução descrito na Farmacopeia Brasileira ou, na sua ausência, em outros compêndios autorizados pela RDC 37 de 2009 (BRASIL, 2009; FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010). No caso de inexistência de método de dissolução farmacopeico, a empresa solicitante do registro deve desenvolver e validar o método analítico adequado para o produto, conforme a RDC 166 de 2017 (BRASIL, 2017). O teste de perfil de dissolução é utilizado no desenvolvimento de novas formulações, alterações pós-registro e isenção do estudo de bioequivalência (BRASIL, 2011; BRASIL, 2016a). Este teste deve ter a capacidade de ser discriminativo, permitindo detectar alterações significativas nas formulações e processos de fabricação (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010).

No entanto, um dos maiores desafios nos testes de perfil de dissolução é mimetizar as condições *in vivo* no organismo e apresentar a capacidade de diferenciar a dissolução de duas formulações distintas (KLEIN, 2010).

Grande parte dos meios de dissolução descritos na Farmacopeia Brasileira ou em outras farmacopeias aceitas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não possuem essa capacidade preditiva, pois suas características físico-químicas diferem muito das condições encontradas *in vivo*. Com isso, durante o desenvolvimento de medicamentos genéricos ou similares, o perfil de dissolução semelhante pode levar a uma falsa impressão de bioequivalência e assim a uma futura reprovação neste teste (KLEIN, 2010; MUDIE, AMIDON, AMIDON, 2010).

Há diversos fatores que podem impactar a dissolução dos fármacos, como por exemplo: a presença de alimento, assim como as alterações de pH no estado alimentado ou em jejum, o tipo e a concentração de surfactantes e enzimas, a força

iônica do meio de dissolução, a tensão superficial, o volume do meio, a osmolaridade do meio, o tipo e concentração de tampão, bem como outros fatores. Assim sendo, torna-se necessário o desenvolvimento de meios de dissolução mais preditivos de biodisponibilidade e que possam diferenciar o perfil de liberação de diferentes formulações (GRIGNARD *et al.*, 2016).

Dessa forma, os meios biorrelevantes surgem como alternativa para contornar esse problema, pois são descritos na literatura como meios mais preditivos e discriminativos que os meios de dissolução farmacopeicos (GRIGNARD *et al.*, 2016).

Em 1998, Dressman e colaboradores e em 2008 Jantravid e colaboradores desenvolveram meios de dissolução para simular a dissolução no intestino delgado: FaSSIF (*fasted-state simulated intestinal fluid*) e FeSSIF (*fed-state simulated intestinal fluid*), os quais mimetizam as condições no intestino delgado em jejum e pós-prandial, respectivamente. Em 2005, Vertzoni e colaboradores e em 2008 Jantravid e colaboradores desenvolveram meios de dissolução para simular as condições do estômago: FaSSGF (*fasted-state simulated gastric fluid*) e FeSSGF (*fed-state simulated gastric fluid*), os quais simulam as condições no estômago em jejum e pós-prandial, respectivamente. Por último, em 2010, Vertzoni e colaboradores desenvolveram meios de dissolução para mimetizarem as condições no fluido colônico. Neste estudo foram desenvolvidos o FaSSCoF (*fasted-state simulated colonic fluid*) e o FeSSCoF (*fed-state simulated colonic fluid*), os quais simulam as condições no fluido colônico no estado em jejum e alimentado, respectivamente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Correlação *in vitro-in vivo*

A correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV) é o estabelecimento de uma relação entre uma medida *in vitro* para um produto farmacêutico e uma resposta gerada por este em uma condição *in vivo*. A CIVIV refere-se ao estabelecimento de uma relação racional entre o comportamento de um ensaio físico-químico, como, por exemplo, a dissolução *in vitro* e as propriedades biológicas produzidas por determinada forma farmacêutica, como, por exemplo, a concentração máxima (C_{max}) e a área sob a curva (ASC) (CHIANN, 2009).

Caso seja possível estabelecer uma forte relação entre essa resposta *in vitro* com as medidas *in vivo*, talvez seja possível isentar determinado medicamento de um estudo de bioequivalência. Os estudos de bioequivalência costumam ser onerosos e demorados, além de exporem os voluntários sadios aos riscos advindos da utilização do medicamento (CHIANN, 2009).

É possível, principalmente, estabelecer uma CIVIV para fármacos de classificação biofarmacêutica II, pois a dissolução *in vitro* é a etapa limitante para a CIVIV. Para fármacos de classificação biofarmacêutica III e IV há a influência da permeabilidade do fármaco na avaliação da CIVIV (AMIDON *et al.*, 1995).

Existem três níveis de correlação que podem ser definidos e classificados em ordem decrescente de importância. O nível A é o mais alto nível que pode ser obtido. Ele representa uma relação ponto a ponto entre a dissolução *in vitro* do fármaco, a partir da forma farmacêutica, e a velocidade de entrada do mesmo no organismo *in vivo* (algumas vezes referido com dissolução *in vivo*). O método para desenvolver uma correlação nível A é estimar a absorção ou dissolução *in vivo*, utilizando técnicas como o método de Wagner-Nelson ou Loo-Riegelman para cada formulação (BRASIL, 2002).

Já o nível B utiliza os princípios da análise de momento estatístico. A média do tempo de dissolução *in vitro* é comparada com o tempo de residência médio (TRM) ou ao tempo de dissolução médio (TDM) *in vivo*. A correlação nível B, apesar de usar todos os pontos dos dados *in vitro* e *in vivo*, não é considerada uma correlação ponto a ponto, porque não reflete inteiramente a curva de nível plasmático. A correlação de nível B não é considerada para as avaliações pós-registro (BRASIL, 2002).

Por último, a correlação de nível C relaciona um único ponto de dissolução a um parâmetro farmacocinético, tal como ASC, C_{max} , T_{max} . Essa correlação não reflete o formato da curva de concentração plasmática versus tempo. Uma vez que este tipo de correlação não permite prever o real desempenho do produto *in vivo*, ela é útil somente na orientação do desenvolvimento das formulações. Devido às suas limitações, ela tem utilidade restrita em prever o desempenho do fármaco *in vivo* e está sujeita às mesmas restrições que correlação nível B nas avaliações pós-registro (BRASIL, 2002).

2.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutica

Os dois principais fatores responsáveis pela velocidade e extensão da absorção de fármacos na via oral são a permeabilidade do fármaco nas mucosas gástricas e a quantidade dissolvida nos fluidos gastrointestinais (DRESSMAN *et al.*, 2007).

Fundamentados por essas características, Amidon e colaboradores (1995) desenvolveram o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). O SCB consolidou-se nos últimos anos como uma ferramenta no auxílio da predição da biodisponibilidade de fármacos e tem sido empregado no desenvolvimento de novas formulações, bem como no registro de medicamentos genéricos e similares. Dessa forma, o objetivo do SCB é substituir certos estudos de bioequivalência por testes de dissolução *in vitro*, o que certamente irá reduzir a exposição de voluntários sadios aos fármacos candidatos aos testes de bioequivalência, bem como o custo e o tempo no desenvolvimento de medicamentos (LENNERÑAS, ABRAHAMSSON, 2005).

Nesse sistema, baseado principalmente na solubilidade e permeabilidade, os fármacos podem ser classificados em 4 classes (AMIDON *et al.*, 1995; BONAMICI, SERRA, 2009), conforme exposto no Quadro 1. O emprego do SCB para isenção do estudo de bioequivalência para fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade vem sendo utilizado pelas agências reguladoras.

Quadro 1: Expectativa de correlação *in vitro* – *in vivo* (CIVIV) para formas farmacêuticas de liberação imediata baseado no SCB.

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Expectativa da CIVIV
I	Alta	Alta	CIVIV, se a velocidade da dissolução for menor que o esvaziamento gástrico, de outra forma a correlação é limitada ou não há correlação
II	Baixa	Alta	CIVIV, se a razão da dissolução <i>in vitro</i> for similar à dissolução <i>in vivo</i>
III	Alta	Baixa	A absorção (permeabilidade) é a razão determinante e limitante da CIVIV
IV	Baixa	Baixa	Limitado ou não há CIVIV

Fonte: AMIDON *et al.*, 1995; BONAMICI, SERRA, 2009.

No Brasil, foi publicada em 2011 a RDC N° 37, a qual dispõe sobre o guia para isenção e substituição dos estudos de bioequivalência. Nesta resolução ficou estabelecido que os estudos de bioequivalência não são necessários para medicamentos de liberação imediata que contenham fármacos presentes na Instrução Normativa N° 10 de 2016, que dispõe sobre a lista de fármacos candidatos a bioisenção baseada no sistema de classificação biofarmacêutica. Além disso, para substituição dos estudos de bioequivalência, deverá ser comprovada a alta solubilidade, bem como a rápida dissolução do fármaco (BRASIL, 2011, 2016b).

Já os guias de bioisenção do Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) preveem a substituição dos estudos de bioequivalência para fármacos com classificação biofarmacêutica I e III, desde que comparada sua alta solubilidade e sua rápida ou muito rápida dissolução (EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

O Quadro 2 mostra as principais semelhanças e diferenças encontradas na legislação de bioisenção de fármacos no Brasil, na Europa, nos Estados Unidos da América (EUA) e de acordo com a OMS (BRASIL, 2011, 2016b; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

Quadro 2: Comparativo dos parâmetros para a comprovação da bioisenção baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS.

Parâmetro	ANVISA	FDA	EMA	OMS
Forma farmacêutica	Sólidos orais de liberação imediata	Sólidos orais de liberação imediata	Sólidos orais de liberação imediata	Sólidos orais de liberação imediata
Dose	Maior dose	Maior dose	Maior dose única	Maior dose única
Tipo de fármacos	Presentes na lista da IN 10 de 2016	Classe I e III	Classe I e III	Classe I e III
Solubilidade	Alta	Alta	Alta	Alta
Permeabilidade	Não informado	Alta (Fármacos Classe I) e Baixa (Fármacos classe III)	Alta (Fármacos Classe I) e Baixa (Fármacos classe III)	Alta (Fármacos Classe I) e Baixa (Fármacos classe III)
Dissolução	Rápida dissolução	Rápida ou muito rápida dissolução	Rápida ou muito rápida (fármacos classe I) e muito rápida (fármacos classe III)	Rápida ou muito rápida (fármacos classe I) e muito rápida (fármacos classe III)
Medicamentos excluídos	Medicamentos com absorção na cavidade oral ou de liberação modificada	Medicamentos com absorção na cavidade oral ou índice terapêutico estreito	Formulações bucais, sublinguais, orodispersíveis com absorção na cavidade oral, formulações de liberação modificada ou índice terapêutico estreito	Comprimidos orodispersíveis são aceitos se não há absorção sublingual ou oral. Medicamentos com índice terapêutico estreito não são aceitos

Quadro 2: Comparativo dos parâmetros para a comprovação da bioequivalência baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS (continuação).

Parâmetro	ANVISA	FDA	EMA	OMS
Excipientes	Excipientes que afetam a biodisponibilidade deverão ser iguais qualitativamente para o medicamento teste em relação ao referencial e em quantidade compatível com a função pretendida	O produto teste não contém nenhum excipiente diferente em relação ao produto referencial que afetará a biodisponibilidade (fármacos classe I). O produto é qualitativamente o mesmo e quantitativamente similar ao produto referencial (fármacos classe III)	Os excipientes que afetam a biodisponibilidade são qualitativamente e quantitativamente os mesmos (fármacos classe I). Além da exigência acima, os outros excipientes da formulação são qualitativamente os mesmos e quantitativamente muito similares (fármacos classe III)	Excipientes que possam afetar a biodisponibilidade do fármaco devem ser identificados e uma avaliação deve ser feita. Excipientes não críticos não devem diferir qualitativamente e devem ser quantitativamente similares

Fonte: BRASIL, 2011, 2016b; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015.

2.2.1 Solubilidade

A solubilidade é definida como a quantidade máxima de soluto que se dissolve em determinado solvente. A solução obtida nessas condições é chamada de saturada (ASHFORD, 2005a).

A solubilidade dos fármacos pode ser influenciada por fatores relacionados às características físico-químicas do fármaco, às propriedades da forma farmacêutica e aos fatores fisiológicos do trato gastrointestinal, conforme descrito no Quadro 3 (GRASS, 1997).

Quadro 3: Fatores importantes da solubilidade de fármacos.

Características físico-químicas dos fármacos	Propriedades das formas farmacêuticas	Fatores fisiológicos do trato gastrointestinal
Características moleculares, constantes de ionização, lipossolubilidade, tamanho e forma da partícula, polimorfismo.	Tipo e concentração do excipiente, forma farmacêutica e tecnologia de fabricação.	pH do meio de dissolução, presença de enzimas, presença de sais biliares, tempo do esvaziamento gástrico, motilidade do trato gastrointestinal, presença de alimento.

Fonte: (GRASS, 1997).

Desde 1990, a lipofilia dos novos fármacos tem sido aumentada, como resultado da natureza lipofílica dos novos alvos, bem como da nova estratégia para descoberta, baseada na química combinatória e no *screening* de alto rendimento. Como consequência disso, alguns autores estimam que 90% dos novos fármacos apresentem baixa solubilidade, de acordo com os critérios de classificação do SCB (BENET, BROCCATELI, OPREA, 2011).

De acordo com a RDC 37 de 2011 e os guias do FDA, EMA e OMS, um fármaco será considerado altamente solúvel se sua maior dose administrada oralmente como uma formulação de liberação imediata solubilizar-se completamente em até 250 mL de cada uma das soluções tampão utilizadas dentro da faixa de pH fisiológico a $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. O volume de 250 mL é originado de protocolos de estudo de bioequivalência, que recomendam a administração de medicamentos com um copo de 250 mL de água (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

O Quadro 4 descreve os principais parâmetros para análise de solubilidade de fármacos baseada no SCB descritos pela legislação brasileira, americana, europeia e da OMS (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

Quadro 4: Comparativo dos parâmetros para a comprovação da alta solubilidade de fármacos baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS.

Parâmetro	ANVISA	FDA	EMA	OMS
Volume	≤ 250,00 mL	≤ 250,00 mL	≤ 250,00 mL	≤ 250,00 mL
Intervalo de pH	1,20 a 6,80	1,00 a 6,80	1,00 a 6,80	1,20 a 6,80
Valores de pH	1,20; 4,50 e 6,80	pH = pK _a ; pH = pK _a + 1; pH = pK _a - 1 e pH 1,00 e 6,80.	1,20; 4,50; 6,80 e pH = pK _a .	Não informado
Verificação de pH	Antes e depois da adição do fármaco	Depois da adição do fármaco	Antes e depois da adição do fármaco	Não informado
Temperatura	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C
Replicatas	Mínimo 3	Mínimo 3	Não informado	Mínimo 3
Método	Método de diagrama de fases e <i>shake-flask</i>	Método <i>shake-flask</i> ou outro justificado	Método <i>shake-flask</i> ou outro justificado	Não informado

Fonte: BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015.

O método de equilíbrio ou de saturação (técnica do *shake-flask*) é o mais citado para a determinação de solubilidade (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015). Nessa técnica, a determinação da solubilidade é realizada com a adição de quantidade conhecida do fármaco em uma solução tampão padronizada até atingir a saturação do meio, a qual é indicada através da precipitação da substância no fundo do frasco. Essa mistura é submetida a temperatura de (37± 1) °C e agitação controlada até a obtenção do equilíbrio das duas fases. Após essa etapa, a amostra é filtrada e quantificada de acordo com método previamente validado (AVDEFF, 2005).

No entanto, a solubilidade dos fármacos, através do emprego do método citado, nem sempre mimetiza as condições fisiológicas que ocorrem no organismo e dessa forma pode-se estimar incorretamente a biodisponibilidade dos fármacos (DRESSMAN *et al.*, 2007).

Outro método utilizado para verificar a solubilidade de fármacos é a determinação da solubilidade em fluidos aspirados do trato gastrointestinal. Nesse método, é administrada água (determinação da solubilidade em jejum) ou algum líquido nutritivo (determinação da solubilidade no estado alimentado) a voluntários sadios. Após a administração, o líquido do fluido gastrointestinal é aspirado com auxílio de um cateter e posteriormente a amostra é preparada e analisada. A vantagem desse método é que se simula melhor as condições fisiológicas para a solubilização dos fármacos. No entanto, como não existe um protocolo padronizado, diferentes valores de solubilidade de fármacos podem ser encontrados, devido às diversas formas de coletar e manusear as amostras, além das diferentes composições do líquido nutritivo administrado (DRESSMAN *et al.*, 2007).

2.2.2 Dissolução

A dissolução de fármacos pode ser descrita pela equação de Noyes-Whitney (Equação 1). Essa equação descreve a velocidade de dissolução de partículas esféricas, quando o processo de dissolução é determinado pela difusão e não envolve reações químicas (ASHFORD, 2005a).

$$dC/dt = DA (C_s - C) / h \quad \text{Equação 1}$$

Na Equação 1: dC/dt é a velocidade de dissolução das partículas do fármaco; D é o coeficiente de difusão do fármaco em solução nos fluidos gastrointestinais; A é a superfície efetiva das partículas do fármaco em contato com os fluidos gastrointestinais; C_s é a concentração de saturação do fármaco em solução na camada difusional; C é a concentração do fármaco nos fluidos gastrointestinais e h é a espessura da camada difusional ao redor de cada partícula do fármaco (ASHFORD, 2005a).

Os testes de dissolução e perfil de dissolução *in vitro* são ferramentas importantes de controle de qualidade nos diferentes estágios do ciclo de vida de um medicamento. Nos primeiros estágios do desenvolvimento farmacotécnico, os testes de perfil de dissolução são úteis para identificar as variáveis críticas no processo

produtivo, bem como as diferenças nas formulações. Além disso, são muito importantes para avaliar o impacto que certas mudanças (alteração de equipamento, local de fabricação, formulação, entre outras) possam ter no produto final. Já os testes de dissolução, durante a fase de produção, são fundamentais para liberação de lotes, bem como a avaliação da estabilidade, uma vez que as características de dissolução de um produto devem manter-se constantes durante todo o período de validade do mesmo (ABUZARUR-ALOUL *et al.*, 1997; MANADAS, PINA, VEIGAS, 2002; MURTHY, GHEBRE-SELLASSIE, 1993).

Segundo a legislação brasileira, para comprovação da bioisenção baseada no SCB, além da comprovação da alta solubilidade do fármaco, o medicamento teste deverá apresentar dados comprobatórios da rápida dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica. Assim sendo, no mínimo 85% do fármaco deverá se dissolver em 30 minutos, em todas as condições testadas, tanto para o medicamento teste quanto para o medicamento referência (BRASIL, 2011). Os guias do FDA, EMA e OMS, além da alta solubilidade do fármaco, também exigem a comprovação da rápida ou muito rápida dissolução do fármaco, dependendo da sua classificação biofarmacêutica. Um fármaco será considerado de muito rápida dissolução, quando no mínimo 85% do fármaco dissolver em 15 minutos, em todas as condições testadas, tanto para o medicamento teste quanto para o medicamento referência (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

O Quadro 5 descreve os principais parâmetros para análise do perfil de dissolução de fármacos em relação ao SCB descritos pela legislação brasileira, americana, europeia e da OMS (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

Quadro 5: Comparativo dos parâmetros para a análise de dissolução de fármacos baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS.

Parâmetro	ANVISA	FDA	EMA	OMS
Taxa de dissolução	85% em 30 minutos	85% em 30 minutos (fármacos classe I) e 85% em 15 minutos (fármacos classe III)	85% em 30 minutos (fármacos classe I) e 85% em 15 minutos (fármacos classe III)	85% em 30 minutos (fármacos classe I) e 85% em 15 minutos (fármacos classe III)
Volume do meio	900 mL	500 mL ou menos	900 mL ou menos	900 mL ou menos

Quadro 5: Comparativo dos parâmetros para a análise de dissolução de fármacos baseado no SCB perante ANVISA, FDA, EMA e OMS (Continuação).

Parâmetro	ANVISA	FDA	EMA	OMS
Aparato	Pá a 50 RPM ou cesto a 100 RPM	Pá 50 ou 75 RPM (devidamente justificado) ou cesto a 100 RPM	Pá a 50 RPM ou cesto a 100 RPM	Pá a 75 RPM ou cesto a 100 RPM
Meios de dissolução	pH 1,20 (HCl 0,10 M ou líquido gástrico simulado sem enzimas); pH 4,50 e pH 6,80 (líquido intestinal sem enzimas)	pH 1,20 (HCl 0,10 M ou líquido gástrico simulado sem enzimas); pH 4,50 e pH 6,80 (líquido intestinal sem enzimas)	pH 1,20 (HCl 0,10 M ou líquido gástrico simulado sem enzimas); pH 4,50 e pH 6,80 (líquido intestinal sem enzimas)	pH 1,20 (solução de HCl ou tampão); pH 4,50 (tampão acetato) e pH 6,80 (tampão fosfato)
Verificação do pH	Início e final do experimento	–	pH deve ser assegurado durante o experimento	–
Temperatura do meio	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C	(37 ± 1) °C
Tensoativos no meio de dissolução	Não aceito	–	Não aceito	Não aceito
Enzimas no meio de dissolução	Só autorizado em cápsulas de gelatina	Para cápsulas e comprimidos com revestimento de gelatina	Para cápsulas e comprimidos com revestimento de gelatina	Só autorizado em cápsulas de gelatina

Fonte: BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015.

2.2.3 Permeabilidade

A permeabilidade é baseada diretamente na extensão da absorção intestinal dos fármacos em humanos, ou através de medidas de taxas de transferência de massa da membrana intestinal humana. Também podem ser utilizados modelos animais ou modelos *in vitro*, como, por exemplo, culturas de células epiteliais (YU *et al.*, 2002; FDA, 2015).

De acordo com os guias do FDA, EMA e OMS, um fármaco é considerado altamente permeável quando a extensão da absorção for 85% ou mais em seres humanos (EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015).

Os principais métodos utilizados para a determinação da permeabilidade de fármacos são: (a) método de balanço de massas, (b) método de biodisponibilidade absoluta, (c) métodos *in silico* que empregam programas computacionais, (d) métodos *in vitro* baseados em sistemas artificiais compostos por lipídios, (e) métodos *in vitro* baseados em sistemas celulares, (f) métodos *ex vivo* que empregam segmentos de tecidos isolados de animais, (g) métodos *in vivo* que contemplem os estudos farmacocinéticos em animais ou em seres humanos e (h) métodos *in situ*, que consistem na perfusão do fármaco em determinados trechos do intestino (DAHAN, AMIDON, 2009a; EMA, 2010; FDA, 2015; LINDENBERG, KOPP, DRESSMAN, 2004; OMS, 2015; SOUZA *et al.*, 2009; YU *et al.*, 2002).

Para isenção do estudo de biodisponibilidade, o guia da EMA recomenda o uso dos métodos de balanço de massas ou de biodisponibilidade absoluta para a determinação da permeabilidade. O FDA e a OMS, além dos métodos citados, aceitam os métodos de perfusão intestinal *in vitro* e *in vivo* (EMA, 2010; FDA, 2015; OMS, 2015).

Diversos fatores influenciam no resultado da permeabilidade do fármaco, como, por exemplo, a escolha da espécie animal, a origem do tecido, a linhagem celular, a forma e condução do estudo, a análise dos resultados. Além disso, é fundamental considerar a estabilidade e a solubilidade do fármaco em relação às condições do estudo, como tempo do estudo, temperatura do teste, pH e soluções utilizadas (VOLPE, 2010).

Assim sendo, a escolha do método para o estudo de permeabilidade poderá acarretar em diferentes resultados. Portanto, a padronização da técnica é fundamental para minimizar as possíveis variações (VOLPE, 2010).

2.3 Fisiologia da absorção de fármacos

Os medicamentos absorvidos por via oral passam por todo o trato gastrointestinal e o tempo de trânsito (incluindo esvaziamento gástrico, passagem

pelo intestino delgado e intestino grosso) varia de 0,4 a 5 dias (SHARGEL, YU, PONG, 2005).

Ao longo do trato gastrointestinal é observado um gradiente de pH em diferentes regiões em função dos aspectos fisiológicos envolvidos no processo de digestão. No estado de jejum, o estômago apresenta uma faixa de pH de 1,0 a 2,0 e no duodeno o pH aumenta para a faixa de 4,0 a 5,4 em função da presença de íons bicarbonato secretados através do ducto pancreático. Entre o jejuno proximal e o íleo distal, o pH se eleva de forma gradual para uma faixa de 4,4 a 8,0. O Quadro 6 apresenta os valores de pH no trato gastrointestinal em indivíduos normais nos estados em jejum e alimentado (ASHFORD, 2005b; AVDEEF, 2005).

Quadro 6: Valores de pH nas porções do trato gastrointestinal em indivíduos normais nos estados em jejum e alimentado.

Local do TGI	pH em jejum	pH após alimentação
Estômago	1,0 - 2,0	2,0 - 5,0
Duodeno	4,0 - 5,4	4,9 - 5,9
Jejuno	4,4 - 6,5	5,2 - 6,0
Íleo	6,8 - 8,0	6,8 - 7,8
Cólon	5,5 - 7,0	6,5 - 8,0

Fonte: ASHFORD, 2005b; AVDEEF, 2005

2.3.1 Estômago

O estômago, apesar de não ser o principal local para a absorção de fármacos, é onde inicia-se a liberação do fármaco. Para compostos com alta solubilidade no pH gástrico, a completa dissolução ocorre nesse órgão (DRESSMAN *et al.*, 2007).

O fluido gástrico é complexo, pois é uma mistura de diferentes componentes do trato gastrointestinal, como, por exemplo, componentes da saliva, secreções gástricas, líquido, dietas da alimentação e refluxo de líquido do duodeno. Os principais componentes do fluido gástrico são os íons hidrogênio, os sais biliares e as enzimas lipase e pepsina. A concentração de íons de hidrogênio afeta o pH e conseqüentemente a ionização dos fármacos. As enzimas podem afetar a estabilidade e a dissolução do fármaco, já os sais biliares podem formar micelas, impactando a solubilidade do fármaco (DAHAN, AMIDON, 2009b).

2.3.2 Intestino delgado

O intestino delgado representa 60% do trato gastrointestinal e é dividido em três porções importantes: duodeno, jejuno e íleo. Cerca de 90% dos processos de absorção acontecem no intestino delgado (principalmente duodeno e jejuno), já que sua superfície apresenta inúmeras microvilosidades, as quais são responsáveis por aumentar a área de superfície absorviva, tornando a absorção mais eficiente (BALIMANE, CHONG, MORRISON 2000; DESESSO, JACOBSON, 2001).

O fluido do intestino delgado é composto de quimo do estômago, secreções do fígado, do pâncreas e da parede do próprio intestino delgado. Secreções do pâncreas incluem bicarbonato, proteases (principalmente tripsina e quimiotripsina), amilase e lipases. O fígado secreta a bile, a qual contém sais biliares, fosfolípidos, bicarbonato, colesterol, pigmentos biliares e resíduos orgânicos. A parede do intestino delgado secreta íons minerais, como bicarbonato, sódio e cloreto. Os tipos e as concentrações dos tampões presentes no intestino delgado podem influenciar a ionização dos fármacos e conseqüentemente sua dissolução (KONTUREK, KONTUREK, HAHN 2004; SHENGG, MCNANARA, AMIDON, 2009; WIDMAIER, RALF, STRANG, 2006).

2.3.3 Intestino grosso

A mucosa do intestino grosso é menos irregular quando comparada à do intestino delgado. Essa porção do trato gastrointestinal é importante na absorção de fármacos que não foram absorvidos nos órgãos anteriores ou, ainda, na absorção de fármacos específicos que dependem de suas propriedades físico-químicas e das características da forma farmacêutica (produtos com revestimento entérico ou de liberação prolongada) (GIBALDI, 1984).

2.4 Fatores que influenciam a dissolução de fármacos

Além das características físico-químicas do fármaco e da formulação do medicamento, a dissolução do fármaco e a absorção dependem do ambiente fisiológico do trato gastrointestinal. Dessa forma, diversos parâmetros, como pH,

tampões, presença de sais biliares, entre outros fatores, podem impactar a dissolução dos fármacos (DRESSMAN *et al.*, 1998).

2.4.1 Presença de alimento

O alimento pode ter impacto na dissolução dos fármacos devido à mudança no meio fisiológico. Por exemplo, na presença de alimento, o esvaziamento gástrico é prolongado e conseqüentemente o pH do estômago é elevado, enquanto o pH do intestino delgado é diminuído. Assim sendo, fármacos com características ácidas podem ter sua dissolução aumentada no estômago e diminuída no intestino delgado, devido ao fato de estarem mais ionizados no pH do estômago e menos ionizados no pH do intestino delgado, comparado ao estado em jejum. Já fármacos com características básicas podem ter sua dissolução decrescida no pH do estômago e aumentada no pH do intestino delgado, pelo fato de estarem mais ionizados no pH do intestino delgado e menos ionizados no pH do estômago, comparado ao estado em jejum (JONES *et al.*, 2006).

Augustijns e colaboradores (2014), em um trabalho de revisão, compararam a solubilidade de 28 fármacos de diferentes grupos de pesquisa, utilizando como meio de dissolução o fluido intestinal humano nos estados alimentado e em jejum. Neste estudo, foi observado que apenas quatro fármacos apresentavam menor solubilidade no estado alimentado comparado ao estado em jejum. Todos os fármacos relatados são ácidos fracos e dessa forma há um efeito negativo na solubilidade desses compostos na presença de alimento, causado pela diminuição do pH no intestino.

2.4.2 pH

O pH é definido como o negativo do logaritmo da concentração do íon hidrogênio, como mostrado na Equação 2.

$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

Equação 2

O pH de uma solução neutra é 7, pelo fato das concentrações dos íons H⁺ e também OH⁻ serem 10⁻⁷ mol.L⁻¹. O pH das soluções ácidas é menor que 7 e das soluções básicas é maior que 7. A aplicação quantitativa da Equação de Henderson-Hasselbalch (Equação 3) permite determinar a solubilidade de um fármaco em água, a um dado pH, desde que conhecido os valores de pK_a e a solubilidade das espécies não-ionizadas (*c_u*). A concentração das espécies ionizadas é representado por (*c_i*) na equação 3. O pK_a é o pH onde 50% das moléculas estão 50% ionizadas e 50% não-ionizadas (ASHFORD, 2005b).

$$pK_a = pH + \log \frac{c_u}{c_i} \quad \text{Equação 3}$$

Um grande número de fármacos é ácido ou base fraca e portanto sua solubilidade pode ser influenciada pelo pH do sistema. A solubilidade de uma base fraca pode ser aumentada, diminuindo o pH da solução, enquanto a solubilidade de um ácido fraco pode ser elevada, com o aumento do pH. Alguns fármacos podem ter mais de um valor de pK_a e dessa forma exibirão um perfil de solubilidade mais complexo (ASHFORD, 2005b).

2.4.3 Tensoativos

O uso de tensoativos em meios de dissolução é uma das principais formas para aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis ou ligeiramente solúveis em água (FUCHS, DRESSMAN, 2014).

Os mecanismos mais prováveis de ação dos tensoativos são os fenômenos de molhabilidade e a solubilização micelar. O processo de molhabilidade consiste em deslocar uma microfase de ar da superfície do sólido e substituí-la por uma microfase líquida, diminuindo dessa forma o ângulo de contato sólido-líquido e as tensões superficial e interfacial do meio aquoso, aumentando assim a penetração do líquido de dissolução na matriz sólida. No mecanismo de solubilização micelar, o tensoativo utilizado encontra-se em concentração acima da concentração micelar crítica (CMC).

Acima da CMC, a tensão superficial permanece essencialmente constante, indicando que a interface sólido-líquido está saturada e a formação de micelas teve lugar no meio líquido (SCHOTT, KWAN, FELDMAN, 1982).

Os meios biorrelevantes possuem em sua constituição surfactantes encontrados nos fluidos gastrointestinais humanos, como a lecitina e o taurocolato de sódio, diferentemente dos meios farmacopeicos que geralmente utilizam lauril sulfato de sódio e polissorbato como tensoativos (ALMUKAINZI *et al.*, 2014).

Pesquisas têm mostrado que a pureza dos surfactantes utilizados nos meios de dissolução tem alto impacto na dissolução de certos fármacos (ALMUKAINZI *et al.*, 2014).

2.4.4 Osmolalidade

A osmolalidade é uma forma prática de uma medida total da contribuição de vários solutos presentes na solução pela pressão osmótica da solução (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010).

A osmolalidade do meio pode afetar a dissolução dos fármacos através da mudança do comportamento de entumescimento da formulação. Esta propriedade está relacionada com a penetração de água na formulação. Quando a diferença na pressão osmótica entre o interior da formulação e o exterior (meio de dissolução) diminui, a penetração de água também decresce, afetando negativamente a liberação do fármaco (RUDOLPH *et al.*, 2001).

O principal método para determinação da osmolalidade consiste em determinar a medida da diminuição do ponto de congelamento da solução analisada, através do uso do equipamento osmômetro (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010).

2.4.5 Volume gástrico

A concentração do fármaco depende do volume dos fluidos gastrointestinais. A dissolução do fármaco vai depender do volume de líquido administrado com o

fármaco, das secreções e do fluxo de água através da superfície do intestino (MASAOKA *et al.*, 2006).

O estômago tem capacidade de 1,5 L, apesar de que, em jejum, contenha não mais que do que 50 mL de fluido. O volume fisiológico do intestino delgado varia entre 50 a 1100 mL, com média de 500 mL sob condições de jejum. Quando administrado com um copo de água, o medicamento é imerso em aproximadamente 250 mL de líquido no estômago. Caso o fármaco não esteja dissolvido no estômago, o esvaziamento gástrico irá levá-lo ao intestino delgado e o restante do fármaco será dissolvido no intestino delgado (ASHFORD, 2005a; YU *et al.*, 2002).

Devido à alta variabilidade dos fluidos gastrointestinais, é muito complexo definir o volume apropriado para o estudo de dissolução (ASHFORD, 2005a; YU *et al.*, 2002).

2.4.6 Tampões e capacidade tamponante

Diversos métodos descritos nas farmacopeias utilizam meios tamponantes, os quais refletem as condições de pH no trato gastrointestinal, são fáceis de preparar, robustos e bem aceitos pelas agências reguladoras. No entanto, estes meios, apesar de úteis para análise pelo controle de qualidade, não refletem as características encontradas no trato gastrointestinal, como por exemplo força iônica, viscosidade, tensão superficial, osmolalidade, condição jejum ou alimentado, entre outros parâmetros (KLEIN, 2010).

Para cada solução tampão é possível determinar a capacidade tamponante. Essa propriedade é medida através da titulação da solução tampão com uma solução de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. Esse parâmetro mede a capacidade dessa solução manter o pH após a adição de ácidos e bases (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010).

A capacidade tamponante do meio de dissolução, juntamente com seu pH, tem grande impacto na dissolução dos fármacos, em vista que uma alteração do pH do meio pode impactar a ionização dos fármacos e conseqüentemente sua solubilidade. No trato gastrointestinal em jejum o principal tampão biológico é o bicarbonato, já no

estado alimentado o tampão depende do tipo de alimentação (JANTRATID *et al.*, 2008).

2.4.7 Enzimas

A principal enzima encontrada no suco gástrico é a pepsina, já no intestino delgado são encontradas lipases, amilases e proteases. As proteases são responsáveis pela degradação de fármacos de natureza proteica. Além disso, fármacos como nucleotídeos e ácidos graxos também podem estar sujeitos a degradação enzimática. As lipases também podem afetar a liberação de fármacos que contenham substâncias lipídicas. Os fármacos na forma de ésteres também são suscetíveis à hidrólise. Além disso, no cólon há enzimas secretadas por bactérias, que são utilizadas para o delineamento de formas farmacêuticas destinadas a atuar no intestino grosso (ASHFORD, 2005b).

Grignard e colaboradores (2016) em um estudo realizado em cachorros e ratos, verificaram que durante a ingestão de alimentos, a concentração de pepsina e lipase é aumentada. Em humanos, a pepsina também é aumentada após a ingestão de alimentos (MUDIE, AMIDON, AMIDON, 2010).

2.4.8 Tensão superficial

A tensão superficial é um efeito físico que ocorre na interface entre duas fases químicas. Esta propriedade é causada pelas forças de coesão entre moléculas semelhantes (FELL, 2005).

A tensão superficial pode influenciar a dissolução do fármaco, pois este parâmetro está relacionado com a molhagem do princípio ativo. Dessa forma, uma alta tensão superficial acarreta uma menor molhabilidade (DAHAN, AMIDON, 2009b).

A tensão superficial nos fluidos gastrointestinais é consideravelmente menor que a da água, devido a presença de surfactantes na região (DRESSMAN *et al.*, 1998).

Há diversos métodos para a determinação da tensão superficial, sendo os mais comuns o método de placa de Wilhelmy, do anel, da ascensão capilar e da gota pendente ou cadente (ASHFORD, 2005c).

2.4.9 Motilidade gástrica

No trato gastrointestinal, a espessura da camada de difusão (h), conforme equação de Noyes-Whitney será afetada pelo nível de agitação a que cada partícula do fármaco é submetida. Dessa forma, o aumento na motilidade do trato gastrointestinal pode aumentar a velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis, devido à redução na espessura da camada de difusão ao redor das partículas do fármaco (ASHFORD, 2005b).

2.4.10 Viscosidade

O aumento da viscosidade no meio de dissolução causado pela presença de algumas substâncias pode diminuir o coeficiente de difusão (D), conforme equação de Noyes-Whitney e conseqüentemente diminuir a dissolução dos fármacos. Por isso, a presença de alimentos no trato gastrointestinal pode reduzir a velocidade de difusão na qual as partículas desse fármaco abandonam a camada difusional que circunda cada partícula e assim sendo, sua dissolução também pode ser diminuída (ASHFORD, 2005b).

2.5 Meios biorrelevantes

Os meios biorelevantes foram desenvolvidos com o objetivo de se ter uma melhor CIVIV. Dessa forma, eles são úteis na avaliação de formulações com fármacos de baixa solubilidade, pois eles mimetizam melhor as características dos meios fisiológicos, como, por exemplo, a osmolalidade, a presença de alimento, o pH, a

capacidade tamponante, entre outros fatores (BHAGAT *et al.*, 2014; JANTRATID, DRESSMAN, 2009).

2.5.1 Meios biorrelevantes utilizados no estômago

Em 2005, Vertzoni e colaboradores desenvolveram o meio de dissolução *fasted-state simulated gastric fluid* (FaSSGF) para simular as condições no estômago no estado em jejum.

Meios de dissolução que simulem as condições no estômago após a alimentação incluem leite com alto teor de gordura (3,5%) que simula uma refeição mais branda e Ensure Plus®, o qual apresenta as propriedades físico-químicas similares a uma refeição padrão utilizada pelo FDA nos estudos de bioequivalência. Dessa forma, foram desenvolvidos meios de dissolução que refletem as propriedades físico-químicas no estômago (pH, capacidade tamponante, osmolaridade) após 75 min da refeição (antes), 75 a 165 min (meio) e após 165 min (depois) da ingestão da refeição (JANTRATID *et al.*, 2008).

A Tabela 1 mostra a composição dos meios de dissolução FaSSGF e *fed-state simulated gastric fluid* (FeSSGF), simulando o antes, o meio e depois da ingestão de alimentos. A composição desses meios foi preparada para simular as propriedades físico-químicas dos aspirados gástricos no decorrer de uma refeição (VERTZONI *et al.*, 2005; JANTRATID *et al.*, 2008).

Tabela 1: Composição dos meios de dissolução FaSSGF e FeSSGF (antes, meio e depois da refeição)

Composição	FaSSGF	FeSSGF		
		Antes	Meio	Depois
Taurocolato de sódio (μM)	80,00	-	-	-
Lecitina (μM)	20,00	-	-	-
Pepsina (mg.mL^{-1})	0,10	-	-	-
Cloreto de sódio (mM)	34,20	148,00	237,02	122,60
Ácido acético (mM)	-	-	17,12	-

Tabela 1: Composição dos meios de dissolução FaSSGF e FeSSGF (antes, meio e depois da refeição) (Continuação).

Composição	FaSSGF	FeSSGF		
		Antes	Meio	Depois
Acetato de sódio (mM)	-	-	29,75	-
Ácido ortofosfórico (mM)	-	-	-	5,50
Fosfato dihidrogenado de sódio (mM)	-	-	-	32,00
Leite/tampão*	-	1:0	1:1	1:3

* Tampão acetato (FeSSGF meio) e tampão fosfato (FeSSGF depois). Fonte: VERTZONI *et al.*, 2005; JANTRATID *et al.*, 2008.

A composição desses meios incluem taurocolato de sódio (sal biliar) e lecitina (fosfolípídeo), os quais são tensoativos que auxiliam na solubilidade de fármacos poucos solúveis. Já a pepsina é uma enzima encontrada no estômago. Os outros insumos incluem constituintes do sistema tampão, como o ácido acético, acetato de sódio, ácido ortofosfórico e fosfato dihidrogenado de sódio. E por último, o cloreto de sódio, que está relacionado com a osmolalidade do meio de dissolução (VERTZONI *et al.*, 2005; JANTRATID *et al.*, 2008).

2.5.2 Meios biorrelevantes utilizados no intestino delgado

Em 1998, Dressman e colaboradores e, em 2008, Jantratid e colaboradores desenvolveram os meios biorelevantes de dissolução *fasted-state simulated intestinal fluid* (FaSSIF) e *fed-state simulated intestinal fluid* (FeSSIF), os quais mimetizam as condições no intestino delgado em jejum e pós-prandial, respectivamente. Estes meios de dissolução contêm em sua composição surfactantes encontrados no organismo, como lecitina e taurocolato de sódio. A Tabela 2 apresenta a composição dos meios de dissolução FaSSIF e FeSSIF, mimetizando o antes, o meio e depois da ingestão de alimentos. A composição desses meios foi preparada para simular as propriedades físico-químicas dos aspirados gastrointestinais no decorrer de uma refeição.

Tabela 2: Composição dos meios de dissolução FaSSIF e FeSSIF (antes, meio e depois da refeição).

Composição	FaSSIF	FeSSIF		
		Antes	Meio	Depois
Taurocolato de sódio (mM)	5,00	10,00	7,50	4,50
Lecitina (mM)	1,50	3,00	2,00	0,50
Hidróxido de sódio (mM)	qs pH = 6,80	52,50	65,30	72,00
Fosfato de potássio dibásico (M)	0,03	-	-	-
Cloreto de Potássio (M)	0,22	-	-	-
Monooleato de glicerila (mM)	-	6,50	5,00	1,00
Oleato de sódio (mM)	-	40,00	30,00	0,80
Ácido maleico (mM)	-	28,60	44,00	58,09
Cloreto de sódio (mM)	-	145,20	122,80	51,00

Fonte: DRESSMAN *et al.*, 1998; Jantratid *et al.*, 2008.

A composição desses meios incluem constituintes com a mesma função que os meios biorrelevantes FaSSGF e FeSSGF. Além disso, há a presença de oleato de sódio e monooleato de glicerila que são lipídeos encontrados no organismo (JANTRATID *et al.*, 2008).

2.5.3 Meios biorrelevantes utilizados no intestino grosso

Em 2010, Vertozni e colaboradores desenvolveram os meios de dissolução para mimetizarem as condições no fluido colônico. Neste estudo foram desenvolvidos o *fasted-state simulated colonic fluid* (FaSSCoF) e o *fed-state simulated colonic fluid* (FeSSCoF), os quais simulam as condições no fluido colônico no estado em jejum e alimentado, respectivamente.

A Tabela 3 apresenta a composição dos meios de dissolução FaSSCoF e FeSSCoF desenvolvidos por Vertzoni e colaboradores (2010).

Tabela 3: Composição dos meios de dissolução FaSSCoF e FeSSCoF.

Composição	FaSSCoF	FeSSCoF
Extratos de sais biliares (mM)	0,15	0,60
Lecitina (mM)	0,30	0,50
Ácido palmítico (mM)	0,10	0,20
Albumina de soro bovino (mg.mL ⁻¹)	3,00	3,00
Cloreto de sódio (mM)	-	34,00
Glicose (mg.mL ⁻¹)	-	14,00
Tris-aminometano (mg.mL ⁻¹)	5,50	3,70
Ácido maleico (mg.mL ⁻¹)	8,80	3,50
Hidróxido de sódio	qs pH 7,80	qs pH 6,00

Fonte: VERTZONI *et al.*, 2010.

3 JUSTIFICATIVA

Os meios de dissolução utilizados na avaliação do teste de perfil de dissolução devem refletir as condições encontradas *in vivo*, bem como ter a capacidade de discriminar formulações distintas (KLEIN, 2010).

Os meios de dissolução farmacopeicos usados para análise do perfil de dissolução diferem significativamente das condições encontradas *in vivo* no estômago, intestino delgado e intestino grosso. Os parâmetros físico-químicos como: osmolaridade, tipo e concentração de tensoativos, força iônica, pH, sistema tampão, concentração de enzimas e viscosidade são muito diferentes das condições *in vivo*. Sabe-se que todos estes fatores, bem como a presença do alimento, influenciam o perfil de cedência de um fármaco. Além disso, há estudos que relatam que diversos meios de dissolução farmacopeicos não são discriminativos (GARBACZ, KLEIN, 2012; KLEIN, 2010). Dessa forma, o uso de um meio de dissolução com condições físico-químicas muito distintas das *in vivo* e não discriminativos pode acarretar em uma falsa avaliação de bioequivalência entre duas formulações (DRESSMAN, REPPAS, 2000; KLEIN, 2010; MUDIE, AMIDON, AMIDON, 2010).

Portanto, o uso de meios de dissolução mais preditivos de biodisponibilidade torna-se necessário. Os meios biorrelevantes possuem características mais próximas das condições encontradas *in vivo*. Além disso, existem meios biorrelevantes, como o FeSSGF e o FeSSIF, que simulam a presença do alimento encontrado no estômago e intestino delgado, respectivamente (JANTRATID *et al.*, 2008).

A utilização de meios de dissolução preditivos de biodisponibilidade é de extrema relevância para as indústrias farmacêuticas desenvolvedoras de medicamentos genéricos e similares. A análise do perfil de dissolução é a principal etapa para a tomada de decisão de se enviar uma nova formulação para o teste de bioequivalência, o qual é um teste muito oneroso. Assim sendo, com o uso de um meio de dissolução mais discriminativo e que reflita melhor as condições *in vivo*, haveria uma maior segurança para a indústria farmacêutica, diminuindo as chances de reprovação no teste de bioequivalência. Este fato reduziria o custo no desenvolvimento do produto e evitaria um retrabalho para o setor de desenvolvimento.

Além disso, o uso dos meios biorrelevantes pode ser útil no desenvolvimento de medicamentos sólidos orais novos. Durante a fase pré-clínica, pode ser utilizado

para a seleção do sal, do tamanho de partícula e do polimorfo do fármaco, além da escolha dos excipientes empregados na formulação. Na fase I dos estudos clínicos pode ser útil na avaliação do efeito do alimento na biodisponibilidade do fármaco (WANG, FOTAKI, MAO, 2009).

Para o órgão regulador, este trabalho pode auxiliar em uma melhor avaliação no registro de novos produtos, já que diversos medicamentos sólidos orais são dispensados do teste de bioequivalência, conforme a RDC 37 de 2011. Com o uso de meios de dissolução mais preditivos de biodisponibilidade, a ANVISA terá uma maior segurança na aprovação do registro para esses produtos (BRASIL, 2011).

Além disso, hoje, algumas alterações pós-registro, como, por exemplo: mudanças menores de produção de fármacos, alterações menores de excipientes, mudanças menores de processo e de equipamentos, exigem apenas análise de perfil de dissolução, não sendo necessário o teste de bioequivalência. Como, muitas vezes, esse meio de dissolução não é preditivo de biodisponibilidade, esta alteração pós-registro pode acarretar em um produto não bioequivalente à condição previamente registrada (BRASIL, 2016a).

Portanto, o uso de meios de dissolução mais preditivos de biodisponibilidade fornecerá uma maior segurança ao órgão regulador para a aprovação de novos produtos genéricos e similares, bem como as alterações pós-registro em que não se exige este teste.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar, com base na literatura técnico-científica, a relevância dos meios de dissolução biorrelevantes como preditivos de biodisponibilidade oral.

4.2 Objetivos específicos

- Pesquisar na literatura as características físico-química dos fluidos gastrointestinais humanos e realizar uma avaliação dos resultados encontrados.
- Verificar na literatura as propriedades físico-químicas dos meios biorrelevantes e dos meios farmacopeicos e comparar, com foco em uma análise crítica, as propriedades desses meios com as dos fluidos gastrointestinais humanos.
- Comparar, com foco em uma análise crítica, os resultados dos perfis de dissolução em meios biorrelevantes com os resultados de testes *in vivo*.

5 METODOLOGIA

No desenvolvimento do presente estudo, foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados científicas SCOPUS, SCIELO, SCIENCE DIRECT, Periódicos Capes e PUBMED. A seleção dos artigos foi feita com base na leitura do resumo dos artigos pesquisados. Não houve restrição na escolha dos artigos pelo ano do estudo, sendo considerados artigos publicados até dezembro de 2018.

Esse trabalho foi dividido em três tópicos. Primeiramente, foi realizada uma busca em artigos científicos para verificação das propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais humanos. Foram pesquisadas as propriedades pH, capacidade tamponante, osmolalidade, tensão superficial, concentração de ácidos biliares e concentração de proteínas totais nos fluidos estomacais, duodenais e do jejuno, tanto no estado em jejum quanto no alimentado. Para essa busca foram utilizadas as seguintes palavras chaves: fluidos duodenais humanos (*human duodenal fluids*), fluidos gástricos humanos (*human gastric fluids*) e fluidos gastrointestinais humanos (*human gastrointestinal fluids*). Todos estes termos foram cruzados com o operador booleano “AND” e a palavra composição (*composition*) ou com a palavra propriedades (*properties*).

Para esse primeiro tópico somente foram escolhidos estudos que apresentavam o resultado da média das propriedades físico-químicas analisadas nos voluntários. Em alguns artigos inseridos nas tabelas do item 6.1 não foram identificados os valores mínimo e máximo encontrados nos voluntários. Em outros estudos não foi possível verificar o desvio padrão calculado. Estes valores estão sinalizados com um traço (-). Além disso, para esse tópico, foram desenvolvidos gráficos “*boxplot*” utilizando o programa Microsoft Excel® 2016. Somente foram construídos esses gráficos quando foram encontrados pelo menos 4 estudos em cada uma das condições analisadas (região estomacal, duodenal e do jejuno).

Para o segundo tópico, foram comparadas a média e o seu respectivo desvio padrão dos estudos analisados das propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais humanos com as propriedades físico-químicas encontradas nos estudos com meios biorrelevantes e farmacopeicos. Nos casos em que foram encontrados apenas 1 artigo que verificasse determinada propriedade físico-química nos fluidos gastrointestinais, foi comparado o limite inferior e superior encontrado para a propriedade analisada no estudo.

Os meios biorrelevantes selecionados para o comparativo neste tópico foram os meios FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF e FeSSGF, os quais são os mais descritos na literatura. Para a pesquisa das propriedades dos meios biorrelevantes foi utilizada a palavra chave meio biorrelevante (*biorelevant media*). Esta palavra foi cruzada com o operador booleano “AND” e a palavra composição (*composition*) ou com a palavra propriedades (*properties*). Em relação à pesquisa das propriedades dos meios farmacopeicos foram empregadas as palavras chaves: meio farmacopeico (*pharmacoperial media*) e tampão fosfato 6,8 (*phosphate buffer 6,8*). Estes termos foram cruzados com o operador booleano “AND” e a palavra composição (*composition*) ou propriedades (*properties*). Os meios farmacopeicos usados no comparativo foram o ácido clorídrico (HCl) 0,1 M e tampão fosfato pH 6,8, os quais são utilizados para os testes de perfil de dissolução nos estudos de bioisenção.

Finalmente, foi feita uma comparação dos resultados dos estudos de bioequivalência descritos na literatura com os resultados dos testes de perfil de dissolução em meios biorrelevantes. Para isso, foram utilizadas as palavras chaves correlações *in vitro- in vivo* (*in vitro- in vivo correlations*) e meios biorrelevantes (*biorelevant media*). Estas palavras foram cruzadas com o operador booleano “AND” e os termos estudos de bioequivalência (*bioequivalence studies*) ou estudos clínicos (*clinical studies*).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Características físico-químicas dos fluidos gastrointestinais humanos

6.1.1 pH dos fluidos gastrointestinais

Os resultados de pH encontrados em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais, duodenais e no jejuno podem ser verificados nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

Em todos os estudos foi medido o pH com eletrodo de pH. Os estudos de Dressman e colaboradores (1990) e Efentakis e Dressman (1998) foram excluídos da análise, pois não informavam o resultado da média dos voluntários. O estudo de Vertzoni e colaboradores (2012) foi descartado, pois neste estudo o fármaco danazol era administrado juntamente com o alimento e esse fato poderia interferir na propriedade físico-química analisada.

Tabela 4: Análise de pH coletado no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	pH mínimo	pH médio	pH máximo	Desvio Padrão
1	07	-	1,80	-	-
2	24	1,40	2,90	7,50	1,97
3	05	-	2,80	-	1,10
4	18	1,23	1,70	7,36	-
5	165	-	2,90	-	0,16
6	19	1,16	2,50	5,96	1,40
7	10	-	1,80	-	-

Média pH médio e desvio padrão: $2,34 \pm 0,56$. Retirado de: Estudos (1) ARMAND *et al.*, 1996; (2) LINDAHL *et al.*, 1997; (3) PEDERSEN *et al.*, 2000; (4) KALANTZI *et al.*, 2006a; (5) LU *et al.*, 2010; (6) PEDERSEN *et al.*, 2013; (7) RABBIE *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Tabela 5: Análise de pH coletado no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	pH mínimo	pH médio	pH máximo	Desvio Padrão
1	07	-	7,30	-	-
2	04	5,90	6,45	7,10	0,50
3	15	-	6,20	-	-
4	12	-	6,70	-	-
5	06	6,30	7,00	7,50	0,40
6	05	6,00	6,70	7,60	0,62
7	15	5,41	6,71	7,28	0,46
8	04	-	7,50	-	-
9	04	6,60	7,40	7,50	-
10	11	-	7,50	-	-
11	20	3,40	6,78	8,30	-

Média pH médio e desvio padrão: $6,93 \pm 0,44$. Retirado de: Estudos (1) ARMAND *et al.*, 1996; (2) BROWERS, 2006; (3) KALANTZI *et al.*, 2006a; (4) KALANTZI *et al.*, 2006b; (5) MORENO *et al.*, 2006; (6) CLARYSSE *et al.*, 2009; (7) ANNAERT *et al.*, 2010; (8) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (9) WUYTS *et al.*, 2013; (10) WUYTS *et al.*, 2015; (11) RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 6: Análise de pH coletado no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	pH mínimo	pH médio	pH máximo	Desvio Padrão
1	55	-	6,63	-	0,53
2	24	5,30	7,10	8,10	0,60
3	10	-	6,70	-	0,90
4	12	-	7,50	-	-
5	06	6,50	6,80	7,30	0,40
6	04	6,30	7,08	7,50	0,54
7	10	-	7,40	-	-

Média pH médio e desvio padrão: $7,03 \pm 0,34$. Retirado de: Estudos (1) EVANS *et al.*, 1988; (2) LINDAHL *et al.*, 1997; (3) PEDERSEN *et al.*, 2000; (4) PERSSON *et al.*, 2005; (5) MORENO *et al.*, 2006; (6) FADDA *et al.*, 2010; (7) RABBIE *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Através da observação das Tabelas 4, 5 e 6 foi verificado que foram encontrados 7, 11 e 7 artigos, respectivamente, em que se analisou o pH dos fluidos gastrointestinais no estado em jejum. As amplitudes dos valores de pH (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foram de 1,16 a 7,50 para o fluido estomacal em jejum, 3,40 a 8,30 para o fluido duodenal em jejum e 5,30 a 8,10 para o fluido do jejuno em jejum.

Essa alta amplitude nos resultados de pH pode ter ocorrido em consequência da diluição da secreção gástrica com a saliva ou com a secreção nasal dos voluntários. Além disso, a possível alteração de pH nos fluidos gastrointestinais em determinado voluntário pode ter acontecido devido a alguma condição fisiológica, como hipocloridria, acloridria, refluxo do duodeno para a região estomacal, entre outras alterações (ANNAERT *et al.*, 2010; BERGSTROM *et al.*, 2013; CLARYSSE *et al.*, 2009; KALENTZI *et al.*, 2006; LINDAHL *et al.*, 1997; LU *et al.*, 2010; MORENO *et al.*, 2006; PEDERSEN *et al.*, 2013; RIETHORST *et al.*, 2016).

Apesar da grande variabilidade na amplitude dos valores de pH, a amplitude das médias verificadas nestes estudos foi muito menor, sendo de 1,70 a 2,90 para o fluido estomacal em jejum, de 6,20 a 7,50 no fluido duodenal em jejum e de 6,63 a 7,50 no fluido do jejuno em jejum. A Figura 1 demonstra este intervalo de média observado nos estudos.

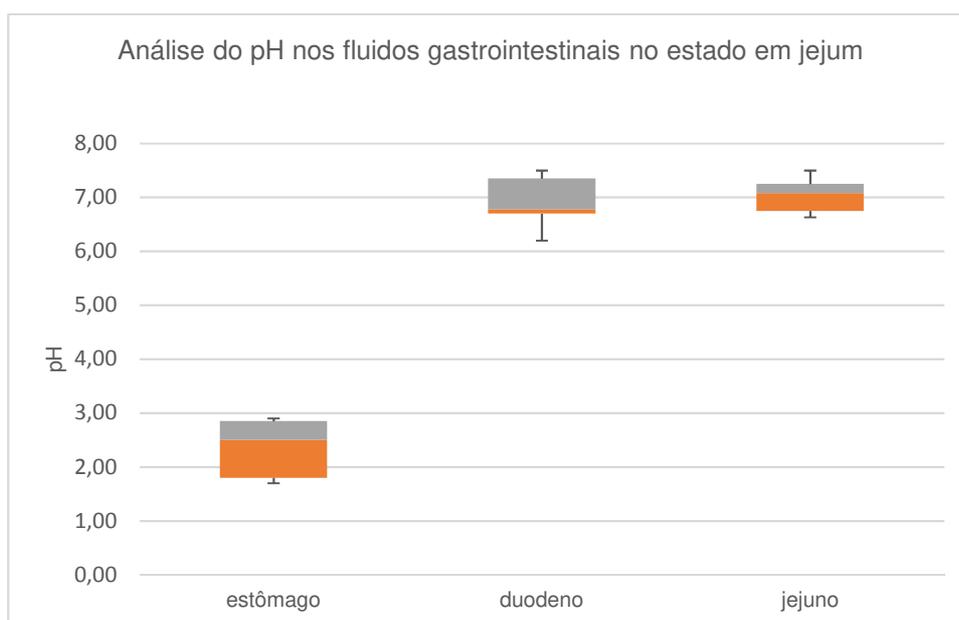


Figura 1: Análise das médias dos pH relatados nos estudos dos fluidos gastrointestinais em humanos. Retirado de: EVANS *et al.*, 1988; ARMAND *et al.*, 1996; LINDAHL *et al.*, 1997; PEDERSEN *et al.*, 2000; BROWERS, 2006; KALANTZI *et al.*, 2006a; KALANTZI *et al.*, 2006b; MORENO *et al.*, 2006; CLARYSSE *et al.*, 2009; ANNAERT *et al.*, 2010; FADDA *et al.*, 2010; LU *et al.*, 2010; HOLMSTOCK *et al.*, 2013; PEDERSEN *et al.*, 2013; WUYTS *et al.*, 2013; RABBIE *et al.*, 2015; WUYTS *et al.*, 2015; RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor

Através da análise do gráfico da Figura 1 pode-se observar a pequena variabilidade dos resultados de média encontrados nos estudos, devido à baixa amplitude dos gráficos. No entanto, todos os gráficos apresentam distribuição assimétrica, sendo os gráficos do pH do estômago e do jejuno em jejum negativamente assimétricos, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q3. Já o gráfico de pH do duodeno em jejum é positivamente assimétrico, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q1.

Em relação aos estudos de pH no estado pós-prandial, foi obtido apenas um artigo para a região estomacal e para a região do jejuno. Na região duodenal foram encontrados 6 artigos. Devido a essa pequena quantidade de artigos conseguidos na literatura, foi realizado apenas o comparativo dos estudos na região duodenal, conforme Tabela 7.

Em todos os estudos foi medido o pH com eletrodo de pH. Os estudos de Savarino e colaboradores (1988), Dressman e colaboradores (1990), Armand e colaboradores (1996) e Kalantzi e colaboradores (2006a) foram excluídos da análise, pois não informavam o resultado da média de pH dos voluntários.

O pH estomacal no estado alimentado variou de 4,90 a 5,90, com média de 5,47, sendo analisados 12 voluntários, conforme o estudo de Diakidou e colaboradores (2009). Já o pH no jejuno no estado pós-prandial teve média de 6,10, sendo analisados 6 voluntários, de acordo com Persson e colaboradores (2005).

Tabela 7: Análise do pH coletado no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	pH mínimo	pH médio	pH máximo	Desvio Padrão
1*	12	-	5,95	-	-
2	05	5,40	5,94	6,40	0,46
3	04	-	6,00	-	-
4	04	4,80	5,80	6,30	-
5	09	-	6,30	-	-
6	20	4,70	6,22	7,10	-

Média pH médio e desvio padrão: $6,04 \pm 0,19$. Retirado de: Estudos (1*) KALANTZI *et al.*, 2006b (média das 4 medições realizadas, após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração do alimento); (2) CLARYSSE *et al.*, 2009; (3) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (4) WUYTS *et al.*, 2013; (5) WUYTS *et al.*, 2015; (6) RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 7, verificou-se que a amplitude dos valores de pH (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foi de 4,70 a 7,10. Já a amplitude das médias dos estudos foi de 5,80 a 6,30. Essa baixa amplitude pode ser explicada devido à capacidade tamponante do alimento utilizado nos protocolos dos estudos (RIETHORST *et al.*, 2016).

Em relação ao pH do fluido estomacal no estado alimentado, pode-se observar que a média de 5,47 de pH foi maior do que o intervalo de média do fluido estomacal em jejum, o qual apresentou valores de pH entre 1,70 a 2,90. Dessa forma, pode-se constatar que o pH estomacal é elevado quando na presença do alimento.

Em compensação, pode-se verificar que a média do pH do fluido duodenal no estado alimentado com valores entre 5,80 a 6,30 e do pH do fluido do jejuno em jejum com pH de 6,10 tiveram valores menores que o pH do fluido duodenal no estado em jejum com pH na faixa de 6,20 a 7,50 e do que o pH do fluido do jejuno em jejum com intervalo de pH entre 6,63 a 7,50. Com isso, pode-se concluir que o pH do intestino delgado é diminuído quando está na presença do alimento.

Assim sendo, a mudança de pH ocasionada pela presença do alimento pode influenciar a dissolução dos fármacos, devido a maior ou menor ionização do fármaco em determinado pH (BAXEVANIS, KUIPER, FOTAKI, 2016; HORTER, DRESSMAN, 2001; JONES *et al.*, 2006).

6.1.2 Capacidade tamponante dos fluidos gastrointestinais

Poucos artigos que analisaram a capacidade tamponante nos fluidos gastrointestinais estavam disponíveis na literatura, tanto para o estado em jejum quanto para o alimentado.

Os estudos de Kalantzi e colaboradores (2006a) e Moreno e colaboradores (2006) foram excluídos da análise, pois não informavam o resultado da média dos voluntários. Além disso, o estudo de Vertzoni e colaboradores (2012) foi descartado, pois o fármaco danazol era administrado juntamente com o alimento e esse fato poderia interferir nas propriedades físico-químicas analisadas.

Na maioria dos estudos, a capacidade tamponante foi determinada através da titulação com solução de ácido clorídrico (HCl). Somente no estudo de Pedersen e colaboradores (2013), a capacidade tamponante foi determinada com a titulação com

solução de hidróxido de sódio (NaOH). Em Litou e colaboradores (2016), a capacidade tamponante foi analisada com solução de NaOH e HCl e nos estudos de Persson e colaboradores (2005) e Diakidou e colaboradores (2009) não foi informada a solução titulante utilizada.

Os resultados da capacidade tamponante encontrada em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais, duodenais e no jejuno podem ser verificados nas Tabelas 8, 9 e 10, respectivamente.

Tabela 8: Análise da capacidade tamponante no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Capacidade Tamponante mínimo (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Capacidade Tamponante médio (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Capacidade Tamponante máximo (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Desvio Padrão
1	06	-	14,30	-	9,50
2	08	4,70	17,87	27,60	-

Média capacidade tamponante médio e desvio padrão: 16,09 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ ± 2,52. Retirado de: Estudos (1) PEDERSEN *et al.*, 2013; (2) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 9: Análise da capacidade tamponante no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Capacidade Tamponante mínimo (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Capacidade Tamponante médio (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Capacidade Tamponante máximo (mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹)	Desvio Padrão
1	12	-	5,60	-	-
2	04	2,30	5,20	7,20	-
3	08	8,40	12,70	19,20	-

Média capacidade tamponante médio e desvio padrão: 7,83 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ ± 4,22. Retirado de: Estudos (1) KALANTZI *et al.*, 2006b; (2) WUYTS *et al.*, 2013; (3) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 10: Análise da capacidade tamponante no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Capacidade Tamponante mínimo (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Capacidade Tamponante médio (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Capacidade Tamponante máximo (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Desvio Padrão
1	12	-	2,40	-	-
2	04	1,70	3,23	4,50	1,26
3	10	-	6,60	-	-

Média capacidade tamponante médio e desvio padrão: 4,08 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ ± 2,22. Retirado de: Estudos (1) PERSSON *et al.*, 2005; (2) FADDA *et al.*, 2010; (3) RABBIE *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Pela análise das Tabelas 8,9 e 10 foram encontrados 2 artigos em que se analisou a capacidade tamponante no fluido estomacal em jejum e 3 artigos em que foi verificada a capacidade tamponante no fluido duodenal e do jejuno no estado em jejum. A amplitude da capacidade tamponante (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foi de 4,70 a 27,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ no fluido estomacal em jejum, 2,30 a 19,20 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ no fluido duodenal em jejum e 1,70 a 6,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ no fluido do jejuno em jejum.

As amplitudes das médias verificadas nestes estudos foram de 14,30 a 17,87 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ para o fluido estomacal em jejum, de 5,60 a 12,70 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ para fluido duodenal em jejum e de 2,40 a 6,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ no fluido do jejuno em jejum.

Em relação aos estudos de capacidade tamponante no estado pós-prandial, foi encontrado apenas 1 artigo na região estomacal e na região do jejuno. Na região duodenal foram identificados 2 artigos. Por ter sido encontrado apenas 1 artigo na literatura em que se analisou o fluido estomacal e da região do jejuno, foi realizado apenas o comparativo dos estudos na região duodenal, conforme Tabela 11.

A capacidade tamponante do fluido estomacal no estado alimentado variou de 22,50 a 30,00 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹, com média de 25,83 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹, sendo analisados 12 voluntários, conforme o estudo de Diakidou e colaboradores (2009). Já a capacidade tamponante do jejuno no estado pós-prandial teve média de 14,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹, sendo analisados 6 voluntários, de acordo com Persson e colaboradores (2005).

Tabela 11: Análise da capacidade tamponante no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Capacidade Tamponante mínimo (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Capacidade Tamponante médio (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Capacidade Tamponante máximo (mmol.L ⁻¹ .ΔpH ⁻¹)	Desvio Padrão
1*	12	-	25,75	-	-
2	04	13,20	20,20	40,50	-

Média capacidade tamponante médio e desvio padrão: 22,98 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ ± 3,92. Retirado de: Estudos (1*) KALANTZI *et al.*, 2006b (média das 4 medições realizadas, após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração de alimento); (2) WUYTS *et al.*, 2013. Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 11, verificou-se que a amplitude dos valores da capacidade tamponante (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foi de 13,20 a 40,50 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹. Já a amplitude das médias dos estudos foram de 20,20 a 25,75 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹.

Através da observação dos resultados, sugere-se que a presença do alimento aumenta a capacidade tamponante dos fluidos gastrointestinais, como, por exemplo, na comparação do fluido estomacal em jejum em que a capacidade tamponante média foi de 14,30 a 17,87 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ e a capacidade tamponante média do fluido estomacal no estado alimentado foi de 25,83 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹, da comparação do fluido duodenal em jejum em que a capacidade tamponante média foi de 5,60 a 12,70 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ e a capacidade tamponante média do fluido duodenal no estado pós-prandial foi de 20,20 a 25,75 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ e do comparativo do fluido do jejuno em jejum em que a capacidade tamponante média foi de 2,40 a 6,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹ e a capacidade tamponante média do fluido do jejuno no estado pós-prandial foi de 14,60 mmol.L⁻¹.ΔpH⁻¹.

Como o pH do meio influencia a dissolução do fármaco e a capacidade tamponante está relacionada com a capacidade desse meio manter seu pH após a adição de ácidos e bases, pode-se sugerir que a presença de determinado tipo de alimento pode aumentar a capacidade tamponante dos fluidos gastrointestinais e consequentemente alterar a dissolução dos fármacos (BAXEVANIS, KUIPER, FOTAKI, 2016; HORTER, DRESSMAN, 2001).

6.1.3 Osmolalidade dos fluidos gastrointestinais

Os resultados de osmolalidade encontrados em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais, duodenais e no jejuno podem ser verificados nas Tabelas 12,13 e 14, respectivamente.

O estudo de Vertzoni e colaboradores (2012) foi descartado, pois o fármaco danazol era administrado juntamente com o alimento e esse fato poderia interferir nas propriedades físico-químicas analisadas.

Em todos os estudos, a osmolalidade foi medida através da técnica de determinação da depressão de ponto do congelamento, utilizando o equipamento osmômetro, exceto o estudo de Lindahl e colaboradores (1997) em que foi determinada a pressão de vapor, também empregando o equipamento osmômetro. O estudo de Pedersen e colaboradores (2000) não descreveu a metodologia utilizada.

Tabela 12: Análise da osmolalidade no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Osmolalidade mínima (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade média (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade máxima (mOsm.Kg ⁻¹)	Desvio Padrão
1	24	114,00	191,00	230,00	36,00
2	05		29,00		03,00
3	05	-	221,00	-	15,00
4	18	-	140,00	-	-
5	19	-	220,00	-	58,00
6	08	44,90	97,50	144,00	-

Média osmolalidade média e desvio padrão: 149,75 mOsm.Kg⁻¹ ± 76,31. Retirado de: Estudos

(1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) GISOLFI, 1998; (3) PEDERSEN *et al.*, 2000; (4) KALANTZI *et al.*, 2006a; (5) PEDERSEN *et al.*, 2013; (6) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 13: Análise da osmolalidade no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Osmolalidade mínima (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade média (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade máxima (mOsm.Kg ⁻¹)	Desvio Padrão
1	05	-	142,00	-	17,00
2	12	-	197,00	-	-
3	05	85,00	137,00	220,00	54,00
4	05	124,00	212,40	266,00	57,36
5	15	165,00	220,80	278,00	34,07
6	04	-	224,00	-	-
7	04	-	198,00	-	-
8	11	-	278,00	-	-
9	08	92,50	161,05	217,40	-

Média osmolalidade média e desvio padrão: 196,69 mOsm.Kg⁻¹ ± 44,74. Retirado de: Estudos (1) GISOLFI, 1998; (2) KALANTZI *et al.*, 2006b; (3) MORENO *et al.*, 2006; (4) CLARYSSE *et al.*, 2009; (5) ANNAERT *et al.*, 2010; (6) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (7) WUYTS *et al.*, 2013; (8) WUYTS *et al.*, 2015; (9) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 14: Análise da osmolalidade no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Osmolalidade mínima (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade média (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade máxima (mOsm.Kg ⁻¹)	Desvio Padrão
1	24	218,00	271,00	292,00	15,00
2	05	-	196,00	-	12,00
3	10	-	221,00	-	15,00
4	04	107,00	200,00	275,00	68,00
5	10	-	257,00	-	-

Média osmolalidade média e desvio padrão: 229,00 mOsm.Kg⁻¹ ± 33,70. Retirado de: Estudos (1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) GISOLFI, 1998; (3) PEDERSEN *et al.*, 2000; (4) MORENO *et al.*, 2006; (5) RABBIE *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Através da verificação das Tabelas 12, 13 e 14 foram encontrados 6 artigos em que foi analisada a osmolalidade no fluido estomacal em jejum, 9 estudos para o fluido duodenal em jejum e 5 artigos para o fluido do jejuno em jejum. A amplitude dos valores de osmolalidade (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foram de 29,00 a 230,00 mOsm.Kg⁻¹ para o fluido estomacal em jejum, 85,00 a 278,00 mOsm.Kg⁻¹ para o fluido duodenal em jejum e 107,00 a 292,00 mOsm.Kg⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum.

A grande faixa encontrada de osmolalidade nos estudos pode ser devido à variabilidade individual dos voluntários, à diferente técnica de aspiração utilizada e ao armazenamento das amostras (BERGSTROM *et al.*, 2014).

A amplitude da variação da média nestes estudos foi de 29,00 a 221,00 mOsm.Kg⁻¹ no fluido estomacal em jejum, 137,00 a 278,00 mOsm.Kg⁻¹ para o fluido duodenal em jejum e 196,00 a 271,00 mOsm.Kg⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum. A Figura 2 demonstra este intervalo de média observado nos estudos.

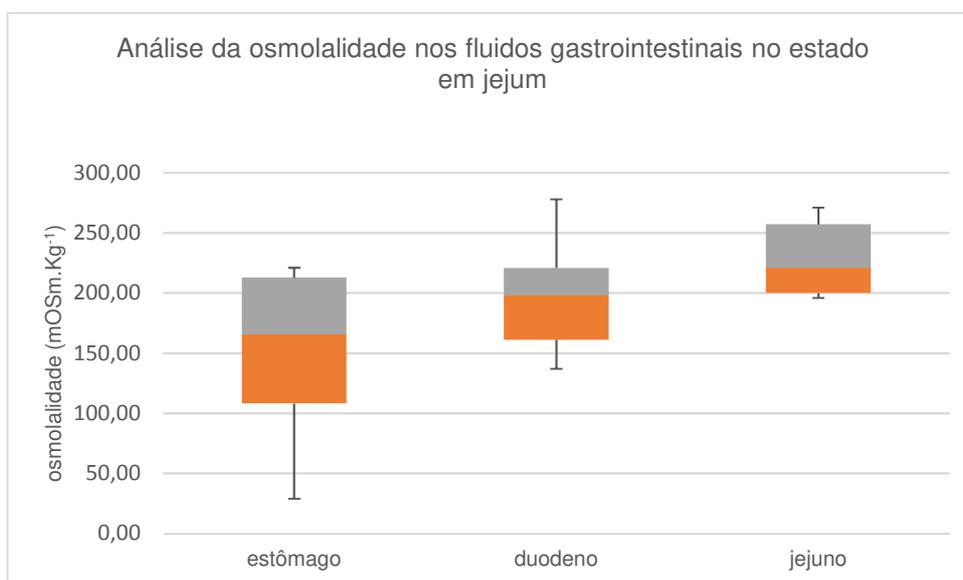


Figura 2: Análise das médias da osmolalidade relatadas nos estudos dos fluidos gastrointestinais de humanos. Retirado de: LINDAHL *et al.*, 1997; GISOLFI, 1998; PEDERSEN *et al.*, 2000; KALANTZI *et al.*, 2006a; KALANTZI *et al.*, 2006b; MORENO *et al.*, 2006; CLARYSSE *et al.*, 2009; ANNAERT *et al.*, 2010; HOLMSTOCK *et al.*, 2013; PEDERSEN *et al.*, 2013; WUYTS *et al.*, 2013; RABBIE *et al.*, 2015; WUYTS *et al.*, 2015; LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Através da análise da Figura 2 pode-se observar a elevada variabilidade dos resultados de média encontrados nos estudos, devido à alta amplitude dos gráficos, principalmente do fluido estomacal e duodenal. Todos os gráficos apresentaram distribuição assimétrica, sendo os de osmolalidade do estômago e do duodeno em jejum negativamente assimétricos, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q3. Já o gráfico de osmolalidade do jejuno em jejum é positivamente assimétrico, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q1.

Em relação aos estudos de osmolalidade no estado pós-prandial, foi encontrado apenas 1 artigo na região estomacal e nenhum estudo na região do jejuno. Na região duodenal foram verificados 5 artigos. Devido a essa baixa quantidade de artigos encontrados na literatura, foi realizado apenas o comparativo dos estudos na região duodenal, conforme Tabela 15.

A osmolalidade do fluido estomacal no estado alimentado variou de 475,00 a 515,00 mOsm.Kg⁻¹, com média de 501,00 mOsm.Kg⁻¹, sendo analisados 12 voluntários, conforme o estudo de Diakidou e colaboradores (2009).

Tabela 15: Análise da osmolalidade no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Osmolalidade mínima (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade média (mOsm.Kg ⁻¹)	Osmolalidade máxima (mOsm.Kg ⁻¹)	Desvio Padrão
1	05	250,00	303,40	367,00	42,75
2*	12	-	411,25	-	-
3	04	-	379,00	-	-
4	04	-	523,00	-	-
5	09	-	534,00	-	-

Média osmolalidade média e desvio padrão: 430,13 mOsm.Kg⁻¹ ± 98,04. Retirado de: Estudos (1) CLARYSSE *et al.*, 2009; (2*) KALANTZI *et al.*, 2006b (média das 4 medições realizadas, após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração de alimento); (3) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (4) WUYTS *et al.*, 2013, (5) WUYTS *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 15, verificou-se que a amplitude dos valores de osmolalidade (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foram de 250,00 a 534,00 mOsm.Kg⁻¹. Já a amplitude das médias dos estudos foram de 303,40 a 534,00 mOsm.Kg⁻¹.

Através da observação dos resultados, sugere-se que a presença do alimento aumenta a osmolalidade dos fluidos gastrointestinais, como por exemplo, na comparação do fluido estomacal em jejum onde a osmolalidade média foi de 29,00 a 221,00 mOsm.Kg⁻¹ e a osmolalidade média do fluido estomacal no estado alimentado foi de 501,00 mOsm.Kg⁻¹ e da comparação do fluido duodenal em jejum em que a osmolalidade média foi de 137,00 a 278,00 mOsm.Kg⁻¹ e a osmolalidade média do fluido duodenal no estado pós-prandial foi de 303,40 a 534,00 mOsm.Kg⁻¹.

A osmolalidade pode influenciar a dissolução do fármaco, devido à mudança do comportamento de entumescimento da formulação, já que esta propriedade físico-

química está correlacionada com o grau de penetração de água (BAXEVANIS, KUIPER, FOTAKI, 2016).

6.1.4 Tensão superficial dos fluidos gastrointestinais

Poucos artigos que analisam a tensão superficial nos fluidos gastrointestinais estão disponíveis na literatura, tanto para o estado em jejum quanto para o estado alimentado.

Os resultados de tensão superficial encontrados em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais, duodenais e no jejuno podem ser verificados nas Tabelas 16,17 e 18, respectivamente.

Os estudos de Efentakis e Dressman (1998) e Kalantzi e colaboradores (2006a) foram excluídos da análise, pois não informavam o resultado da média dos voluntários.

O método de análise da tensão superficial variou muito entre os estudos. Pedersen e colaboradores (2000) e Persson e colaboradores (2005) determinaram a tensão superficial através do método de placa de Wilhelmy, já Kalantzi e colaboradores (2006b) e Litou e colaboradores (2016) utilizaram o método do anel (método de Du Nouy), enquanto Pedersen e colaboradores (2013) usaram o método da gota pendente. Por último, Clarysse e colaboradores (2009) mediram a tensão superficial através do microtensiômetro multicanais Delta-8.

Tabela 16: Análise da tensão superficial no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Tensão superficial mínimo (mN.m⁻¹)	Tensão superficial médio (mN.m⁻¹)	Tensão superficial máximo (mN.m⁻¹)	Desvio Padrão
1	05	-	33,60	-	5,90
2	19	-	34,80	-	5,2
3	08	-	43,22	-	0,74

Média tensão superficial média e desvio padrão: 37,21 mN.m⁻¹ ± 5,24. Retirado de: Estudos

(1) PEDERSEN *et al.*, 2000; (2) PEDERSEN *et al.*, 2013; (3) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 17: Análise da tensão superficial no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Tensão superficial mínimo (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial médio (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial máximo (mN.m ⁻¹)	Desvio Padrão
1	12	-	33,60	-	-
2	05	33,30	40,50	46,00	4,67
3	08	-	32,70	-	-

Média tensão superficial média e desvio padrão: 35,60 mN.m⁻¹ ± 4,27. Retirado de: Estudos (1) KALANTZI *et al.*, 2006b; (2) CLARYSSE *et al.*, 2009; (3) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 18: Análise da tensão superficial no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Tensão superficial mínimo (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial médio (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial máximo (mN.m ⁻¹)	Desvio Padrão
1	10	-	33,60	-	5,90
2	12	-	28,00	-	1,00

Média tensão superficial média e desvio padrão: 30,80 mN.m⁻¹ ± 3,96. Retirado de: Estudos (1) PEDERSEN *et al.*, 2000; (2) PERSSON *et al.*, 2005. Fonte: Próprio autor.

Pela análise das Tabelas 16,17 e 18 foram encontrados 3 artigos em que foi analisada a tensão superficial no fluido estomacal em jejum e no fluido duodenal em jejum e 2 artigos para o fluido do jejuno em jejum. A amplitude dos valores (mínimo e máximo) nestes estudos foi de 33,60 a 43,22 mN.m⁻¹ para o fluido estomacal em jejum, 32,70 a 46,00 mN.m⁻¹ para o fluido duodenal em jejum e 28,00 a 33,60 mN.m⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum.

A amplitude da média desses estudos foi de 33,60 a 43,22 mN.m⁻¹ para o fluido estomacal em jejum, 33,60 a 40,50 mN.m⁻¹ para o fluido duodenal em jejum e 28,00 a 33,60 mN.m⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum. Pode-se observar que houve uma pequena variação na análise da tensão superficial nas três regiões gastrointestinais analisadas.

Pode-se verificar que a tensão superficial dos fluidos gastrointestinais é menor que a da água (72,00 mN.m⁻¹), devido à presença de sais biliares e enzimas (ABEELE *et al.*, 2017; BERGSTROM *et al.*, 2014). Um valor menor de tensão superficial acarreta

uma maior molhabilidade da formulação e conseqüentemente uma taxa de dissolução mais rápida (DRESSMAN, 1998; HORTER, DRESSMAN, 2001).

Em relação aos estudos de tensão superficial no estado pós-prandial, não foi encontrado nenhum artigo na região estomacal. Na região duodenal foram encontrados 2 artigos e na região do jejuno 1 artigo. Devido a essa baixa quantidade de artigos encontrados na literatura, foi realizado apenas o comparativo dos estudos na região duodenal, conforme Tabela 19.

A tensão superficial no jejuno no estado alimentado teve média de 27,00 mN.m⁻¹ e desvio padrão de 1,00, sendo analisados 6 voluntários, conforme o estudo de Persson e colaboradores (2005).

Tabela 19: Análise da tensão superficial no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Tensão superficial mínimo (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial médio (mN.m ⁻¹)	Tensão superficial máximo (mN.m ⁻¹)	Desvio Padrão
1*	12	-	28,17	-	-
2	05	32,20	34,24	36,70	1,68

Média tensão superficial média e desvio padrão: 31,21 mN.m⁻¹ ± 4,29. Retirado de: Estudos (1*) KALANTZI *et al.*, 2006b (média das 4 medições realizadas, após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração de alimento); (2) CLARYSSE *et al.*, 2009. Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 19, observou-se que a amplitude dos valores de tensão superficial (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foi de 28,17 a 36,70 mN.m⁻¹, enquanto que a amplitude das médias dos estudos foi de 28,17 a 34,24 mN.m⁻¹.

Não se observou diferença entre a tensão superficial dos fluidos estomacais e intestinais e também na comparação do estado em jejum com o alimentado. No entanto, poucos artigos foram encontrados, o que dificultou a análise dessa propriedade físico-química.

6.1.5 Ácidos biliares nos fluidos gastrointestinais

Os resultados de análise de ácido biliares totais encontrados em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais, duodenais e no jejuno podem ser verificados nas Tabelas 20,21 e 22, respectivamente.

Os estudos de Kalantzi e colaboradores (2006a), Persson e colaboradores (2006) e Annaert e colaboradores (2010) foram excluídos da análise, pois não informavam o resultado da média dos voluntários. O estudo de Vertzoni e colaboradores (2012) foi descartado, pois o fármaco danazol era administrado juntamente com o alimento e esse fato poderia interferir nas propriedades físico-químicas analisadas.

O método de análise dos ácidos biliares totais variou muito entre os estudos, utilizando métodos colorimétricos, kits de análise e métodos cromatográficos para quantificação (ARMAND *et al.*, 1996; BROWERS *et al.*, 2006; CLARYSSE *et al.*, 2009; FOLTZ *et al.*, 2015; HOLMSTOCK *et al.*, 2013; KALANTZI *et al.*, 2006b; LINDAHL *et al.*, 1997; MORENO *et al.*, 2006; PEDERSEN *et al.*, 2000; PEDERSEN *et al.*, 2013; PERSSON *et al.*, 2005; RIETHORST *et al.*, 2016; WUYTS *et al.*, 2013; WUYTS *et al.*, 2015).

Tabela 20: Análise de ácidos biliares totais no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Ácidos biliares totais mínimo (mM)	Ácidos biliares totais médio (mM)	Ácidos biliares totais máximo (mM)	Desvio Padrão
1	24	0,00	0,20	2,50	0,50
2	05	-	0,82	-	0,57
3	19	-	0,33	-	0,31
4	24	-	0,13	-	0,04

Média ácido biliares totais médio e desvio padrão: 0,37 mM ± 0,31. Retirado de: Estudos (1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) PEDERSEN *et al.*, 2000; (3) PEDERSEN *et al.*, 2013; (4) FOLTZ *et al.*, 2015. Fonte: Próprio autor.

Tabela 21: Análise de ácidos biliares no fluido duodenal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Ácidos biliares mínimo (mM)	Ácidos biliares médio (mM)	Ácidos biliares máximo (mM)	Desvio Padrão
1	07	-	5,90	-	1,80
2	08	-	4,22	-	-
3	04	1,00	3,48	5,30	1,80
4	12	-	2,82	-	-
5	06	0,57	2,64	5,14	1,62
6	05	2,00	2,64	3,00	0,38
7	04	-	8,12	-	-
8	04	0,40	2,60	5,90	-
9	11	-	4,22	-	-
10	20	0,03	4,61	36,18	-

Média ácido biliares totais médio e desvio padrão: 4,11 mM \pm 2,20. Retirado de: Estudos (1) ARMAND *et al.*, 1996; (2) LINDAHL *et al.*, 1997; (3) BROWERS *et al.*, 2006; (4) KALANTZI *et al.*, 2006b; (5) MORENO *et al.*, 2006; (6) CLARYSSE *et al.*, 2009; (7) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (8) WUYTS *et al.*, 2013; (9) WUYTS *et al.*, 2015; (10) RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 22: Análise de ácidos biliares totais no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Ácidos biliares totais mínimo (mM)	Ácidos biliares totais médio (mM)	Ácidos biliares totais máximo (mM)	Desvio Padrão
1	24	0,10	2,90	13,30	2,90
2	10	-	1,52	-	1,77
3	12	-	2,00	-	0,20
4	06	0,83	3,55	5,47	1,62

Média ácido biliares totais médio e desvio padrão: 2,49 mM \pm 0,91. Retirado de: Estudos (1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) PEDERSEN *et al.*, 2000; (3) PERSSON *et al.*, 2005; (4) MORENO *et al.*, 2006. Fonte: Próprio autor.

Pela análise das Tabelas 20, 21 e 22 foram encontrados 04, 10 e 04 artigos em que foram analisados a concentração total de ácidos biliares no fluido estomacal, duodenal e no jejuno no estado em jejum, respectivamente. A amplitude dos valores (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foram de 0,00 a 2,50 mM para o fluido estomacal em jejum, 0,03 a 36,18 mM para o fluido duodenal em jejum e 0,10 a 13,30 mM para o fluido do jejuno em jejum.

Houve uma grande variabilidade na concentração de ácidos biliares na região do duodeno e jejuno para os estudos analisados. Isto pode ter ocorrido, devido às

diferenças individuais dos voluntários, ou devido as diferentes técnicas de amostragem e análise (BERGSTROM *et al.*, 2014).

A amplitude da média desses estudos foram de de 0,13 a 0,82 mM para o fluido estomacal em jejum, 2,60 a 8,12 mM para o fluido duodenal em jejum e 1,52 a 3,55 mM para o fluido do jejuno em jejum. A Figura 3 demonstra este intervalo de média observado nos estudos.

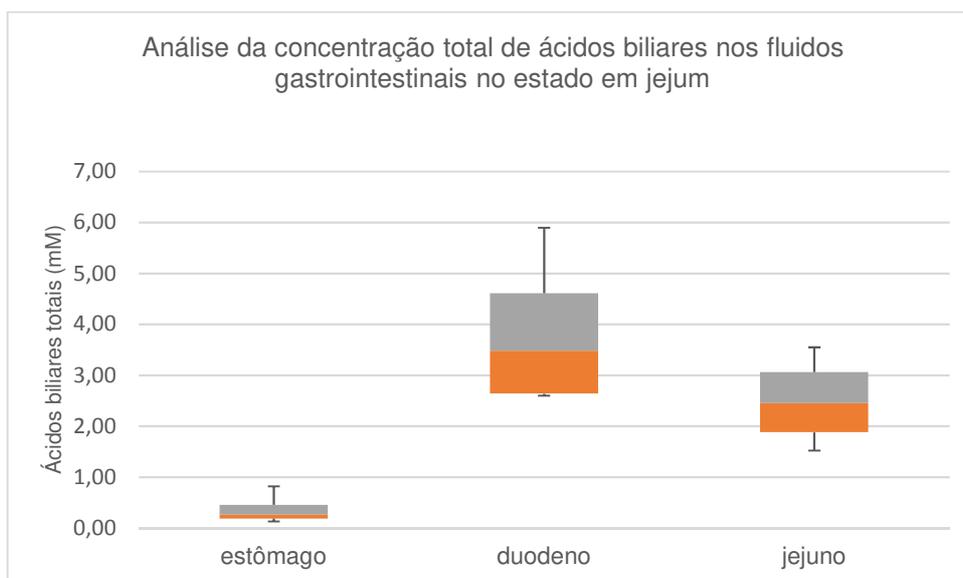


Figura 3: Análise das médias da concentração de ácidos biliares totais relatados nos estudos dos fluidos gastrointestinais de humanos. Retirado de: ARMAND *et al.*,1996; LINDAHL *et al.*,1997; PERSSON *et al.*, 2005; BROWERS *et al.*, 2006; KALANTZI *et al.*, 2006b; MORENO *et al.*, 2006; CLARYSSE *et al.*, 2009; HOLMSTOCK *et al.*, 2013; WUYTS *et al.*, 2013; FOLTZ *et al.*, 2015; WUYTS *et al.*, 2015; RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Através da análise da Figura 3 pode-se observar que todos os gráficos apresentaram distribuição assimétrica, sendo os de ácidos biliares totais do estômago e do duodeno em jejum positivamente assimétricos, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q1. Já o gráfico de ácidos biliares totais do jejuno em jejum é negativamente assimétrico, pois o valor da mediana está mais próximo do intervalo Q3.

Pode-se verificar que a concentração de ácidos biliares totais é maior no duodeno e no jejuno do que no estômago. A presença de ácidos biliares pode aumentar a dissolução de fármacos pouco solúveis, através da diminuição da barreira de energia entre o fármaco e o meio de dissolução, pelo aumento da área de superfície

ativa e pelo mecanismo de solubilização micelar (BAXEVANIS, KUIPER, FOTAKI, 2016; HORTER, DRESSMAN, 2001).

Em relação aos estudos de concentração de ácidos biliares no estado pós-prandial, foram encontrados 7 artigos que analisaram a região duodenal e 1 artigo na região do jejuno. Na região estomacal não foi encontrado nenhum artigo. Devido a essa baixa quantidade de artigos encontrados na literatura, foi realizado apenas o comparativo dos estudos na região duodenal, conforme Tabela 23.

A concentração de sais biliares totais no jejuno no estado alimentado teve média de 8,00 mM e um desvio padrão de 0,1 mM, sendo analisado 12 voluntários, conforme o estudo de Persson e colaboradores (2005).

Tabela 23: Análise de ácidos biliares totais no fluido duodenal no estado alimentado em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Ácidos biliares totais mínimo (mM)	Ácidos biliares totais médio (mM)	Ácidos biliares totais máximo (mM)	Desvio Padrão
1*	07	-	10,50	-	-
2*	12	-	8,21	-	-
3	05	1,60	3,62	6,20	1,69
4	04	-	8,42	-	-
5	04	2,40	5,00	7,90	-
6	09	-	9,22	-	-
7	20	0,74	12,65	86,14	-

Média ácido biliares totais médio e desvio padrão: 8,23 mM ± 3,09. Retirado de: Estudos (1*) Armand *et al.*, 1996 (média das 4 medições realizadas, após 1, 2, 3 e 4 horas da administração do alimento); (2*) KALANTZI *et al.*, 2006b (média das 4 medições realizadas, após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração de alimento); (3) CLARYSSE *et al.*, 2009; (4) HOLMSTOCK *et al.*, 2013; (5) WUYTS *et al.*, 2013; (6) WUYTS *et al.*, 2015; (7) RIETHORST *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Pela análise da Tabela 23, observou-se que a amplitude dos valores de ácidos biliares totais (valor mínimo e valor máximo) nestes estudos foi de 0,74 a 86,14 mM, enquanto que a amplitude das médias dos estudos foi de 3,62 a 12,65 mM.

Pode-se observar que há um pequeno aumento na concentração de ácido biliares no estado alimentado em relação ao jejum para a região intestinal.

6.1.6 Proteínas totais nos fluidos gastrointestinais

Os resultados de análise das proteínas totais encontrados em artigos nos fluidos gastrointestinais no estado em jejum nas regiões estomacais e do jejuno podem ser verificados nas Tabelas 24 e 25, respectivamente. Na região duodenal em jejum foi encontrado apenas o estudo de Litou e colaboradores (2016), o qual apresentou uma concentração média de 2,30 g.L⁻¹ de proteínas totais, sendo analisados oito voluntários.

O estudo de Kalantzi e colaboradores (2006a) foi excluído da análise, pois não informava a média dos voluntários. O estudo de Vertzoni e colaboradores (2012) foi descartado, pois neste estudo o fármaco danazol era administrado juntamente com o alimento e esse fato poderia interferir nas propriedades físico-químicas analisadas.

Tabela 24: Análise de proteínas totais no fluido estomacal em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Proteínas totais mínimo (g.L ⁻¹)	Proteínas totais médio (g.L ⁻¹)	Proteínas totais máximo (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão
1	24	0,70	1,80	3,90	0,70
2	19	-	4,90	-	1,00
3	08	-	0,50	-	-

Média proteínas totais médio e desvio padrão: 2,40 g.L⁻¹ ± 2,26. Retirado de: Estudos (1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) PEDERSEN *et al.*, 2013; (3) LITOU *et al.*, 2016. Fonte: Próprio autor.

Tabela 25: Análise de proteínas totais no fluido do jejuno em jejum em humanos em diferentes estudos.

Estudo	Número de voluntários	Proteínas totais mínimo (g.L ⁻¹)	Proteínas totais médio (g.L ⁻¹)	Proteínas totais máximo (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão
1	24	0,70	2,10	5,30	1,20
2	12	-	1,00	-	0,10

Média proteínas totais médio e desvio padrão: 1,55 g.L⁻¹ ± 0,78. Retirado de: Estudos (1) LINDAHL *et al.*, 1997; (2) PERSSON *et al.*, 2005. Fonte: Próprio autor.

Pela análise das Tabelas 24 e 25 foram encontrados 03 e 02 artigos em que foi analisada a concentração total de proteínas no fluido estomacal e no jejuno no estado em jejum, respectivamente. A amplitude dos valores (valor mínimo e valor máximo)

nestes estudos foi de 0,50 a 4,90 g.L⁻¹ para o fluido estomacal em jejum e 0,70 a 5,30 g.L⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum.

A amplitude da média desses estudos foi de 0,50 a 4,90 g.L⁻¹ para o fluido estomacal em jejum e 1,00 a 2,10 g.L⁻¹ para o fluido do jejuno em jejum. A presença de proteínas, principalmente enzimas, pode influenciar a dissolução e a estabilidade de fármacos (GRIGNARD *et al.*, 2016).

Em relação aos estudos de concentração de proteínas totais no estado pós-prandial, foi encontrado o estudo de Diakidou e colaboradores (2009) que analisou a concentração de proteínas totais no fluido estomacal. Este estudo foi realizado com 12 voluntários, apresentando média de 19,13 g.L⁻¹ e amplitude de 11,10 a 24,60 g.L⁻¹. No fluido do jejuno, somente foi encontrado o estudo de Persson e colaboradores (2005). Este estudo foi realizado com 06 voluntários e apresentou média de proteínas totais de 5,00 g.L⁻¹ e desvio padrão de 0,10. No fluido duodenal no estado alimentado não foi encontrado nenhum estudo.

A concentração de proteínas totais no estado alimentado é dependente do tipo de alimentação consumida, portanto sua concentração é altamente variável, dessa forma não podendo ser definida em um único estudo (BAXEVANIS, KUIPER, FOTAKI, 2016).

6.2 Comparativo dos fluidos gastrointestinais com os meios de dissolução

Com o objetivo de reduzir tempo e custos com os estudos de bioequivalência, os testes de perfil de dissolução devem ser capazes de prever o comportamento esperado *in vivo*. Para isso, os meios de dissolução devem ser os mais discriminativos possíveis para que se possa identificar as diferenças entre as formulações. Portanto, as propriedades físico-químicas, como, por exemplo, pH, osmolalidade, tensão superficial, concentração de proteínas, concentração de ácidos biliares e capacidade tamponante devem ser o mais próximas das condições *in vivo* com o objetivo de que a dissolução realizada *in vitro* forneça resultados similares aos de uma dissolução *in vivo* (GRIGNARD *et al.*, 2016; KLEIN, 2010).

6.2.1 Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal em jejum com os meios de dissolução

A Tabela 26 faz uma comparação entre as propriedades físico-químicas do fluido estomacal em jejum com o meio biorrelevante FaSSGF e com o meio farmacopeico HCl 0,1 M. Os dados do fluido estomacal em jejum foram retirados da amplitude das médias relatadas das propriedades analisadas no item 6.1. Já o meio HCl 0,1 M foi escolhido, pois este é o meio de dissolução utilizado para análise da bioislação, conforme as agências regulatórias estudadas nesse trabalho (BRASIL, 2011; EMA, 2010; FDA, 2015; WHO, 2015). O meio FaSSGF, desenvolvido por Vertzoni e colaboradores (2005), foi selecionado, já que este foi o primeiro meio biorrelevante desenvolvido para simulação do fluido estomacal e também por ser um dos meios biorrelevantes mais utilizados.

Tabela 26: Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal em jejum, do meio de dissolução biorrelevante FaSSGF e do meio de dissolução farmacopeico HCl 0,1 M pH 1,2.

Propriedade	Fluido estomacal em jejum	FaSSGF ^a	HCl 0,1 M pH 1,2 ^b
pH	1,79 - 2,90 (n= 7)	1,60	1,20
Capacidade tamponante (mmol.L ⁻¹ . ΔpH ⁻¹)	13,56 – 18,61 (n= 2)	-	-
Osmolalidade (mOsm.Kg ⁻¹)	73,44 - 226,06 (n= 6)	120,70 (±2,50)	188,00 (±0,30)
Tensão superficial (mN.m ⁻¹)	31,96 - 42,45 (n= 3)	42,60	54,60 (±0,20)
Ácidos biliares totais (mM)	0,06 - 0,68 (n= 4)	0,08	0,00
Proteínas totais (mg.mL ⁻¹)	0,14 – 4,66 (n= 3)	0,10	0,00

Fonte: ^a VERTZONI *et al.*, 2005; ^b PEDERSEN *et al.*, 2013.

Pode-se observar que o meio biorrelevante FaSSGF apresenta um valor de pH mais próximo à faixa de pH relatada para o fluido estomacal em jejum do que o meio HCl 0,1 M. Este valor de pH mais ácido do meio farmacopeico pode impactar no grau

de ionização dos fármacos e dessa forma influenciar na dissolução dos mesmos (ASHFORD, 2005b).

Com relação ao sistema tampão, não foram encontrados estudos que analisassem a capacidade tamponante desses meios, pois nenhum deles utiliza algum sistema tampão em seu preparo (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED, 2010; VERTZONI *et al.*, 2005). A capacidade tamponante é dependente do pH do meio de dissolução, do pK_a do tampão e da sua concentração (MUDIE, AMIDON, AMIDON, 2010). Dessa forma, como não há nenhum sistema tampão utilizado no meio biorrelevante FaSSGF e nem no meio farmacopeico, existe a possibilidade de que ocorra uma alteração do pH desses meios após a dissolução de fármacos de caráter básico, ocasionando assim uma alteração no grau de ionização do fármaco e, conseqüentemente, na sua dissolução. Este evento pode não ocorrer no fluido gástrico, devido à presença de um sistema tampão no mesmo. Sendo assim, pode-se observar um comportamento de dissolução diferente no meio biorrelevante e no meio farmacopeico em relação ao fluido estomacal em jejum.

Quanto à propriedade osmolalidade, verifica-se que os valores, tanto do meio biorrelevante quanto do meio HCl 0,1 M, estão dentro do intervalo de osmolalidade do fluido gástrico em jejum. A osmolalidade no fluido estomacal é determinada principalmente pelos eletrólitos Cl⁻, Na⁺, K⁺ e Ca²⁺ (ABEELE *et al.*, 2017). Essa diferença entre o valor de osmolalidade do meio farmacopeico em relação ao meio FaSSGF pode ocasionar uma maior diferença osmótica entre o interior da formulação e o meio de dissolução e assim ocasionar uma maior penetração de água na formulação, acarretando uma diferença no comportamento de dissolução de uma mesma formulação nesses dois meios (RUDOLPH *et al.*, 2001).

Já em relação à tensão superficial dos meios comparados, pode-se verificar que a do meio farmacopeico é maior que a do meio biorrelevante e que do fluido gastrointestinal em jejum. A diferença entre o meio farmacopeico e o meio biorrelevante deve-se à presença nesse último de taurocolato de sódio, um ácido biliar, e de lecitina, um fosfolípideo (VERTZONI *et al.*, 2005). Esta propriedade físico-química pode influenciar a molhagem do fármaco. Um valor baixo de tensão superficial do meio de dissolução ocasiona uma maior molhagem do fármaco e, como resultado, uma maior dissolução (DAHAN, AMIDON, 2009b). Sendo assim, pode-se esperar uma

diferença no comportamento do perfil de dissolução de uma formulação testada no meio HCl 0,1 M em comparação ao meio FaSSGF e ao fluido gástrico em jejum.

No que diz respeito à concentração de ácidos biliares, constata-se que no meio farmacopeico há ausência desses ácidos. No meio biorrelevante há a presença de taurocolato de sódio na concentração de 0,08 mM, valor na faixa da concentração encontrada no fluido estomacal em jejum. Os ácidos biliares, como já mencionados, estão correlacionados com a diminuição da tensão superficial do meio, sendo, portanto, constituintes importantes na dissolução, principalmente de fármacos pouco solúveis (LINDAHL *et al.*, 1997).

Por fim, observa-se a ausência de proteínas no meio HCl 0,1 M. No meio biorrelevante verifica-se que a concentração de proteínas totais está um pouco abaixo da concentração do fluido gástrico. A concentração de 0,10 mg.ml⁻¹ deve-se à adição de pepsina no meio FaSSGF. A presença de enzimas no trato gastrointestinal pode impactar a dissolução e a estabilidade de fármacos (GRIGNARD *et al.*, 2016).

Portanto, pode-se concluir que apesar de algumas diferenças observadas entre o meio FaSSGF e o fluido estomacal em jejum, constata-se que este meio é muito mais similar do que o preconizado pelas farmacopeias. Sendo assim, este meio biorrelevante é uma alternativa ao meio HCl 0,1 M para a avaliação do perfil de dissolução.

6.2.2 Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido estomacal no estado alimentado com os meios de dissolução

A ingestão do alimento pode influenciar a mudança das propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais e, conseqüentemente, alterar os parâmetros farmacocinéticos dos fármacos, como C_{max} , ASC e t_{max} (KOZIOLEK *et al.*, 2013). Os meios farmacopeicos não simulam a ingestão de alimentos. Por isso, foi desenvolvido o meio biorrelevante FeSSGF para mimetização da condição pós-prandial (JANTRATID, *et al.*, 2008).

A Tabela 27 faz um comparativo entre as propriedades físico-químicas do fluido estomacal no estado alimentado com o meio biorrelevante FeSSGF no início, meio e fim. Estes meios biorrelevantes simulam as propriedades físico-químicas do estômago

após 75 min da refeição (início), 75 a 165 min (meio) e após 165 min (final) da ingestão da refeição (JANTRATID *et al.*, 2008).

Os dados do fluido estomacal no estado alimentado foram retirados da amplitude do estudo de Diakidou e colaboradores (2009), descrito no item 6.1. O meio FeSSGF, desenvolvido por Jantratid e colaboradores (2008) foi selecionado, já que este é um dos meios biorrelevantes mais utilizados.

Tabela 27: Comparativo das propriedades do fluido estomacal no estado alimentado com o meio de dissolução FeSSGF no início, meio e final (continuação).

Propriedade	Fluido estomacal pós-prandial ^a	FeSSGF início	FeSSGF meio	FeSSGF final
pH	4,90 - 5,47 (n=1)	6,40 ^b	5,00 ^b	3,00 ^b
Capacidade tamponante (mmol.L ⁻¹ . ΔpH ⁻¹)	22,50 - 30,00 (n=1)	21,33 ^b	25,00 ^b	25,00 ^b
Osmolalidade (mOsm.Kg ⁻¹)	475,00 - 515,00 (n=1)	559,00 ^b	400,00 ^b	300,00 ^b
Tensão superficial (mN.m ⁻¹)	-	49,70 ^c	52,30 ^c	58,10 ^c
Ácidos biliares totais (mM)	-	0,00	0,00	0,00
Proteínas totais (mg.mL ⁻¹)	11,10 - 24,60 (n=1)	-	-	-

Fonte: ^aDIAKIDOU *et al.*, 2009; ^bJANTRATID *et al.*, 2008; ^cKOZIOLEK *et al.*, 2013 (conclusão).

Pode-se observar que o meio biorrelevante FeSSGF início apresenta um pH mais alto do que o valor encontrado no fluido estomacal no estado alimentado. Enquanto o meio FeSSGF final exibe um pH menor do que o valor obtido no fluido estomacal pós-prandial. Durante a ingestão de alimentos, o pH do estômago é elevado devido ao efeito tamponante do alimento e pode alcançar valores de até 7, dependendo da composição da refeição. Com a contínua secreção de suco gástrico, o pH tende a diminuir para valores basais após algumas horas (DRESSMAN *et al.*, 1990; KALANTZI *et al.*, 2006). Já o meio FeSSGF meio apresenta valor de pH dentro da faixa verificada no fluido estomacal no estado alimentado.

A capacidade tamponante do meio FeSSGF meio e fim estão dentro da faixa encontrada no fluido estomacal no estado alimentado. No entanto, esta propriedade

físico-química está com um valor um pouco menor para o meio FeSSGF início em comparação com o fluido estomacal pós-prandial.

Todos os 3 meios de dissolução (FeSSGF início, meio e fim) estão com valores fora da faixa do intervalo de osmolalidade encontrado no fluido estomacal.

Não foi possível comparar os valores de tensão superficial, pois não foi encontrado estudo em que se analisasse a tensão superficial no fluido estomacal pós-prandial.

Em relação à concentração de ácidos biliares totais, não foi encontrado nenhum estudo que analisasse o fluido estomacal pós-prandial, apesar de estarem presentes no estômago, devido ao efeito de refluxo do duodeno (DAHAN, AMIDON, 2009b). Já nos meios biorrelevantes não são usados ácidos biliares na sua composição (JANTRATID *et al.*, 2008).

A concentração de proteínas totais também não foi possível ser comparada, pois nos estudos analisados não foi doseada a concentração de proteína total nos meios biorrelevantes, apesar de se utilizar leite na composição desses meios, um alimento constituído de proteínas. Observa-se também a ausência de pepsina na composição desses meios, uma enzima presente na composição do fluido gastrointestinal (DAHAN, AMIDON, 2009b).

Dentre os meios biorrelevantes citados, o meio FeSSGF meio é o mais utilizado para mimetizar a condição pós-prandial no estômago (JANTRATID *et al.*, 2008).

Pode-se concluir que apesar das diferenças físico-químicas entre o fluido estomacal e o meio biorrelevante FeSSGF, este último surge como alternativa para mimetizar as condições *in vivo*, pois, diferente dos meios farmacopeicos, ele tem por objetivo simular a presença do alimento no estômago. Além disso, observa-se que existem poucos estudos em que foram analisadas as propriedades físico-químicas do fluido gástrico alimentado, dificultando dessa forma a comparação dessas propriedades com as dos meios biorrelevantes.

6.2.3 Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido intestinal em jejum com os meios de dissolução

A maioria dos fármacos destinados à administração por via oral é absorvida no intestino delgado, principalmente no duodeno e na porção proximal do jejuno (BALIMANE, CHONG, MORRISON, 2000; DESESSO, JACOBSON, 2001).

A Tabela 28 apresenta um comparativo entre as propriedades físico-químicas do fluido duodenal em jejum, do fluido do jejuno em jejum, do meio biorrelevante FaSSIF e do meio farmacopeico tampão fosfato pH 6,8. Os dados dos fluidos intestinais em jejum foram retirados da amplitude das médias relatadas das propriedades analisadas no item 6.1. Já o meio tampão fosfato pH 6,8 da Farmacopeia Europeia 3ª edição foi escolhido, pois este foi o meio de dissolução que se encontrou artigos na literatura que analisasse suas propriedades físico-químicas. O meio FaSSIF, desenvolvido por Dressman e colaboradores (1998), foi selecionado, já que este foi o primeiro meio biorrelevante desenvolvido para simulação do fluido intestinal em jejum e também por ser um dos meios biorrelevantes mais utilizados.

Tabela 28: Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido duodenal em jejum, fluido do jejuno em jejum, meio de dissolução biorrelevante FaSSIF e do meio de dissolução farmacopeico tampão fosfato pH 6,8.

Propriedade	Fluido duodenal em jejum	Fluido do jejuno em jejum	FaSSIF ^a	Tampão fosfato pH 6,8
pH	6,49 - 7,37 (n= 11)	6,69 - 7,37 (n= 7)	6,80	6,80 ^{b,c}
Capacidade tamponante (mmol.L ⁻¹ . ΔpH ⁻¹)	3,61 - 12,05 (n=3)	1,85 - 6,30 (n= 3)	8,00 - 12,00	18,60 ^b
Osmolalidade (mOsm.Kg ⁻¹)	156,96 - 241,43 (n=9)	195,30 - 262,70 (n=5)	280,00 - 310,00	99,30 - 116,10 ^{b,c}
Tensão superficial (mN.m ⁻¹)	31,33 - 39,87 (n=3)	26,84 - 34,76 (n=2)	-	-
Ácidos biliares totais (mM)	1,92 - 6,31 (n=10)	1,58 - 3,40 (n= 4)	5,00	0,00
Proteínas totais (mg.mL ⁻¹)	2,30 (n= 1)	0,77 - 2,33 (n= 2)	0,00	0,00

Fonte: ^aDRESSMAN *et al.*, 1998; ^bSTIPPLER; KOPP; DRESSMAN, 2004; ^cDE SPIEGELER *et al.*, 2007.

Pode-se verificar que tanto o meio biorrelevante FaSSIF quanto o meio tampão fosfato pH 6,8 apresentam valores de pH dentro da faixa de pH relatada para o fluido duodenal em jejum e para fluido do jejuno em jejum.

A capacidade tamponante do meio de dissolução FaSSIF apresenta valores dentro do intervalo verificado na capacidade tamponante do fluido duodenal. Já o fluido do jejuno possui uma capacidade tamponante mais baixa que a do meio biorrelevante. Com relação ao meio farmacopeico, observa-se um valor de capacidade tamponante mais alto que os fluidos intestinais. Esse maior valor do tampão fosfato pH 6,80 pode acarretar uma diferença no perfil de dissolução em comparação aos fluidos intestinais, pois pode ocorrer uma maior resistência em se manter o pH no meio farmacopeico quando ocorrer a dissolução de fármacos ácidos e básicos (JANTRATID *et al.*, 2008).

Quanto à propriedade osmolalidade, verifica-se que os valores do meio FaSSIF estão mais altos que os dos fluidos intestinais. Diferentemente, o meio farmacopeico mostra valores de osmolalidade mais baixos que os dos fluidos intestinais. Essa discrepância entre os valores de osmolalidade pode ocasionar uma maior diferença osmótica entre o interior da formulação e o meio de dissolução e dessa forma ocasionar uma diferença na quantidade de penetração de água na formulação, ocasionando uma diferença no perfil de dissolução da formulação nesses meios (RUDOLPH *et al.*, 2001).

Não foi possível comparar os valores de tensão superficial, pois não foi encontrado estudo em que se analisasse a tensão superficial no meio FaSSIF, nem no meio farmacopeico.

Em relação à concentração de ácidos biliares, constata-se que no meio farmacopeico a ausência desses ácidos. No meio biorrelevante há a presença de taurocolato de sódio na concentração de 5,00 mM, valor próximo a concentração encontrada de ácidos biliares nos fluidos intestinais. Esses ácidos exercem papel fundamental na dissolução de fármacos pouco solúveis e com isso pode-se observar uma diferença entre o comportamento da dissolução *in vivo* e nos meios biorrelevantes em comparação aos meios farmacopeicos (LINDAHL *et al.*, 1997).

Finalmente, observa-se a ausência de proteínas nos meios FaSSIF e no meio tampão fosfato pH 6,8.

Dessa forma, ambos os meios diferem das propriedades observadas nos fluidos intestinais. No entanto, o meio biorrelevante ainda apresenta propriedades mais similares aos fluidos intestinais do que o meio farmacopeico.

6.2.4 Comparativo das propriedades físico-químicas do fluido intestinal no estado alimentado com os meios de dissolução

A tabela 29 faz um comparativo entre as propriedades físico-químicas do fluido duodenal no estado alimentado, do fluido do jejuno pós-prandial e do meio biorrelevante FeSSIF no início, meio e fim. Estes meios biorrelevantes simulam as propriedades físico-químicas do intestino delgado após diferentes fases da ingestão do alimento (JANTRATID *et al.*, 2008).

Os dados dos fluidos intestinais no estado alimentado foram retirados da amplitude das médias relatadas das propriedades analisadas no item 6.1. O meio FeSSIF, desenvolvido por Jantratid e colaboradores (2008), foi selecionado, já que este é um dos meios biorrelevantes mais utilizados nos testes de perfil de dissolução para mimetização do estado pós-prandial (ALMUKAINZI *et al.*, 2014).

Tabela 29: Comparativo das propriedades do fluido duodenal no estado alimentado, fluido do jejuno no estado alimentado, meio de dissolução FeSSIF no início, meio e final.

Propriedade	Fluido duodenal pós-prandial	Fluido do jejuno pós-prandial	FeSSIF início	FeSSIF meio	FeSSIF final
pH	5,85 - 6,22 (n=6)	6,10 (n=1) ^a	6,50 ^b	5,80 ^b	5,40 ^b
Capacidade tamponante (mmol.L ⁻¹ . ΔpH ⁻¹)	19,05 - 26,90 (n=2)	14,60 (n=1) ^a	25,00 ^b	25,00 ^b	15,00 ^b
Osmolalidade (mOsm.Kg ⁻¹)	332,09 - 528,17 (n=5)	-	390,00 - 410,00 ^b	380,00 - 400,00 ^b	230,00 - 250,00 ^b
Tensão superficial (mN.m ⁻¹)	26,91 - 35,50 (n=2)	27,00 (n=1) ^a	29,90 30,30 ^c	32,20 - 33,20 ^c	45,80 - 46,20 ^c
Ácidos biliares totais (mM)	5,14 - 11,32 (n=7)	8,00 (n=1) ^a	10,00 ^b	7,50 ^b	4,50 ^b
Proteínas totais (mg.mL ⁻¹)	-	5,00 (n=1) ^a	0 ^b	0 ^b	0 ^b

Fonte: ^aPERSSON *et al.*, 2005; ^bJANTRATID *et al.*, 2008; ^c JANTRATID, DRESSMAN, 2009.

Pode-se observar que todos meios biorrelevante FeSSIF (início, meio e final) apresentam valores de pH próximos aos valores encontrados do fluido duodenal e do fluido do jejuno no estado alimentado. Estes diferentes meios simulam o que ocorre *in vivo* no estado alimentado, onde o pH diminui lentamente após a ingestão de alimentos (FOTAKI, VERTZONI, 2010).

A capacidade tamponante do meio FeSSIF início e meio está dentro da faixa encontrada do fluido duodenal no estado pós-prandial. No entanto, esta propriedade físico-química está com um valor menor para o meio FeSSIF final em comparação ao fluido duodenal. Já em relação ao fluido do jejuno, verifica-se um valor menor de capacidade tamponante em relação aos meios biorrelevantes FeSSIF início e meio e valor próximo ao meio FeSSIF final. Essa alta capacidade tamponante observada nos meios FeSSIF procura mimetizar o que ocorre *in vivo*, já que a ingestão de alimentos pode causar um maior efeito tamponante em comparação ao estado em jejum (FOTAKI, VERTZONI, 2010).

O meio de dissolução FeSSIF fim mostra valor de osmolalidade menor do que o encontrado no fluido duodenal no estado alimentado. No entanto, os outros meios FeSSIF (início e meio) apresentam valores de osmolalidade dentro da faixa encontrada no fluido duodenal. No fluido do jejuno não foi possível realizar essa comparação com os meios biorrelevantes, pois não foi encontrado artigos na literatura que se analisassem essa propriedade.

O valor de tensão superficial dos meios biorrelevantes FeSSIF (início e meio) mostra valores próximo ao fluido duodenal no estado alimentado. Já o meio FeSSIF (final) apresenta valores acima do fluido duodenal. Já em comparação ao fluido do jejuno, todos os valores de tensão superficial dos meios biorrelevantes estão acima.

Em relação à concentração de ácidos biliares totais, observa-se que todos os valores dos meios biorrelevantes estão dentro ou próximos da faixa dos valores verificados no fluido duodenal pós-prandial. Já o fluido do jejuno apresenta valores mais próximos ao meio FeSSIF meio apenas. A concentração total de ácidos biliares é maior no meio FeSSIF em relação ao FaSSIF, devido à maior concentração de taurocolato de sódio adicionado ao meio FeSSIF. O intestino delgado no estado alimentado tende a elevar a solubilidade de fármacos pouco solúveis, devido a um aumento na concentração de ácidos biliares (FOTAKI, VERTZONI, 2010; LINDAHL *et al.*, 1997).

A concentração de proteínas totais não foi possível ser comparada, devido à ausência de proteínas nos meios biorrelevantes.

Assim sendo, pode-se concluir que apesar das diferenças físico-químicas entre o fluido duodenal e o meio biorrelevante FeSSIF, verifica-se que as propriedades físico-químicas desses meios são similares às encontradas no fluido duodenal. Para o fluido do jejuno torna-se difícil concluir o quanto similar é esse em relação aos meios biorrelevantes, pois foi encontrado apenas o artigo de Persson e colaboradores (2005) que analisava as propriedades físico-químicas nesta região do intestino delgado.

Portanto, é possível sugerir que o meio biorrelevante FeSSIF é um meio adequado para simular a dissolução que ocorre *in vivo* no duodeno.

6.3 Estudos de Correlação *in vitro-in vivo*

6.3.1 Fármacos de Classificação Biofarmacêutica II

Estes fármacos apresentam baixa solubilidade e alta permeabilidade. A dissolução *in vivo* é o fator limitante da absorção. Para isso, os fármacos de classe II necessitam que os perfis de dissolução sejam capazes de diferenciar as mudanças nas formulações. É esperado que os fármacos dessa classe sofram absorção variável devido aos fatores associados a formulação e as propriedades *in vivo* dos meios de dissolução. Com isso, os meios de dissolução devem refletir as condições encontradas *in vivo* nos fluidos gastrointestinais (AMIDON *et al.*,1995; BONAMICI, SERRA, 2009).

6.3.1.1 Estudo fármaco danazol

Em um estudo com o fármaco danazol cápsulas 100 mg do laboratório Sanofi Winthrop GmbH (Alemanha), utilizado para o tratamento da endometriose, comparou-se o perfil de dissolução de amostras comerciais do medicamento Danatrol® nos seguintes meios de dissolução: água, FeSSIF, FaSSIF e fluido intestinal simulado (FIS). Este fármaco é lipossolúvel, com uma solubilidade aquosa de 1 µg/mL e possui um coeficiente de partição (log P) de 4,53 (DRESSMAN, REPPAS, 2000). O perfil de dissolução nos quatro meios de dissolução testados pode ser verificado na Figura 4.

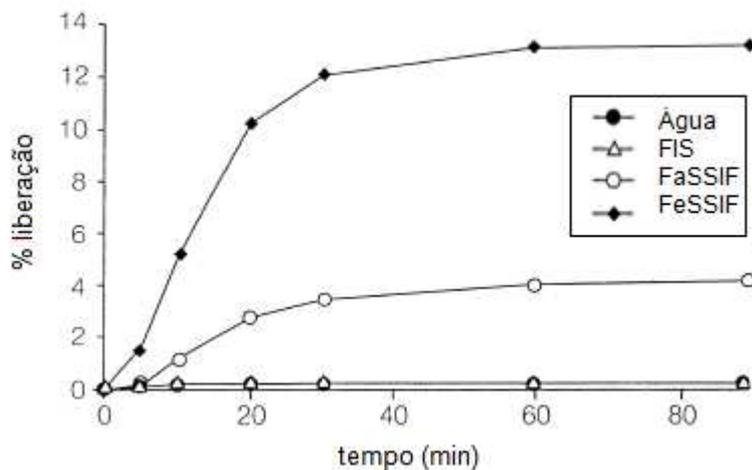


Figura 4: Perfil de dissolução de danazol cápsulas em vários meios de dissolução (Retirado de DRESSMAN, REPPAS, 2000).

Nos meios de dissolução FIS e água, em que não foram usados sais biliares, não houve liberação do fármaco. Nos meios FeSSIF e FaSSIF, que utilizaram sais biliares, a dissolução foi baixa, porém detectada. Também foi possível observar que a dissolução desse fármaco no meio FeSSIF foi maior que o FaSSIF, concluindo-se que há um aumento da dissolução desse fármaco quando na presença de uma maior concentração de sais biliares. (DRESSMAN, REPPAS, 2000, LINDAHL *et al.*, 1997).

Em um estudo *in vivo* comparou-se a C_{max} e a ASC do medicamento danazol, formulado em uma emulsão lipídica. A forma farmacêutica foi administrada em jejum e na presença do alimento (não descrito no estudo o tipo de alimentação). Neste estudo foi observado que quando o medicamento foi administrado com o alimento, a C_{max} e a ASC aumentaram três vezes quando comparadas ao estado em jejum, conforme verificado na Figura 5 (CHARMAN *et al.*, 1993; DRESSMAN, REPPAS, 2000).

No estado alimentado há uma maior concentração de sais biliares do que no estado em jejum. Este fato é fundamental para o aumento na dissolução de fármacos pouco solúveis (FOTAKI, VERTZONI, 2010). Portanto, o meio de dissolução FeSSIF pode ser uma alternativa para a avaliação do perfil de dissolução do fármaco danazol, já que os resultados *in vivo* foram consistentes com os observados *in vitro*.

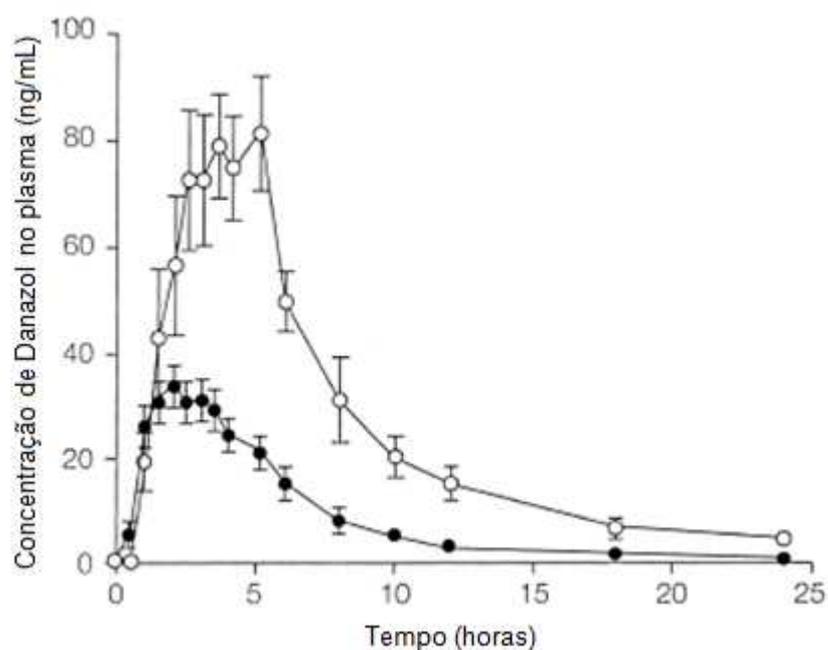


Figura 5: Perfil plasmático do fármaco danazol após a administração em jejum (●) e no estado alimentado (○) (Retirado de DRESSMAN, REPPAS, 2000).

6.3.1.2 Estudo fármaco cetoconazol

O fármaco cetoconazol tem uma baixa solubilidade em água e apresenta uma solubilidade dependente do pH. Este fármaco possui pKa de 2,9 e 6,5 e tem sua solubilidade aumentada em pH ácido (DRESSMAN, REPPAS, 2000).

Em um estudo *in vivo*, este fármaco foi administrado em voluntários sadios nas seguintes condições: (1) com uma solução ácida, (2) isolado, (3) duas horas depois da administração de 400 mg de cimetidina, (4) com bicarbonato de sódio e duas horas após a administração de 400 mg cimetidina. Sabe-se que a cimetidina é um fármaco bloqueador dos receptores H₂ de histamina das células parietais e dessa forma reduz a secreção gástrica. As concentrações plasmáticas foram determinadas em 1, 2, 4 e 6 horas e foi verificada uma maior concentração do fármaco quando o mesmo foi administrado com a solução ácida, conforme verificado na Figura 6 (DRESSMAN, REPPAS, 2000).

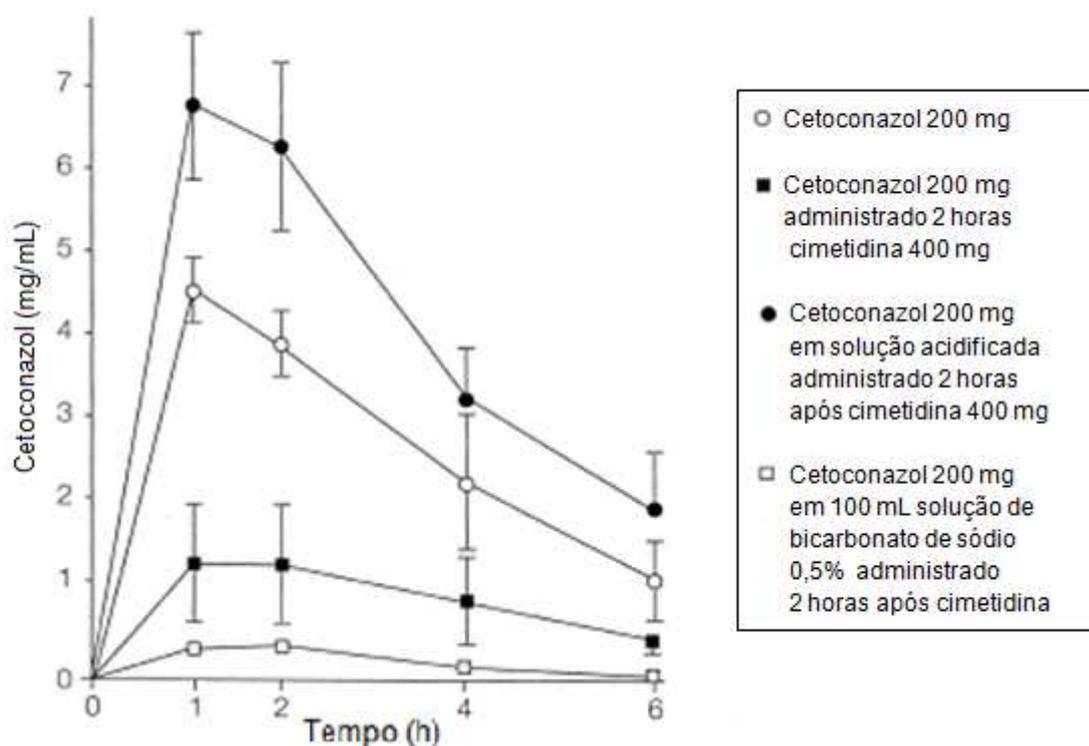


Figura 6: Concentração plasmática de cetoconazol após a administração em diferentes condições (Retirado de DRESSMAN, REPPAS, 2000).

Pela análise da Figura 6, constata-se que o cetoconazol é melhor absorvido quando o estômago está com o pH com valores ácidos do que com valores neutros (DRESSMAN, REPPAS, 2000).

Em outro estudo clínico com 8 voluntários sadios, foi comparada a administração de cetoconazol em jejum e após a alimentação (dieta composta de 24,50 g de gordura, 81,30 g de carboidratos, 18,20 g de proteínas, 603 Kcal) nas doses de 200, 400, 600 e 800 mg. A ASC foi aumentada quando o fármaco foi administrado com o alimento na dose de 400 e 600 mg de cetoconazol. Para as doses de 200 e 800 mg não foi observada diferença na ASC (DANESHMEND *et al.*, 1984). No estudo de Daneshmend e colaboradores (1984) não há explicação do porquê ocorre aumento na ASC apenas nas doses de 400 e 600 mg. Dessa forma, espera-se que o fármaco seja melhor dissolvido e conseqüentemente absorvido no estômago no estado alimentado nas doses de 400 e 600 mg. Nas doses de 200 e 800 mg o fármaco pode ser administrado tanto em jejum quanto no estado alimentado (DANESHMEND *et al.*, 1984).

A bula do medicamento Nizoral® preconiza que o fármaco seja administrado com uma bebida ácida (tal como refrigerante de cola não dietético) e junto as refeições, sendo administrados um ou dois comprimidos de 200 mg ao dia (NIZORAL, 2013).

Não foi encontrado nenhum estudo *in vitro* comparando o perfil de dissolução do cetoconazol em meio FaSSGF e FeSSGF que seriam os meios de dissolução mais adequados para avaliar a dissolução do fármaco, já que os estudos *in vivo*, bem como a bula do medicamento, preconizam uma melhor absorção em um pH ácido.

Um estudo *in vitro* comparou a dissolução do cetoconazol 200 mg em meio de dissolução FaSSIF, FeSSIF e Fluido Gástrico Simulado (FGS). Foi observada uma maior dissolução no meio FeSSIF em relação ao FaSSIF (Figura 7). Neste estudo é possível concluir que a presença do alimento aumenta a dissolução do fármaco, não corroborando com o resultado de Daneshmend para a dose de 200 mg (DRESSMAN, REPPAS, 2000; DANESHMEND *et al.*, 1984). Já o meio de dissolução FGS, por ter um pH mais ácido em relação aos meios FaSSIF e FeSSIF, apresentou uma maior taxa de dissolução para o fármaco (DRESSMAN, REPPAS, 2000).

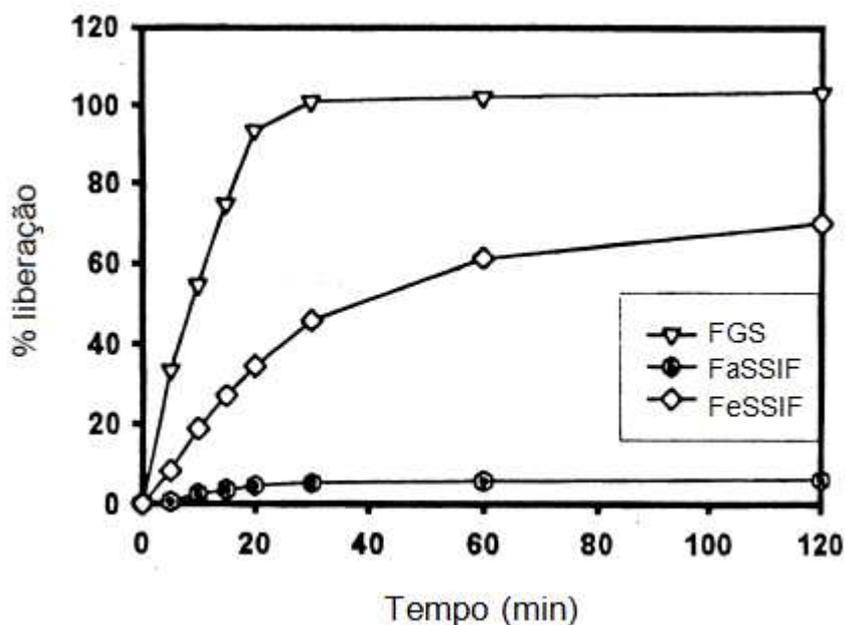


Figura 7: Perfil de dissolução de cetoconazol (Nizoral® 200 mg) em diferentes meios de dissolução (Retirado de DRESSMAN, REPPAS, 2000).

O meio de dissolução preconizado pela Farmacopeia Brasileira para o cetoconazol comprimidos é em HCl 0,1 M (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª ED,

2010). Esse meio de dissolução, apesar de adequado em termos de pH para o fármaco, não simula adequadamente as condições no estado alimentado. Assim sendo, o meio FeSSGF seria o meio de dissolução mais apropriado para simular as condições *in vivo* para o cetoconazol, pois simularia o pH ácido do estômago e mimetizaria a presença do alimento.

6.3.1.3 Estudo fármaco nifedipino

Em um estudo clínico com o fármaco nifedipino compararam-se os parâmetros farmacocinéticos ASC e C_{max} do medicamento ADALAT XL[®] 60 mg do laboratório farmacêutico Bayer Pharma. Este medicamento foi desenvolvido com um sistema de liberação por bomba osmótica. Neste estudo foi administrado o medicamento em jejum e após a refeição (café da manhã com alto teor de gordura). O período de *washout* foi de pelo menos uma semana. Neste mesmo estudo comparou-se os parâmetros farmacocinéticos ASC e C_{max} do medicamento ADALAT Eins[®] 30 mg, também do laboratório Bayer Pharma. Este medicamento foi desenvolvido com um sistema de liberação prolongada monolítico. Nesse estudo também foi administrado o medicamento em jejum e após a refeição (café da manhã com alto teor de gordura). O período de *washout* também foi de pelo menos uma semana. A tabela 30 apresenta os resultados farmacocinéticos desse estudo (SCHUG *et al.*, 2009).

Tabela 30: Informações farmacocinéticas do medicamento Adalat XL[®] e Adalat Eins[®]

Formulação	Estado Prandial	N° de voluntários	Parâmetros farmacocinéticos com respectivos desvios padrões		Razão alimentado jejum	
			ASC (ng.h.mL ⁻¹)	C_{max} (ng.mL ⁻¹)	ASC	C_{max}
ADALAT XL [®] 60 mg	Jejum	16	707,00 ± 1,70	31,00 ± 1,60	1,03	1,21
	Alimentado	18	730,00 ± 1,70	38,00 ± 1,60		
ADALAT Eins [®] 30 mg	Jejum	12	412,54 ± 1,58	39,20 ± 1,52	1,20	2,24
	Alimentado	12	493,17 ± 1,46	87,71 ± 1,64		

Fonte: Adaptado de SCHUG *et al.*, 2009.

A formulação do ADALAT XL[®] não mostrou efeito do alimento sobre a liberação do fármaco, resultando em uma razão alimento/jejum de 1,03 e 1,21 para os parâmetros ASC e C_{max}, respectivamente. Já a formulação do ADALAT Eins[®] apresentou o efeito do alimento sobre a liberação do fármaco, resultando em uma razão alimento/jejum de 1,20 e 2,24 para os parâmetros ASC e C_{max}, respectivamente (SCHUG *et al.*, 2009).

Em um estudo *in vitro* comparou-se o perfil de dissolução do medicamento ADALAT XL[®] nos seguintes meios de dissolução: 1) tampão fosfato/citrato pH 6,8 com dodecil sulfato de sódio 1% (meio farmacopeico USP), 2) FaSSGF, FaSSIF, FaSSCoF (meios biorrelevantes que simulam estômago, intestino delgado e intestino grosso em jejum, respectivamente), 3) FeSSGF, FeSSIF e FeSSCoF (meios biorrelevantes que simulam estômago, intestino delgado e intestino grosso no estado alimentado, respectivamente), utilizando aparatos III e IV da USP. O mesmo estudo *in vitro* foi realizado para o ADALAT Eins[®] (ANDREAS *et al.*, 2016).

Através dos estudos de correlação *in vitro-in vivo*, comparou-se a razão da C_{max} do estado alimentado/jejum do estudo *in vitro* com a relação alimento/jejum dos testes *in vivo*. Os resultados podem ser observados na tabela abaixo.

Tabela 31: Razão alimentado jejum para os estudos *in vivo* e *in vitro* dos medicamentos Adalat XL[®] e Adalat Eins[®]

Formulação	Razão alimentado jejum	Razão alimentado jejum
	Estudo <i>in vivo</i>	Estudo <i>in vitro</i>
	C _{max}	C _{max}
ADALAT XL [®] 60 mg	1,21	1,13
ADALAT Eins [®] 30 mg	2,24	2,67

Fonte: Adaptado de ANDREAS *et al.*, 2016; SCHUG *et al.*, 2009.

Portanto, foi possível diferenciar as formulações através do uso de meios biorrelevantes, bem como verificar o efeito do alimento sobre a liberação do fármaco. Também foi possível correlacionar os resultados *in vitro* com os estudos clínicos, pois a razão alimento jejum do estudo *in vivo* é similar ao *in vitro*. Já o perfil de dissolução do meio farmacopeico apresentou uma forte discrepância com os resultados dos meios biorrelevantes, devido a uma excessiva liberação do fármaco no meio farmacopeico, ocasionada pela presença do dodecil sulfato de sódio. Sabe-se que esse tensoativo pode aumentar excessivamente a dissolução de fármacos pouco

solúveis e dessa forma gerar uma falsa impressão de bioequivalência (ANDREAS, 2016).

6.3.1.4 Estudo fármaco glibenclamida

O fármaco glibenclamida é uma sulfonilureia de segunda geração utilizada para o tratamento da diabetes mellitus tipo II. Este fármaco apresenta solubilidade baixa, altamente dependente do pH e seu pK_a é de 5,3. Prévios estudos demonstram que a absorção desse fármaco é dependente da formulação (WEI, LOBENBERG, 2006).

Em um estudo *in vitro* foi realizado o perfil de dissolução de duas amostras comerciais de glibenclamida (medicamento referência e teste) nos seguintes meios: 1) fluido intestinal simulado (FIS), conforme USP 28; 2) FaSSIF LQ (baixo grau de pureza de lecitina e taurocolato de sódio); 3) FaSSIF HQ (alto grau de pureza de lecitina e taurocolato de sódio) e 4) FaSSIF BL (sem a presença de lecitina e taurocolato de sódio). A análise de permeabilidade foi realizada em células Caco-2 e a simulação computacional foi feita no sistema GastroPlus™ (WEI, LOBENBERG, 2006). Os resultados obtidos foram comparados com um estudo de bioequivalência realizado por Blume e Mutschler em 1989. A Tabela 32 mostra os resultados farmacocinéticos obtidos nas quatro condições testadas e no teste de bioequivalência.

Tabela 32: Comparação dos resultados farmacocinéticos C_{max} e ASC entre os dados simulados em diferentes meios de dissolução e para o teste de bioequivalência.

Condição testada	Referência		Teste	
	C_{max} (ng.mL ⁻¹)	ASC (ng.h.mL ⁻¹)	C_{max} (ng.mL ⁻¹)	ASC (ng.h.mL ⁻¹)
FIS	355,00	1100,00	190,00	1240,00
FaSSIF LQ	318,00	1170,00	230,00	1452,10
FaSSIF HQ	384,00	1010,00	202,00	1270,00
FaSSIF BL	385,00	1180,00	189,00	1230,00
Estudo de bioequivalência	301,00	1359,60	221,00	1441,30

Fonte: Adaptado de WEI, LOBENBERG, 2006.

O meio de dissolução FaSSIF LQ mostrou a melhor CIVIV. A ASC para o medicamento referência nas condições simuladas foi de 1170 ng.hmL⁻¹ e para o medicamento teste foi de 1452,1 ng.hmL⁻¹. A ASC no estudo de bioequivalência para o medicamento referência foi de 1359,6 ng.hmL⁻¹ e para o medicamento teste foi de

1441,3 ng.hmL⁻¹. O C_{max} para o medicamento referência nas condições simuladas foi de 318 ngmL⁻¹ e para o medicamento teste foi de 230 ngmL⁻¹. O C_{max} no estudo de bioequivalência para o medicamento referência foi de 301 ngmL⁻¹ e para o medicamento teste foi de 221 ngmL⁻¹, demonstrando uma correlação linear de 0,94 para o medicamento referência e 0,93 para o medicamento teste (WEI, LOBENBERG 2006).

Nesse estudo foi possível observar que o meio biorrelevante FaSSIF LQ apresentou a melhor correlação *in vitro-in vivo* de todos os meios de dissolução testados, apresentando dessa forma, uma alternativa de meio de dissolução para predição de biodisponibilidade (WEI, LOBENBERG, 2006).

6.3.2 Fármacos de Classificação Biofarmacêutica III

Estes fármacos apresentam alta solubilidade e baixa permeabilidade. Nesta classe biofarmacêutica a permeabilidade é o fator limitante da absorção. Tanto a velocidade como a extensão da absorção podem ser altamente variáveis para esse tipo de fármacos (AMIDON *et al.*, 1995).

6.3.2.1 Estudo fármaco pantoprazol

Em um estudo *in vitro* com o fármaco pantoprazol, utilizado no tratamento de distúrbios de acidez gástrica, comparou-se o perfil de dissolução do medicamento referência Pantoc[®], fabricado pela indústria Altana Pharma Ltda., com o medicamento teste, produzido pelo laboratório Medley S/A Indústria Farmacêutica. Para esse estudo foi empregado o aparato USP 2, velocidade de rotação de 50 RPM (pá), volume de 900 mL, utilizando os meios biorrelevantes FaSSIF (pH = 6,5) e FeSSIF (pH = 6,0). Devido ao comprimido teste e referência serem gastroresistentes, ambos foram previamente avaliados em meio simulado gástrico sem pepsina (pH = 1,8) por 60 minutos, conforme USP 31 (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

As Figuras 8 e 9 apresentam o perfil de dissolução das formulações teste e referência nos meios biorrelevantes FaSSIF e FeSSIF, respectivamente (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

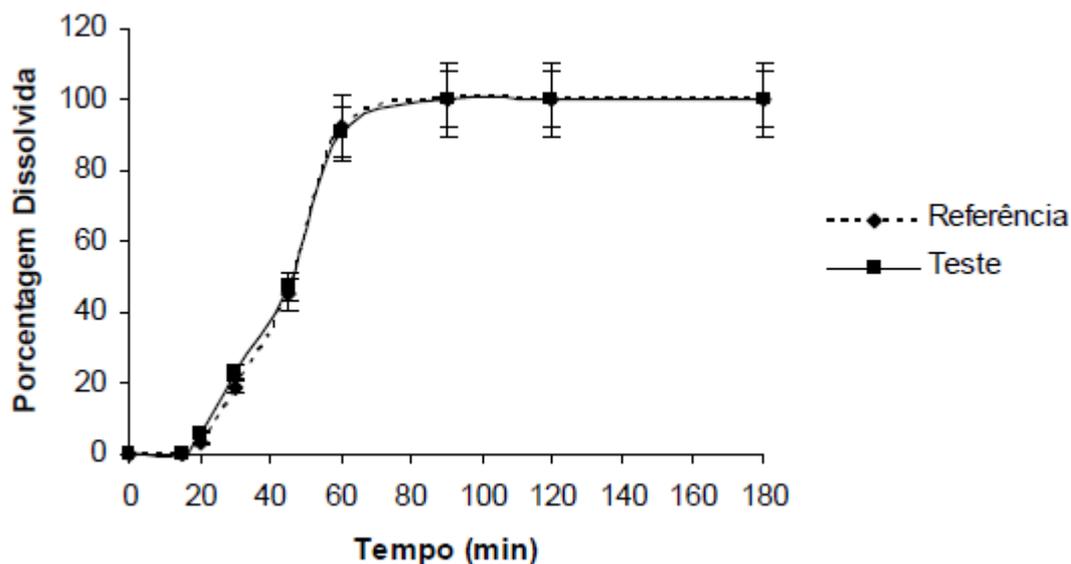


Figura 8: Perfil de dissolução do medicamento Pantoprazol referênciada e teste, empregando o aparato 2 USP no meio de dissolução FaSSIF (Retirado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

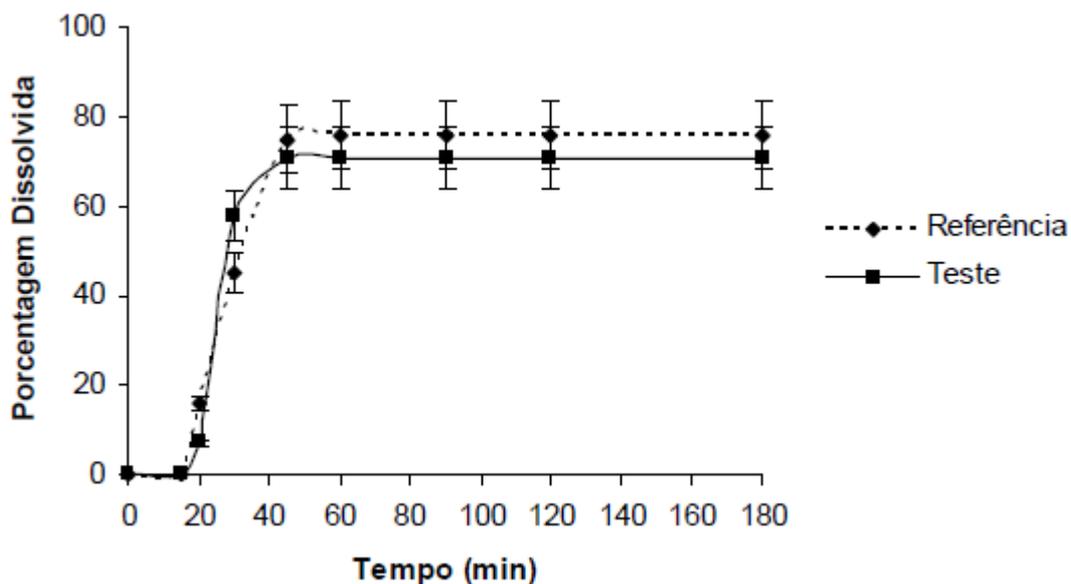


Figura 9: Perfil de dissolução do medicamento Pantoprazol Referênciada e teste, empregando o aparato 2 USP no meio de dissolução FeSSIF (Retirado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Na Figura 8, o F2 calculado foi de 78,87, sendo assim, as formulações foram consideradas com perfis de dissolução equivalentes. Ambas as formulações

apresentam porcentagem de dissolução acima de 85% em 60 minutos (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Já na Figura 9, o F2 calculado foi de 58,25, sendo as formulações também consideradas com perfis de dissolução semelhantes. A porcentagem máxima de dissolução no meio FeSSIF foi de 70% (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Neste mesmo trabalho, foi realizado um estudo de bioequivalência do medicamento pantoprazol fabricado pelo laboratório Medley em relação ao medicamento Pantoc®. Na condição jejum foram utilizados 28 voluntários sadios e no estado pós-prandial (dieta hipercalórica, com 904,30 Kcal), 62 voluntários sadios (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

As Figuras 10 e 11 apresentam o comportamento cinético do fármaco pantoprazol após administração em dose única da formulação teste e referência nas condições em jejum e alimentado, respectivamente (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

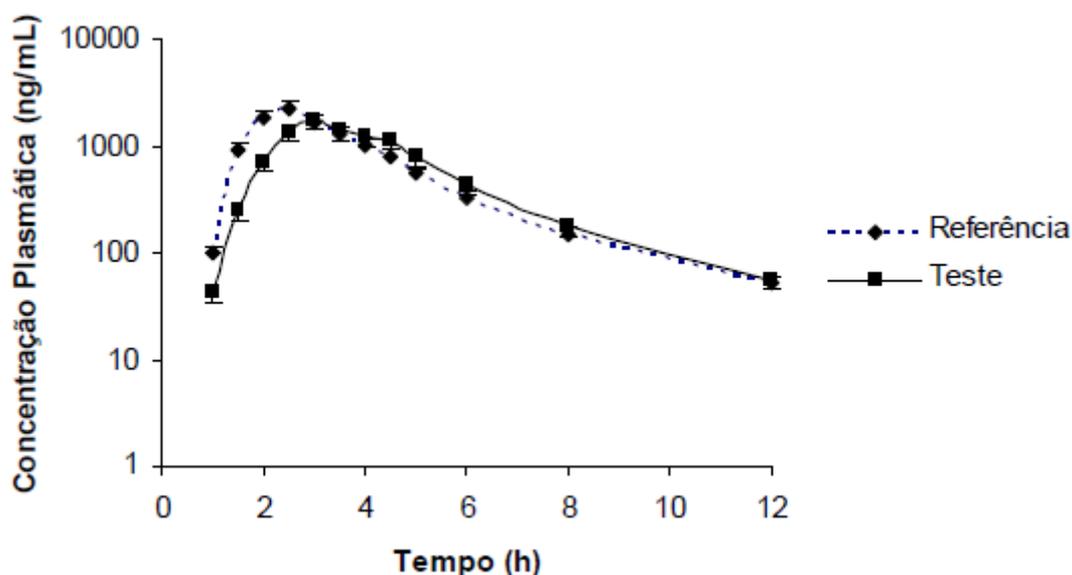


Figura 10: Concentração plasmática versus tempo das formulações do medicamento pantoprazol referência e teste na condição jejum (Retirado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

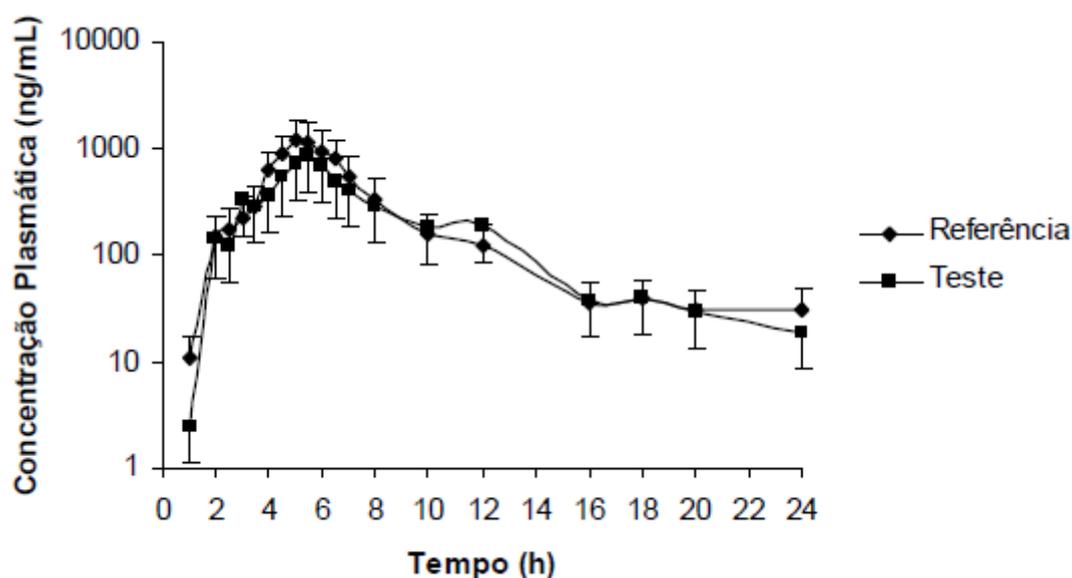


Figura 11: Concentração plasmática versus tempo das formulações do medicamento pantoprazol referência e teste na condição alimentado (Retirado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

As Tabelas 33 e 34 apresentam a média geométrica e os intervalos de confiança (IC 90%) para os parâmetros ASC_{0-t} e C_{max} do medicamento teste em relação ao referência nas condições em jejum e pós-prandial, respectivamente (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Tabela 33: Análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos médios do medicamento teste em relação ao referência após administração de pantoprazol em jejum.

Parâmetros	Teste/Referência		
	Média Geométrica	IC 90%	CV intra (%)
$\ln ASC_{0-t} (ng \cdot h \cdot mL^{-1})$	94,31	0,89-0,99	11,23
$\ln C_{max} (ng \cdot mL^{-1})$	98,76	0,94-1,03	10,16

Fonte: Adaptado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008.

Tabela 34: Análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos médios do medicamento teste em relação ao referência após administração de pantoprazol no estado alimentado.

Parâmetros	Teste/Referência		
	Média Geométrica	IC 90%	CV intra (%)
$\ln ASC_{0-t}$ (ng.h.mL ⁻¹)	78,96	0,68-0,90	48,67
$\ln C_{max}$ (ng.mL ⁻¹)	62,85	0,51-0,76	72,92

Fonte: Adaptado de CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008.

De acordo com a RE N° 1.170 de 2006, dois medicamentos serão considerados bioequivalentes se os valores extremos do intervalo de confiança de 90% da razão das médias geométricas (ASC_{0-t} teste/ ASC_{0-t} referência e C_{max} teste/ C_{max} referência) forem maiores que 0,8 e menores que 1,25 (BRASIL, 2006).

Pelos resultados da Tabela 33, os valores de IC 90% apresentam-se dentro da faixa de 0,8 -1,25 para os parâmetros ASC e C_{max} , portanto as formulações podem ser consideradas bioequivalentes no estudo em jejum (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Já os resultados de IC 90% apresentados na Tabela 34, mostram valores fora da faixa de 0,8 – 1,25 para os parâmetros ASC e C_{max} . Sendo assim, as formulações não foram consideradas bioequivalentes no estudo pós-prandial (CAMPOS, PEDRAZZOLI JÚNIOR, 2008).

Pelo valor de F2 de 78,87 calculado para as formulações analisadas no meio de dissolução FaSSIF, evidencia-se um bom indicativo para a bioequivalência das formulações, o qual pode ser confirmado no teste *in vivo*, já que as formulações também foram consideradas bioequivalentes. Assim sendo, o meio FaSSIF apresenta-se como um meio adequado para mimetizar os fluidos gastrointestinais para o fármaco pantoprazol.

O meio de dissolução FeSSIF, apesar de aprovado no teste de perfil de dissolução, apresentou um valor de F2 de 58,25, muito menor que o valor calculado para o meio de dissolução FaSSIF. Além disso, não houve a completa dissolução desse fármaco nesse meio de dissolução. No estudo *in vivo*, foi evidenciado um alto coeficiente de variação para os parâmetros ASC e C_{max} , conforme apresentado na tabela 34. Dessa forma, o meio FeSSIF não é um meio adequado para avaliação *in vitro* para o fármaco pantoprazol e nem o estudo *in vivo* pós-prandial é indicado, devido à alta variabilidade do fármaco nessas condições.

7 CONCLUSÃO

Concluiu-se, após busca na literatura por artigos que analisassem as propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais, que há um número reduzido de artigos que estudam algumas propriedades em humanos. Observou-se ainda um número menor de estudos que pesquisaram estas propriedades no estado alimentado. Além disso, foi verificado que a maior parte dos estudos foi realizada com um número pequeno de voluntários. Apesar da limitação dos estudos, este trabalho colaborou para verificar qual o intervalo das propriedades físico-químicas nos fluidos gastrointestinais, o que será de suma importância para o desenvolvimento de meios biorrelevantes mais preditivos de biodisponibilidade.

Sendo assim, existe a necessidade da realização de mais trabalhos que investiguem essas propriedades nos fluidos gastrointestinais, tanto no estado em jejum quanto no estado alimentado. Além do que, esses estudos devem ser conduzidos com um maior número de voluntários, devido à alta variabilidade existente nos fluidos gastrointestinais. Estes trabalhos serão de suma importância para o desenvolvimento de meios biorrelevantes com propriedades físico-químicas mais similares em relação às propriedades *in vivo*.

Com relação à comparação realizada entre as propriedades físico-químicas dos fluidos gastrointestinais com os meios farmacopeicos, observou-se uma grande diferença nas propriedades físico-químicas, principalmente para a tensão superficial e a concentração de ácidos biliares. Essas propriedades são fundamentais na dissolução, principalmente de fármacos pouco solúveis. Esse fato pode levar a uma diferença no comportamento da dissolução de fármacos entre esses dois meios, acarretando assim a uma falsa ideia de bioequivalência ao se analisar o perfil de dissolução em um meio farmacopeico.

Além disso, foram encontrados poucos estudos na literatura que analisassem essas propriedades físico-químicas nos meios farmacopeicos. Devido à facilidade de realizar essas análises, sugere-se que sejam feitos mais estudos que investiguem essas propriedades nesses meios de dissolução.

Já a análise comparativa entre as propriedades físico-químicas dos meios biorrelevantes com os fluidos gastrointestinais demonstra uma maior semelhança dessas propriedades do que a comparação feita com os meios farmacopeicos. No

entanto, foram observadas diferenças significativas nessas propriedades, principalmente em relação à concentração de proteínas, a qual é maior nos fluidos gastrointestinais.

Por último, a análise dos ensaios de perfil de dissolução *in vitro*, utilizando meios biorrelevantes, em comparação com os resultados obtidos *in vivo*, demonstra que os meios biorrelevantes apresentam resultados similares aos observados *in vivo*. No entanto, foram encontrados poucos artigos na literatura que faziam essa comparação. Além disso, os estudos de bioequivalência encontrados utilizam poucos voluntários em sua análise. Os estudos de bioequivalência mais robustos estão de posse da indústria farmacêutica e não são publicados. Dessa forma, é necessário um maior número de estudos que se compare o perfil de dissolução nos meios biorrelevantes com os resultados dos estudos de bioequivalência. Com isso, se terá uma maior certeza da predição de biodisponibilidade dos meios biorrelevantes em relação aos meios farmacopeicos

Sendo assim, os meios biorrelevantes podem ser úteis para a análise de perfil de dissolução no desenvolvimento de medicamentos genéricos, similares, novos e nas alterações pós-registro, no entanto é necessário um maior número de estudos e com um maior número de voluntários para a verificação da efetividade desses meios na predição da biodisponibilidade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABEELE, J.V.D.; RUBBENS, J.; BROUWERS, J.; AUGUSTIJNS, P. The dynamic gastric environment and its impact on drug and formulation behaviour. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 96, p. 207-231, 2017.

ABUZARUR-ALOUL, R.; GJELLAN, K.; SJOULUND, M.; LOFQVIST, M.; GRAFFNER, C. Critical dissolution test of oral systems based on statistically designed experiments. I. Screening of critical fluids and *in vitro/in vivo* modeling of extended release coated spheres. **Drug Development and Industry Pharmacy**. v. 23, p. 749-760, 1997.

ALMUKAINZI, M.; BOU-CHACRA, N. A.; WALKER, R. B.; LOBENBERG, R. Biorelevant dissolution testing. **Therapeutic Delivery Solutions**, 1^a ed. cap. 12, p. 335-365, 2014.

AMIDON, G. L.; LENNERNÅS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharmaceutical Research**. v. 12, p. 413-420, 1995.

ANDREAS, C. J.; TOMASZEWSKA, I.; MUENSTER, U.; MEY, D.; MUECK, W.; DRESSMAN, J.B. Can dosage form-dependent food effects be predicted using biorelevant dissolution tests? Case example extended release nifedipine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 105, p. 193-202, 2016.

ANNAERT, P.; BROUWERS, J.; BIJNENS, A.; LAMMERT, F.; TACK, J.; AUGUSTIJNS, P. *Ex vivo* permeability experiments in excised rat intestinal tissue and *in vitro* solubility measurements in aspirated human intestinal fluids support age-dependent oral drug absorption. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 39, p. 15-22, 2010.

ARMAND, P.; BOREL, P.; PASQUIER, B.; DUBOIS, C.; SENFT, M.; ANDRE, M.; PEYROT, J.; SALDUCCI, J.; LAIRON, D. Physicochemical characteristics of emulsions during fat digestion in human stomach and duodenum. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**. v. 271, p. 172-183, 1996.

ASHFORD, M. Biodisponibilidade: fatores físico-químicos relacionados à forma farmacêutica. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. cap. 17, p. 245-263, 2005a.

ASHFORD, M. O trato gastrointestinal – fisiologia e absorção de fármacos. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. cap. 16, p. 230-244, 2005b.

ASHFORD, M. Fenômenos interfaciais e de superfície. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. cap. 5, p. 74-83, 2005bc.

AUGUSTIJNS, P.; WUYTS, B.; HENS, B.; ANNAERT, P.; BUTLER, J.; BROUWERS, J. A review of drug solubility in human intestinal fluids: Implications for the prediction of oral absorption. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 57, p. 322-332, 2014.

AVDEEF, A. Absorption and drug development: solubility, permeability and charge state. **Wiley Interscience**. 287 p., 2005.

BALIMANE, P.V.; CHONG, S.; MORRISON, R.A. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**. v. 44, p. 301-312, 2000.

BAXEVANIS, F.; KUIPER, J.; FOTAKI, N. Fed-state gastric media and drug analysis techniques: Current status and points to consider. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 107, p. 234-248, 2016.

BENET, L.Z.; BROCCATELI, F.; OPREA, T.I. BDDCS applied to over 900 drugs. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v. 13, p. 519-547, 2011.

BERGSTROM, C.A.; HOLM, R.; JORGENSEN, S.A.; ANDERSSON, S.B.; ARTURSSON, P.; BEATO, S.; BORDE, A.; BOX, K.; BREWSTER, M.; DRESSMAN, J.; FENG, K.I.; HALBERT, G.; KOSTEWICZ, E.; MCALLISTER, M.; MUENSTER, U.; THINNES, J.; TAYLOR, R.; MULLERTZ, A. Early pharmaceutical profiling to predict oral drug absorption current status and unmet needs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 57, p. 173 – 199, 2014.

BHAGAT, N.B.; YADAV, A.V.; MALI, S.S.; KHUTALE, R.A.; HAJARE, A.A.; SALUNKHE, S.S.; NADAF, S.J. A Review on development of biorelevant dissolution medium. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**. v. 4, p. 140-148, 2014.

BONAMICI, B.; SERRA, C. H. R. Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisencões. **Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RE nº 482 de 19 de março de 2002. Determina a publicação do Guia para estudos de correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 mar. 2002. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 20 de nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RE nº 1.1170 de 19 de abril de 2006. Determina a publicação do Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 abr. 2006. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 20 de jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 37 de 06 de julho de 2009. Trata da admissibilidade das Farmacopeias estrangeiras. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 jul. 2009. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 06 de mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 ago. 2010. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 06 de mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 37 de 03 de agosto de 2011. Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 ago. 2011. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 06 de mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 73, de 07 de abril de 2016. Dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 abr. 2016a. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 06 de mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa – IN N° 10, de 29 de setembro de 2016. Determina a publicação da Lista de fármacos candidatos à bioisenção baseada no sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República**

Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 set. 2016b. Disponível em: <http://www.portal.anvisa.gov.br/legislacao/>Acesso em: 06 de mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 166 de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 jul. 2017. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legislacao/#/>Acesso em: 30 de set. 2017.

BROUWERS, J.; TACK, J.; LAMMERT, F.; AUGUSTIJS, P. Intraluminal drug and formulation behavior and integration in *in vitro* permeability estimation: a case study with amprenavir. **Journal of Pharmaceutics Sciences**. v. 95, p. 372-383, 2006.

CAMPOS, D.R.; PEDRAZZOLI JÚNIOR, J. Avaliação *in vitro* – *in vivo* de duas formulações de pantoprazol: estudos farmacocinéticos e perfis de dissolução em meios biorrelevantes. **Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**, 2008.

CHARMAN, W.N.; ROGGE, M.C.; BODDY, A.W.; BARR, W.H.; BERGER, B.M. Absorption of danazol after administration to different sites of the gastrointestinal tract and the relationship to single and double peak phenomena in the plasma profiles. **Journal of clinical pharmacology**. v. 33, p. 1207-1213, 1993.

CHIANN, C. Correlação linear e regressão linear simples. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda. cap. 27, p. 272-282, 2009.

CLARYSSE, S.; TACK, J.; LAMMERT, F.; DUCHATEAU, G.; REPPAS, C.; AUGUSTIJS, P. Postprandial evolution in composition characteristics of human duodenal fluids in different nutritional states. **Pharmacokinetics, pharmacodynamics and drug metabolism**. v. 98, p. 1177-1192, 2009.

DAHAN, A.; WEST, B.T.; AMIDON, G.L. Segmental-dependent membrane permeability along the intestine following oral drug administration: evaluation of a triple single-pass intestinal perfusion (TSP/IP) approach in the rat. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 36, p. 320-329, 2009a.

DAHAN, A.S.; AMIDON, G.L. Gastrointestinal dissolution and absorption of Class II Drugs. In: van de Waterbemd, H.; Testa, B.; editors. **Drug Bioavailability**,

Estimation of solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability, 2. Wiley-VCH, Weinheim. p. 33-51, 2009b.

DANESHMEND, T.K.; WARNOCK, D.W.; ENE, M.D.; JOHNSON, E.M.; PARKER, G. Influence of food on the pharmacokinetics of ketoconazole. **Journal Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 25, p. 1-3, 1984.

DE SPIEGELER, B.; BAERT, B.; VANGHELUWE, E.; BECUE, I.; SMET, J.D.; SPANOGHE, P.; WILLE, C.; MEEREN, P.V.; SLEGERS, G. Comparison of the wetting properties of three commonly used simulated intestinal fluids used as dissolution media in the characterization of drugs. **Journal of Solution Chemistry**. v. 36, p. 835-843, 2007.

DESESSO, J. M.; JACOBSON, C.F. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. **Food and Chemical Toxicology**. v. 39, p. 209-228, 2001.

DIAKIDOU, A.; VERTZONI, M.; GOUMAS, K.; SODERLIND, E.; ABRAHAMSSON, B.; DRESSMAN, J.; REPPAS, C. Characterization of the contents of ascending colon to which drugs are exposed after oral administration to healthy adults. **Pharmaceutical Research**. v. 26, p. 2141-2151, 2009.

DRESSMAN, J.B. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. **Pharmaceutical Research**. v. 3, p. 123-131, 1988.

DRESSMAN, J.B.; BERARDI, R.R.; DERMENTZOGLOU, L.C.; RUSSELL, T.L.; SCHMALTZ, S.P.; BARNETT, J.L.; JARVENPAA, K.M. Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. **Pharmaceutical Research**. v. 7, p. 756-761, 1990.

DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; REPPAS, C.; SHAH, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharmaceutical Research**. v. 15, p. 11-22, 1998.

DRESSMAN, J.B.; REPPAS, C. *In vitro-in vivo* correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.2, p. 73-80, 2000.

DRESSMAN, J.B.; VERTZONI, M.; GOUMAS, K.; REPPAS, C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 59, p. 591-602, 2007.

EFENTAKIS, M.; DRESSMAN, J.B. Gastric juice as a dissolution medium: surface tension and pH. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**. v. 23, p. 97-102, 1998.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), guideline on the investigation of bioequivalence**, 2010. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf>. Acesso em 20 outubro de 2017.

EVANS, D.F.; PYE, G.; BRAMLEY, R.; CLARK, A.G.; DYSON, T.J.; HARDCASTLE, J.D. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. **Gut**. v. 29, p. 1035-1041, 1988.

FADDA, H.M.; SOUSA, T.; CARLSSON, A.S.; ABRAHAMSSON, B.; WILLIAMS, J.G.; KUMAR, D.; BASIT, A.W. Drug solubility in luminal fluids from different regions of the small and large intestine humans. **Molecular Pharmaceutics**. v. 07, p. 1527-1532, 2010.

Farmacopeia Brasileira. 5ªed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 12 mai. 2017.

FELL, J. Fenômenos interfaciais e de superfície. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. cap. 05, p. 74-83, 2005.

FOLTZ, E.; AZAD, S.; EVERETT, M.L.; HOLZNECHT, Z.E.; SANDERS, N.L.; THOMPSON, J.W.; DUBOIS, L.G.; PARKER, W.; KESHAVJEE, S.; PALMER, S.M.; DAVIS, R.D.; LIN, S.S. An assessment of human gastric fluid composition as a function of PPI usage. **Physiological Reports**. v. 3, p. 01 – 13, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Draft guidance for industry, waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system**, 2015. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070246.pdf>. Acesso em 20 de outubro de 2017.

FOTAKI, N.; VERTZONI, M. Biorelevant dissolution methods and their applications in *in vitro-in vivo* correlations for oral formulations. **The Open Drug Delivery Journal**. v. 4, p. 02 – 13, 2010.

FUCHS, A.; DRESSMAN, J. B. Composition and physicochemical properties of fasted-state human duodenal and jejuna fluid: a critical evaluation of the available data. **Journal Pharmaceutical Sciences**. v. 103, p. 3398 – 3411, 2014.

GARBACZ, G.; KLEIN, S. Dissolution testing of oral modified-release dosage forms. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 64, p. 944-968, 2012.

GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics**. 3. ed. Philadelphia: Lea &Febiger, 330 p, 1984.

GISOLFI, C.V.; SUMMERS, R.W.; LAMBERT, G.P.; XIA, T. Effect of beverage osmolality on intestinal fluid absorption during exercise. **Journal of Applied Physiology**. v.85, p. 1941-1948, 1998.

GRASS, G.M. Simulation models to predict oral drug absorption from *in vitro* data. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.23, p. 199-219, 1997.

GRIGNARD, E.; TAYLOR, R.; MCALLISTER, M.; BOX, K.; FOTAKI, N. Considerations for the development of *in vitro* dissolution tests to reduce or replace preclinical oral absorption studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 99, p. 193-201, 2016.

HOLMSTOCK, N.; DE BRUYN, T.; BEVERNAGE, J.; ANNAERT, P.; MOLS, R.; TACK, J.; AUGUSTIJNS, P. Exploring food effects on indinavir absorption with human intestinal fluids in the mouse intestine. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 49, p. 27-32, 2013.

HORTER, D.; DRESSMAN, J.B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 46, p. 75-87, 2001.

JANTRATID, E.; JANSSEN, N.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J.B. Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Pharmaceutical Research**. v. 25, p. 1663 – 1676, 2008.

JANTRATID, E.; DRESSMAN, J.B. Biorelevant dissolution media simulating the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Dissolution Technology**. v. 16, p. 21-25, 2009.

JONES, H. M.; PARROTT, N.; OHLENBUSCH, G.; LAVÉ, T. Predicting pharmacokinetic food effects using biorrelevant solubility media and physiologically based modeling. **Clinical Pharmacokinetic**. v. 45, p. 1213 – 1226, 2006.

KALANTZI, L.; GOUMAS, K.; KALIORAS, V.; ABRAHAMSSON, B.; DRESSMAN, J.B.; REPPAS, C. Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. **Pharmaceutical Research**. v. 23, p. 165 – 176, 2006a.

KALANTZI, L.; PERSSON, E.; POLENTARUTTI, B.; ABRAHAMSSON, B.; GOUMAS, K.; DRESSMAN, J.B.; REPPAS, C. Canine intestinal contents vs. simulated media for the assessment solubility of txo weak bases in the human small intestinal contents. **Pharmaceutical Research**. v. 23, p. 1373 – 1381, 2006b.

KLEIN, S. The use of biorelevant dissolution media to forecast the in vivo performance of a drug. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v. 12, p. 397-406, 2010.

KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.; HAHN, E.G. Duodenal alkaline secretions: its mechanisms and role in mucosal protection against gastric acid. **Digestive and liver disease**. v. 36, p. 505-512, 2004.

KOZIOLEK, M.; GARBACZ, G.; NEUMANN, M.; WEITSCHIES, Simulating the postprandial stomach: biorelevant test methods for the estimation of intragastric drug dissolution. **Molecular Pharmaceutics**. v. 10, p. 2211 – 2221, 2013.

KOZIOLEK, M.; GRIMM, M.; SCHNEIDER, F.; PHILIPP, J.; SAGER, M.; KUHN, J.P.; SIEGMUND, W.; WEITSCHIES, W. Navigating the human gastrointestinal tract for oral drug delivery: uncharted waters and new frontiers. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 101, p. 75 – 88, 2016.

LENNERNÅS, H.; ABRAHAMSSON, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 57, p. 273-285, 2005.

LINDAHL, A.; UGELL, A.; KNUTSON, L.; LENNERNÅS, H. Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. **Pharmaceutical Research**. v. 14, p. 497-502, 1997.

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. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.58, p. 265-278,2004.

LITOU, C.; VERTZONI, M.; GOUMAS, C.; VASDEKIS, V.; XU, W.; KESISOGLOU, F.; REPPAS, C. Characteristics of the human upper gastrointestinal contents in the fasted state under hypo- and A-chlorhydric gastric conditions under conditions of typical drug – drug interaction studies. **Pharmaceutical Research**. v. 33, p. 1399-1412, 2016.

LU, P.; HSU, P.; CHEN, C.; HSIAO, M.; CHANG, W.; TSENG, H.; LIN, K.; CHUAH, S.; CHEN, H. Gastric juice acidity in upper gastrointestinal diseases. **World Journal of Gastroenterology**. v.16, p. 5496-5501,2010.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, p. 375-399, 2002.

MASAOKA, Y.; TANAKA, Y.; KATAOKA, M.; SAKUMA, S.; YAMASHITA, S. Site of drug absorption after oral administration: assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 29, p. 240 – 250, 2006.

MORENO, M.P.C.; OTH, M.; DEFERME, S.; LAMMERT, F.; TACK, J.; DRESSMAN, J.; AUGUSTIJNS, P. Characterization of fasted-state human intestinal fluids collected from duodenum and jejunum. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 58, p. 1079 – 1089, 2006.

MUDIE, D.M.; AMIDON, G.L; AMIDON, G.E. Physiological parameters for oral delivery and *in vitro* testing. **Molecular Pharmacology**. v. 7, p. 1388-1405, 2010.

MURTHY, K. S.; GHEBRE-SELLASSIE, I. Current perspectives on the dissolution stability of solid oral dosage forms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 82, p. 113-126, 1993.

NIZORAL: cetoconazol 200 mg. Responsável técnico: Marcos R. Pereira. São Paulo: Laboratório Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda, 2013. Bula de remédio.

PEDERSEN, B.L; MULLERTZ, A; BRONDSTED, H.; KRISTENSEN, H.G. A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids. **Pharmaceutical Research**. v. 17, p. 891-894, 2000.

PEDERSEN, P.B.; VILMANN, P.; BAR-SHALOM, D.; MULLERTZ, A.; BALDURSDOTTIR, S. Characterization of fasted human gastric fluid for relevant rheological parameters and gastric lipase activities. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical**. v. 85, p. 958-965, 2013.

PERSSON, E.M.; GUSTAFSSON, A.; CARLSSON, A.S.; NILSSON, R.G.; KNUTSON, L.; FORSELL, P.; HANISCH, G.; LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B. The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs in human and in model small intestinal fluids. **Pharmaceutical Research**. v. 22, p. 2141-2151, 2005.

PERSSON, E.M.; NILSSON, R.G.; HANSSON, G.I.; LOFGREN, L.J.; LIBACK, F.; KNUTSON, L.; LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B.; LENNERNÄS, H. A clinical single-pass perfusion investigation of the dynamic *in vivo* secretory response to a dietary meal in human proximal small intestine. **Pharmaceutical Research**. v. 23, p. 742-751, 2006.

RABIE, S.C.; FLANAGAN, T.; MARTIN, P.D.; BASIT, A.W. Inter-subject variability in intestinal drug solubility. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 485, p. 229-234, 2015.

RIETHORST, D.; MOLS, R.; DUCHATEAU, G.; TACK, J.; BROUWERS, J.; AUGUSTIJNS, P. Characterization of human duodenal fluids in fasted and fed state conditions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 105, p. 673-681, 2016.

RUDOLPH, M.W.; KLEIN, S.; BECKERT, T.E.; PETEREIT, H.U.; DRESSMAN, J.B. A new 5-aminosalicylic acid multi-unit dosage form for the therapy of ulcerative colitis. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical**. v. 51, p. 183-190, 2001.

SAVARINO, V.; MELA, G.S.; SCALABRINI, P.; SUMBERAZ, A.; FERA, G.; CELLE, G. 24-hour study of intragastric acidity in duodenal ulcer patients and normal subjects using continuous intraluminal pH-metry. **Digestive Diseases and Sciences**. v. 33, p. 1077-1080, 1988.

SCHOTT, H.; KWAN, L.C.; FELDMAN, S. The role of surfactants in the release of very slightly soluble drugs from tablets. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 71, p. 1038-1045, 1982.

SCHUG, B.S.; BRENDEL, E.; WONNEMANN, M.; WOLF, D.; WARGENAU, M.; DINGLER, A.; BLUME, H. H. Dosage form-related food interaction observed in a marketed oncedaily nifedipine formulation after a high-fat American breakfast. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v. 58, p. 119-125, 2002.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C.; PONG, S.W. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. 5. ed. New York. Appleton & Macgraw-Hill, 892p, 2005.

SHENG, J.J.; MCNANARA, D.P.; AMIDON, G.L. Toward an *in vivo* dissolution methodology: A comparison of phosphate and Bicarbonate Buffers. **Molecular Pharmaceutics**. v.6, p. 29-39, 2009.

SJOGREN, E.; ABRAHAMSSON, B.; AUGUSTIJINS, P.; BECKER, D.; BOLGER, M.B.; BREWSTER, M.; BROUWERS, J.; FLANAGAN, T.; HARWOOD, M.; HEINEN, C.; HOLM, R.; JURETSCHKE, H.P.; KUBBINGA, M.; LINDAHL, A.; LUKACOVA, V.; MUNSTER, U.; NEUHOFF, S.; NGUYEN, M.A.; PEER, A.; REPPAS, C.; HODJEAN, A.R.; TANNERGREN, C.; WEITSCHIES, W.; WILSON, C.; ZANE, P.; LENNERNAS, H.; LANGGUTH, P. *In vivo* methods for drug absorption – comparative physiologies, model selection, correlations with *in vitro* (IVIVC), and applications for formulation/API/ excipient characterization including food effects. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 57, p. 99-151, 2014.

SOUZA, J.; BENT, L.Z.; HUANG, Y.; STORPIRTIS, S. Comparison of biodirectional lamivudine and zidovudine transport using MDCK, MDCK-MDR1, and Caco-2 cell monolayers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 98, p. 4413-4419, 2009.

STIPLER, E.; KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Comparison of US pharmacopeia simulated intestinal fluid TS (without pancreatin) and phosphate standard buffer pH 6,8, TS of the international pharmacopeia with respect to their use *in vitro* dissolution testing. **Dissolution Technologies**. v. 11, p. 06-10, 2004.

VERTZONI, M.; DRESSMAN, J. B.; BUTLER, J.; HEMPENSTALL, J.; REPPAS, C. Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the *in vivo* dissolution of lipophilic compounds. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 60, p. 413-417, 2005.

VERTZONI, M.; DIAKIDOU, A.; CHATZILIAS, M.; SODERLIND, E.; ABRAHAMSSON, B.; DRESSMAN, J. B.; REPPAS, C. Biorelevant media to simulate fluids in the ascending colon of humans and their usefulness in predicting intracolonic drug solubility. **Pharmaceutical Research**. v. 27, p. 2187-2196, 2010.

VERTZONI, M.; MARKOPOULOS, C.; SYMILLIDES, M.; GOUMAS, C.; IMANIDIS, G.; REPPAS, C. Luminal lipid phases after administration of a triglyceride solution of danazol in the fed state and their contribution to the flux of danazol across caco-2 cell monolayers. **Molecular Pharmaceutics**. v. 09, p. 1189-1198, 2012.

VOLPE, D.A. Application of method suitability of drug permeability classification. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. V.12, p. 670-678,2010.

YU, L. X.; AMIDON, G.L.; POLLI, J.E.; ZHAO, H.; MEHTA, M.U.; CONNER, D.P.; SHAH, V.P.; LESKO, L.J.; CHEN, M.L.; LEE, V.H.L.; HUSSAIN, A.S. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. **Pharmaceutical Research**. v. 19, p. 921-925, 2002.

WANG, Q.; FOTAKI, N.; MAOS, Y. Biorelevant dissolution: methodology and application in drug development. **Dissolution Technologies**. v. 16, p. 06-12, 2009.

WEI, H.; LOBENBERG, R. Biorelevant dissolution media as a predictive tool for glyburide a class II drug. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 29, p. 45-52, 2006.

WIDMAIER, E.P.; RALF, H.; STRANG, K.T. **Vander's Human Physiology: the mechanisms of body function**. 10. McGraw-Hill; New York. The Digestion and Absorption of food. p. 575-614, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO technical report series, N° 992 annex 7. **Multisource (Generic) pharmaceutical products: guidelines registration requirements to establish interchangeability**, 2015. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21898en/s21898en.pdf>>. Acesso em 19 de outubro de 2017.

WUYTS, B.; BROUWERS, J.; MOLS, R.; TACK, J.; ANNAERT, P.; AUGUSTIJNS, P. Solubility profiling of HIV protease inhibitors in human intestinal fluids. **Journal of Pharmaceutics Sciences**. v. 102, p. 3800-3807, 2013.

WUYTS, B.; RIETHORST, D.; BROUWERS, J.; TACK, J.; ANNAERT, P.; AUGUSTIJNS, P. Evaluation of fasted and fed state simulated and human intestinal fluids as solvent system in the Ussing chambers model to explore food effects on intestinal permeability. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 478, p. 736-744, 2015.