

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Lilian de Figueiredo Venâncio

**ESTUDOS DA VIABILIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE UM PADRÃO DE
REFERÊNCIA: COMPRIMIDO DE PREDNISONA PARA QUALIFICAÇÃO
DA PERFORMANCE DO DISSOLUTOR**

Rio de Janeiro
2013

Lilian de Figueiredo Venâncio

**ESTUDOS DA VIABILIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE UM PADRÃO DE
REFERÊNCIA: COMPRIMIDO DE PREDNISONA PARA QUALIFICAÇÃO
DA PERFORMANCE DO DISSOLUTOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Orientadora: Dra. Kátia Christina Leandro

Colaboradora: Ma. Solange M. C. Brandão

Rio de Janeiro
2013

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Venâncio, Lilian de Figueiredo

Estudos da viabilidade de desenvolvimento de um padrão de referência: comprimido de prednisona para qualificação da performance do dissolutor./ Lilian de Figueiredo Venâncio. – Rio de Janeiro: INCQS/ FIOCRUZ, 2013.

124 f.: il., tab.

Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2013.

Orientadora: Dra. Kátia Christina Leandro

1. Material de Referência Certificado. 2. Dissolução. 3. Prednisona.

Feasibility study development of a standard reference: tablet of prednisone for qualification the performance of dissolutor.

Lilian de Figueiredo Venâncio

**ESTUDOS DA VIABILIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE UM PADRÃO DE
REFERÊNCIA: COMPRIMIDO DE PREDNISONA PARA QUALIFICAÇÃO
DA PERFORMANCE DO DISSOLUTOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Silvia Maria Lopes Bricio (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Marcelo Dominguez de Almeida (Doutor)
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

Kátia Christina Leandro (Doutora) - Orientadora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por tudo.

Aos meus pais Lindalva e Gilberto, pela vida e apoio.

Ao meu marido Wellington, pela paciência e compreensão.

A minha amiga Solange, pelo auxílio e por todos os conhecimentos transmitidos.

A minha amiga Sinéa, pela cooperação para finalização deste trabalho.

A minha orientadora Kátia Christina Leandro, pelo apoio na execução deste trabalho.

A minha amiga Rosângela, pela colaboração na determinação dos espectros de infravermelho.

Ao meu colega André Mazzei por disponibilizar o forno para realização do estudo de estabilidade.

Ao grupo de Medicamentos e aos meus amigos do Departamento de Química do INCQS, pela força.

Ao Laboratório Farmacêutico da Marinha pela produção dos comprimidos de prednisona, em especial ao Comandante Paulo e a Tenente Vanessa.

Ao Marcus La Paz pelo fornecimento dos frascos para armazenar os comprimidos de prednisona.

Ao Lacen Amapá, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais e Pará que contribuíram com resultados para caracterização do material.

A todos os colegas pelo companheirismo.

Meus agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

“Faça o que for necessário para ser feliz.
Mas não se esqueça que a felicidade é um
Sentimento simples, você pode encontrá-la
E deixá-la ir embora por não perceber sua
simplicidade”. (Mário Quintana)

RESUMO

Como muitas decisões importantes são baseadas em resultados de análises químicas quantitativas, os laboratórios de ensaio, com a finalidade de demonstrar que são tecnicamente competentes e capazes de produzir resultados válidos, utilizam os materiais de referência (MR) que são uma das principais ferramentas para a garantia e o controle da qualidade. O desenvolvimento de um material de referência certificado (MRC) envolve estudo de viabilidade para produzir o material; estudo de homogeneidade do material nos recipientes; estudo da estabilidade do material preparado; certificação dos valores atribuídos às propriedades de interesse do material preparado. Nesta última etapa o MR passa a ser denominado MRC. Uma das grandes dificuldades dos laboratórios analíticos brasileiros é a pouca disponibilidade desses MRCs no mercado nacional e os preços elevados destes materiais importados. A Farmacopeia Americana comercializa desde 1980 o comprimido de referência para calibração do dissolutor, pois o teste de qualificação de desempenho do equipamento interfere na qualidade dos resultados do ensaio e está diretamente relacionado à manutenção da rastreabilidade das medições. No Brasil não existe nenhum material de referência certificado de prednisona para qualificação do dissolutor. A importância deste trabalho está no estabelecimento de comprimidos de prednisona referência, que possibilitará suprir a rede de laboratórios oficiais, diminuir custos e proporcionar agilidade na aquisição deste material. Neste trabalho as orientações dos ISO Guias de 30 a 35 foram utilizadas para o estabelecimento do MRC comprimidos de prednisona. O resultado da incerteza do estudo de homogeneidade foi u_{homog} igual a 1,98% mg/mg. A contribuição da incerteza referente ao estudo de estabilidade de curta duração, condições de transporte, foi $u_{\text{est curta}}$ igual a 2,03% mg/mg. No estudo de estabilidade de longa duração, condições de armazenamento, o resultado da incerteza foi $u_{\text{est longa}}$ igual a 1,86% mg/mg. Na caracterização foi obtido $u_{\text{carac cesta}}$ 3,48% mg/mg e $u_{\text{carac pá}}$ 3,38% mg/mg. Por conseguinte como resultado, foi produzido e certificado um lote de comprimido de prednisona com a faixa de 56 - 76% mg/mg para o aparato cesta, e 38 - 57% mg/mg para o aparato pá.

Palavras-chave: Material de Referência Certificado. Dissolução. Prednisona.

ABSTRACT

How many important decisions are based on results of quantitative chemical analysis, testing laboratories, in order to demonstrate that they are technically competent and able to produce valid results, use reference materials (RM) are one of the main tools for assurance and quality control. The development of a certified reference material (CRM) involves feasibility study to produce the material; study of homogeneity of the material in the containers; study the stability of the prepared material, certification of values assigned to the properties of interest of the prepared material. In this last stage, the RM is now called CRM. One of the major difficulties of analytical laboratories in Brazil is the limited availability of these CRMs in the domestic market and high prices of these imported materials. The U.S. Pharmacopeia markets since 1980 tablet reference calibration dissolver because the qualification test equipment performance interferes with the quality of the test results and is directly related to the maintenance of traceability of measurements. In Brazil there is no certified reference material of prednisone for qualification dissolutor. The importance of this work is the establishment of prednisone tablets of reference, which will enable the supply network of official laboratories, reduce costs and provide agility in the acquisition of this material. In this work the guidelines of ISO Guides 30 to 35 were used to establish the MRC prednisone tablets. The result of the uncertainty of homogeneity of the study was u_{homog} equal to 1.98% mg/mg. The uncertainty contribution for the study of short-term stability, transport conditions, was walking $u_{\text{stability short}}$ equal to 2.03% mg/mg. In the study of long term stability, storage conditions, the result of uncertainty long $u_{\text{stability long}}$ was equal to 1.86% mg/mg. In characterization was obtained $u_{\text{charac basket}}$ 3.48% mg/mg and 3.38% mg/mg $u_{\text{charac paddle}}$. Therefore as a result certificate was produced and a lot of prednisone tablet with the range of 56 - 76% mg/mg for the basket apparatus and 38 - 57% mg/mg for the paddle apparatus.

Keywords: Certified Reference Material. Dissolution. Prednisone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma para certificação e monitoramento de substâncias químicas de referência da farmacopeia brasileira	18
Figura 2 - Homogeneidade: planejamento 1	24
Figura 3 - Dissolutor Hanson SR8 Plus.....	37
Figura 4 - Cesto e haste para cesto (aparato 1).....	38
Figura 5 - pá (aparato 2)	38
Quadro 1 - critério de aceitação para o teste de dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata	41
Figura 6 - Fórmula estrutural da prednisona	44
Figura 7 - Fórmula estrutural da prednisolona.....	44
Figura 8 - Esquema da produção dos comprimidos de prednisona 10 mg utilizados no estudo.....	54
Figura 9 - Frascos com comprimidos de prednisona 10 mg utilizados no estudo	55
Figura 10 - Gráfico do perfil de dissolução dos produtos estudados.....	67
Figura 11 - Gráfico do perfil de dissolução das formulações em relação ao MR da USP	69
Figura 12 - Gráfico da curva padrão de prednisona para o estudo de homogeneidade	72
Figura 13 - Gráfico das médias dos resultados dos frascos no estudo de homogeneidade.....	73
Figura 14 - Gráfico da curva padrão de prednisona para o estudo da estabilidade ..	77
Figura 15 - Gráfico das médias dos resultados do teor de prednisona dos frascos aleatórios no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C	78
Figura 16 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C.....	80
Figura 17 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de curta duração a 40°C.....	83
Figura 18 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de longa duração	87
Figura 19 - Gráfico de Z-score dos laboratórios participantes do interlaboratorial do ensaio de dissolução dos comprimidos de prednisona aparato 1 (cesta)	89

Figura 20 - Gráfico de Z-score dos laboratórios participantes do interlaboratorial do ensaio de dissolução dos comprimidos de prednisona aparato 2 (pá).....	90
Figura 21 - Gráfico da curva padrão de prednisona para a caracterização pelo método espectrofotométrico	92
Figura 22 - Gráfico da curva padrão de prednisona para a caracterização pelo método cromatográfico.....	93
Quadro 2 - Modelo do certificado para os comprimidos de prednisona 10 mg	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações utilizadas no estudo e produzidas pelo LFM.....	53
Tabela 2 - Resultados percentuais do princípio ativo liberado no perfil de dissolução dos produtos estudados	67
Tabela 3 - Resultados do perfil de dissolução das formulações em comparação com o MR da USP	69
Tabela 4 - Resultados da avaliação físico-química da formulação 2.....	70
Tabela 5 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de homogeneidade	72
Tabela 6 - Resultados da ANOVA na homogeneidade da prednisona.....	73
Tabela 7 - Resultados do estudo da homogeneidade da prednisona	75
Tabela 8 - Resultados da avaliação pela norma ISO 13528	76
Tabela 9 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C.....	78
Tabela 10 - Regressão linear para a verificação da estabilidade de curta duração da prednisona a 50°C.....	79
Tabela 11 - Resultado do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona.....	81
Tabela 12 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de curta duração a 40°C.....	81
Tabela 13 - Regressão linear para a verificação da estabilidade de curta duração da prednisona a 40°C.....	82
Tabela 14 - Resultado do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona.....	84
Tabela 15 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de longa duração	85
Tabela 16 - Dados da regressão linear da estabilidade de longa duração dos comprimidos de prednisona	86
Tabela 17 - Resultados enviados pelos participantes da comparação interlaboratorial do ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg e avaliação estatística dos dados do aparato 1 (cesta)	89
Tabela 18 - Resultados enviados pelos participantes da comparação interlaboratorial do ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg e avaliação estatística dos dados do aparato 2 (pá).....	90

Tabela 19 - Tratamento estatístico dos dados enviados pelos laboratórios para atribuição da incerteza inerente a caracterização	91
Tabela 20 - Resultados do método espectrofotométrico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato cesta	93
Tabela 21 - Resultados do método cromatográfico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato cesta	94
Tabela 22 - Resultados do método espectrofotométrico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato pá.....	94
Tabela 23 - Resultados do método cromatográfico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato pá.....	95
Tabela 24 - Resultados das incertezas dos comprimidos de prednisona 10 mg do aparato cesta e pá.....	96

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CV	Coeficiente de Variação
DQ	Departamento de Química
EP	Ensaio de Proficiência
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IEC	<i>International Electrotechnical Commission</i>
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LFM	Laboratório Farmacêutico da Marinha
MR	Material de Referência
MRC	Material de Referência Certificado
NBR	Norma Brasileira
OMS	Organização Mundial de Saúde
P. A	Para Análise
RPM	Rotação Por Minuto
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SQR-FB	Substância Química de Referência da Farmacopeia Brasileira
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 VIGILÂNCIA SANITÁRIA	15
1.2 O INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE – INCQS NO CONTEXTO DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA.....	16
1.3 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA DA FARMACOPEIA BRASILEIRA - SQR-FB NO INCQS	17
1.4 SISTEMA DA QUALIDADE EM LABORATÓRIO DE ENSAIOS	19
1.5 MATERIAIS DE REFERÊNCIA	20
1.5.1 Estudo de viabilidade	22
1.5.2 Estudo de homogeneidade de materiais de referência	23
1.5.3 Estudo de estabilidade de materiais de referência.....	26
1.5.4 Estudo de caracterização de materiais de referência.....	29
1.6 ENSAIOS FÍSICOS E QUÍMICOS EMPREGADOS NO ESTUDO DE VIABILIDADE	32
1.7 DISSOLUÇÃO DE MEDICAMENTOS.....	34
1.7.1 Ensaio de dissolução - histórico	34
1.7.2 Aparatos de dissolução	37
1.7.3 Meio de dissolução.....	39
1.7.4 Tempo de dissolução	39
1.7.5 Considerações para dissolução	40
1.7.6 Formas farmacêuticas de liberação imediata	40
1.7.7 Calibração do dissolutor.....	41
1.7.7.1 <i>Calibração física</i>	42
1.7.7.2 <i>Teste de qualificação de desempenho</i>	43
1.8 PREDNISONA.....	43
1.8.1 Descrição da matéria prima.....	45
1.8.2 Descrição do comprimido	45
1.8.3 Características dos excipientes do comprimido de prednisona.....	46
1.9 JUSTIFICATIVA	48
2 OBJETIVO.....	51
2.1 OBJETIVO GERAL	51
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
3 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.1 MATERIAL	52
3.1.1 Substância química de referência da farmacopeia brasileira (SQR-FB)	52
3.1.2 Comprimido referência de prednisona	52
3.1.3 Amostras comerciais	52
3.1.4 Preparação do material de referência - amostras formuladas de comprimidos de prednisona.....	53
3.2 FASE1: PLANEJAMENTO DE UM PROJETO DE CERTIFICAÇÃO - ESTUDO DE VIABILIDADE	55
3.2.1 Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona 20 mg	55
3.2.2 Determinação do perfil de dissolução das formulações dos comprimidos de prednisona 10 mg.....	56
3.2.3 Teste de identificação.....	57
3.2.4 Determinação de peso	57
3.2.5 Teste de friabilidade	58
3.2.6 Teste de desintegração.....	58

3.2.7 Ensaio de teor	59
3.2.8 Ensaio de uniformidade de conteúdo	59
3.2.9 Ensaio de dissolução.....	60
3.2.10 Caracterização dos excipientes.....	60
3.3 FASE 2: DESENVOLVIMENTO - ESTUDOS PARA O ESTABELECIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA	61
3.3.1 Estudo de homogeneidade.....	61
3.3.2 Estudo de estabilidade	62
3.4 FASE 3 :CERTIFICAÇÃO – CARACTERIZAÇÃO DO MR.....	64
3.4.1 Estudo interlaboratorial para caracterização dos comprimidos de prednisona.....	64
3.4.2 Caracterização dos comprimidos de prednisona por dois métodos de referência independentes.....	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.1 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DOS COMPRIMIDOS DE PREDNISONA 20 mg.....	67
4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE COMPRIMIDOS DE PREDNISONA 10 mg.....	68
4.2.1 Caracterização dos excipientes da formulação 2	70
4.3 FASE 2: DESENVOLVIMENTO - ESTUDOS PARA O ESTABELECIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA	71
4.3.1 Estudo de homogeneidade.....	71
4.3.2 Estudo de estabilidade	77
4.4 FASE 3 :CERTIFICAÇÃO - CARACTERIZAÇÃO DO MR	88
4.4.1 Estudo interlaboratorial para caracterização dos comprimidos de prednisona.....	88
4.4.2 Caracterização dos comprimidos de prednisona por dois métodos de referência independentes.....	92
4.4.3 Certificação	95
5 CONCLUSÃO.....	98
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	100
REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICE A - Espectro de infravermelho do SQR-FB e formulação da prednisona	109
APÊNDICE B - Espectro de infravermelho do padrão fosfato de cálcio dibásico e da MP de fosfato de cálcio dibásico	110
APÊNDICE C - Espectro de infravermelho do padrão celulose microcristalina e da MP de celulose microcristalina	111
APÊNDICE D - Espectro de infravermelho do padrão amido glicolato de sódio e da MP de amido glicolato de sódio.....	112
APÊNDICE E - Espectro de infravermelho do padrão ácido esteárico e da MP de ácido esteárico	113
APÊNDICE F - Espectro de infravermelho do padrão talco e da MP de talco	114
APÊNDICE G - Espectro de infravermelho do padrão estearato de magnésio e da MP de estearato de magnésio.....	115
APÊNDICE H - Cromatograma da prednisona na homogeneidade	116
APÊNDICE I - Cromatograma da prednisona na estabilidade	117
APÊNDICE J - Cromatograma da prednisona na caracterização por espectrofotometria.....	118
APÊNDICE L - Cromatograma da prednisona na caracterização por cromatografia líquida de alta eficiência	119
APÊNDICE M - Protocolo técnico aparato 1 (cesta)	120

APÊNDICE M - Protocolo técnico aparato 2 (pá).....	121
APÊNDICE N – Teste de Cochran e Grubbs	122

1 INTRODUÇÃO

1.1 VIGILÂNCIA SANITÁRIA

A Vigilância Sanitária é uma forma complexa de existência da Saúde Pública, pois atua sobre fatores de risco associados a produtos, insumos e serviços relacionados com a saúde. Os saberes e práticas da Vigilância Sanitária se situam num campo de convergência de várias disciplinas e áreas do conhecimento humano (ROZENFELD, 2000).

Esta complexidade é explícita na definição do Ministério da Saúde Brasileiro, até 1988, como “um conjunto de medidas que visa elaborar, controlar a aplicação e fiscalizar o cumprimento de normas e padrões de interesse sanitário relativo a portos, aeroportos e fronteiras, medicamentos, cosméticos, alimentos, saneantes e bens, respeitada a legislação pertinente, bem como o exercício profissional relacionado com a saúde” (COSTA, 2004).

Com a criação da Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990 (BRASIL, 1990), chamada Lei Orgânica da Saúde, ocorreu a organização do Sistema Único de Saúde e estabeleceu uma definição mais pontual para Vigilância Sanitária como “um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir, ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde” (COSTA, 2004).

Posteriormente, a Anvisa, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, teve sua criação estabelecida pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999 (BRASIL, 1999) e é definida como agência reguladora, que apresenta como finalidade promover a proteção da saúde da população por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à Vigilância Sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos e fronteiras (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011a).

1.2 O INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE – INCQS NO CONTEXTO DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA

O INCQS é uma unidade da Fundação Oswaldo Cruz que atua em áreas de ensino, de pesquisa e de tecnologias de laboratório relativas ao controle da qualidade de insumos, produtos, ambientes e serviços sujeito à ação da Vigilância Sanitária. Atua em estreita cooperação com a Anvisa, com Secretarias estaduais e municipais de Saúde, entre outros parceiros (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2011a).

Apresenta a missão de contribuir para a promoção e recuperação da saúde e prevenção de doenças, atuando como referência nacional para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à Vigilância Sanitária (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2011a).

As atividades executadas envolvem ações analítico-laboratoriais previstas na legislação sanitária ou por demanda de órgãos oficiais; como desenvolver, adequar ou implantar metodologias analíticas aplicadas à verificação da qualidade de produtos de saúde; emitir pareceres sobre questões técnico-científicas relacionadas à Vigilância Sanitária; elaborar normas técnicas e procedimentos operacionais padronizados relacionados ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços; inspecionar e avaliar indústrias e laboratórios em conjunto com a Anvisa, Vigilâncias Sanitárias Estaduais/ Municipais e Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro; estabelecer e distribuir substâncias químicas e biológicas de referência; promover e participar de comparações interlaboratoriais incluindo os ensaios de proficiência (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2011b).

1.3 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA DA FARMACOPEIA BRASILEIRA - SQR-FB NO INCQS

O INCQS, a Anvisa e a Farmacopeia Brasileira desenvolvem um programa de estabelecimento de Substância Química de Referência da Farmacopeia Brasileira (SQR-FB), com a colaboração de algumas universidades federais e indústrias farmacêuticas. Devido ao grande número de procedimentos analíticos, descritos nas diversas monografias oficiais, o uso destas substâncias possibilita a identificação, caracterização e/ou atribuição de valores de propriedades e assegura, assim, a qualidade de matérias primas e de produtos farmacêuticos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011c).

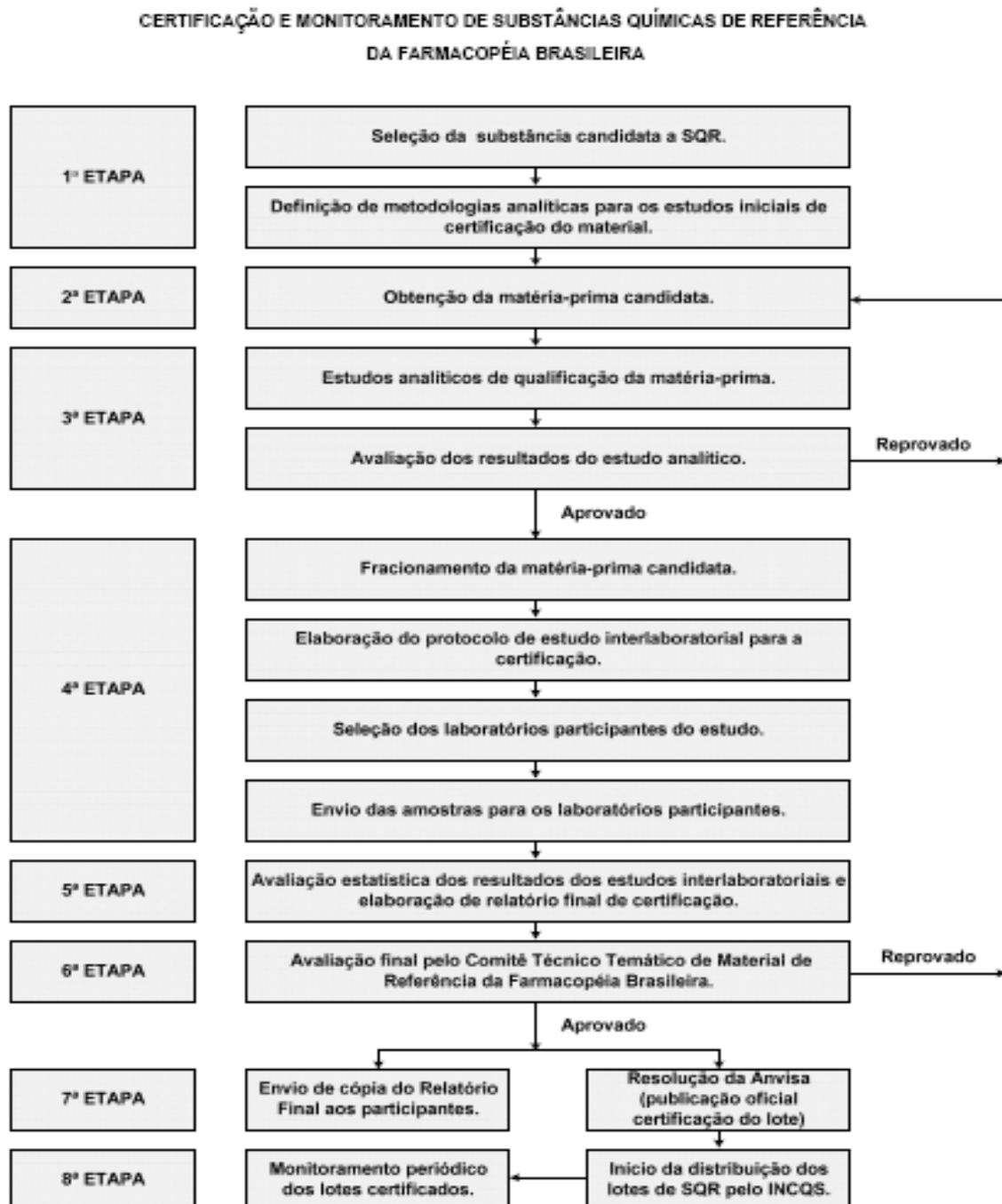
De acordo com a definição da Organização Mundial de Saúde (OMS), padrões de referência farmacopeicos são produtos de uniformidade reconhecida, destinados ao uso em ensaios onde uma ou mais de suas propriedades serão comparadas com as da substância em exame. Possuem um grau de pureza adequado ao uso ao qual se destinam (FARMACOPEIA, 2010a; ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2010).

O padrão de referência farmacopeico é distribuído por autoridades farmacopeicas, cujo valor atribuído a uma ou mais de suas propriedades é aceito sem necessitar comparação com outro padrão, destinados ao uso em ensaios específicos descritos nas monografias farmacopeicas (FARMACOPEIA, 2010a).

Até pouco tempo, a única opção para adquirir Substância Química de Referência era no mercado internacional a um alto custo, sem considerar a demora do processo de importação. Atualmente, algumas dessas substâncias já estão disponíveis para atender a demanda nacional, a um custo acessível, maior agilidade na aquisição e com padrão de qualidade similar às Substâncias Químicas de Referência importadas. É da responsabilidade do INCQS a distribuição oficial das Substâncias Químicas de Referência da Farmacopeia Brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011c).

O fluxograma do processo para certificação e monitoramento de Substâncias Químicas de Referência da Farmacopeia Brasileira é realizado através de oito etapas, mostradas na figura 1 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011c).

Figura 1 - Fluxograma para certificação e monitoramento de substâncias químicas de referência da farmacopeia brasileira



Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011c.

1.4 SISTEMA DA QUALIDADE EM LABORATÓRIO DE ENSAIOS

Como muitas decisões importantes são baseadas em resultados de análises químicas quantitativas, é essencial ter alguma indicação quanto à qualidade dos resultados, isto é, o quanto se pode confiar nos dados obtidos para o propósito pretendido. Em alguns setores, um requisito formal para o laboratório é introduzir medidas de garantia da qualidade para assegurar que são capazes de fornecer dados com a qualidade requisitada (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002).

Nos últimos anos, os laboratórios analíticos têm trabalhado para a adoção de sistemas da qualidade que demonstrem sua competência técnica. Isto se dá por razões econômicas, da livre concorrência no mercado globalizado e, em laboratórios de pesquisa, ensino ou desenvolvimento de produtos, para obter confiabilidade nos resultados analíticos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011b).

É importante ressaltar o papel do laboratório na estrutura da Vigilância Sanitária. Esse deve ser moderno e estar equipado para dar respostas ágeis na avaliação da qualidade de produtos e das repercussões de riscos sobre a saúde da população.

Assim, os laboratórios de ensaio, com a finalidade de demonstrar que são tecnicamente competentes e capazes de produzir resultados válidos, utilizam-se da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005) como referência para implantar seu sistema da qualidade. Esta norma foi publicada para substituir a ABNT ISO/IEC Guia 25 e teve sua última versão disponível em 2005. A norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005) vem sendo utilizada por organismos de acreditação em todo o mundo.

Essa norma dá especial importância à demonstração da rastreabilidade da medição, que inclui o uso de materiais de referência (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005).

O INCQS apresenta seu Sistema de Gestão da Qualidade implementado sob as diretrizes da norma 17025. Desde 2004, participa de processos de acreditação de ensaios microbiológicos, toxicológicos, farmacológicos e químicos coordenados pelo

Inmetro (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2011b).

1.5 MATERIAIS DE REFERÊNCIA

Os Materiais de Referência (MR) são uma das principais ferramentas para a garantia e o controle da qualidade descritas na norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, na qual a sua utilização está destinada a: calibração, validação de metodologias, rastreabilidade, controle de qualidade, verificação do uso correto de um método, demonstração de proficiência de laboratórios, provimento de programas de proficiência e fornecimento de valores a outros materiais (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005).

Estes são reconhecidos por duas classes, o material de referência (MR) e o material de referência certificado (MRC).

Segundo o Vocabulário Internacional de Metrologia - VIM (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE, 2012), material de referência (MR) é definido como um material ou substância que tem um ou mais valores de propriedades que são suficientemente homogêneos e bem estabelecidos para serem usados na calibração de um aparelho, na avaliação de um método de medição ou atribuição de valores a materiais. Um material de referência pode ser uma substância pura ou uma mistura na forma de gás, líquido ou sólido. Nessa nova definição, adotada a partir de 2009, deve-se salientar as seguintes considerações: (i) MR é um termo genérico, referente a uma família de materiais, com homogeneidade e estabilidade definidas e adequadas para o controle de qualidade de uma medição; (ii) as propriedades do MR podem ser quantitativas ou qualitativas; (iii) o uso pode incluir a calibração do sistema de medição, a aplicação em um procedimento de medição, o assinalamento de valor a outro material e o controle de qualidade; (iv) o MR deve ser usado apenas para uma única finalidade em um sistema de medição, ou seja, como calibrador ou como controle de qualidade do material (EMONS et al., 2006).

De acordo com o VIM (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE, 2012), o Material de Referência Certificado (MRC) é definido como Material de Referência, caracterizado metrologicamente por um procedimento válido para uma ou mais propriedades específicas, acompanhado por um certificado que fornece o valor da propriedade especificada com sua incerteza associada e dados de rastreabilidade metrológica.

A produção e o uso de MRC seguem basicamente as orientações dos ISO Guias de 30 a 35 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2000; 2002; 2004; 2011; 2012a ; 2012b).

Uma das grandes dificuldades dos laboratórios analíticos brasileiros é a pouca disponibilidade desses MRCs no mercado nacional e os preços elevados destes materiais importados.

A questão do alto custo é decorrente das diversas etapas de elaboração e das análises serem demoradas e dispendiosas, como por exemplo, os estudos de homogeneidade e de estabilidade de longa duração que requerem um número grande de análises. Outro fator que pode elevar o custo da aquisição de MR é a condição de transporte do mesmo, que de acordo com o material pode exigir temperaturas controladas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

A produção de um MRC tem que ser devidamente planejada, já que exige uma quantidade de material de partida suficiente para a realização de todos os estudos: homogeneidade, estabilidade e caracterização (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b). Um MRC é produzido basicamente em quatro etapas: (i) estudo de viabilidade para produzir o material; (ii) estudo de homogeneidade do material nos recipientes; (iii) estudo da estabilidade do material preparado; (iv) certificação dos valores atribuídos às propriedades de interesse do material preparado. Nesta última etapa o MR passa a ser denominado MRC (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

Sendo o valor certificado dos materiais de referência a melhor estimativa do valor verdadeiro da propriedade de interesse, o mesmo é obtido a partir de cálculos estatísticos adequados e informado com sua incerteza devidamente estimada, proveniente dos estudos de caracterização, homogeneidade e de estabilidade da amostra conforme apresentado na equação 1 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

$$u_{\text{combinada}} = \sqrt{u_c^2 + u_h^2 + u_e^2}$$

equação (1)

Onde:

$u_{\text{combinada}}$ = incerteza combinada referente à certificação

u_c = incerteza combinada referente a caracterização

u_h = incerteza combinada referente a homogeneidade

u_e = incerteza combinada referente a estabilidade

1.5.1 Estudo de viabilidade

É utilizado como um ensaio prévio ao preparo do MR. É necessário para se verificar os melhores métodos para produzir e caracterizar um MR suficientemente homogêneo e estável (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

Assim para garantir a qualidade do comprimido de prednisona é necessário o cumprimento de várias operações que, coordenadas, garantem características adequadas para que o comprimido seja eficaz (FARMACOPEIA, 2010a).

No planejamento deste estudo foram realizados ensaios físico-químicos para garantir a viabilidade deste estabelecimento: (i) teste de identificação, (ii) teste de friabilidade, (iii) teste de desintegração, (iv) ensaio de teor, (v) uniformidade de conteúdo, (vi) ensaio de dissolução/ perfil de dissolução, (vii) caracterização dos excipientes (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

1.5.2 Estudo de homogeneidade de materiais de referência

Na teoria, um material é perfeitamente homogêneo com respeito a uma dada propriedade se não houver nenhuma diferença entre os valores desta característica de uma parte para outra. Entretanto, na prática, um material é aceito como homogêneo com respeito a uma dada propriedade se uma diferença entre os valores desta característica de uma parte para outra forem desprezíveis quando comparados ao componente de incerteza da caracterização (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

O teste da homogeneidade do MRC é um dos fatores essenciais para a garantia da manutenção das propriedades físico-químicas do material estudado e, portanto, as dimensões da amostra devem ser representativas ao tamanho do grupo. No experimento, o número de frascos selecionados aleatoriamente deve incluir entre 10 e 30 unidades do lote preparado. Para poder definir o número mínimo de unidades para o estudo de homogeneidade, utiliza-se a equação 2 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

$$n = 3 \times \sqrt[3]{N}$$

(equação 2)

Um estudo de homogeneidade é necessário na certificação de um lote de um MR para demonstrar que as unidades deste lote são suficientemente homogêneas entre si (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

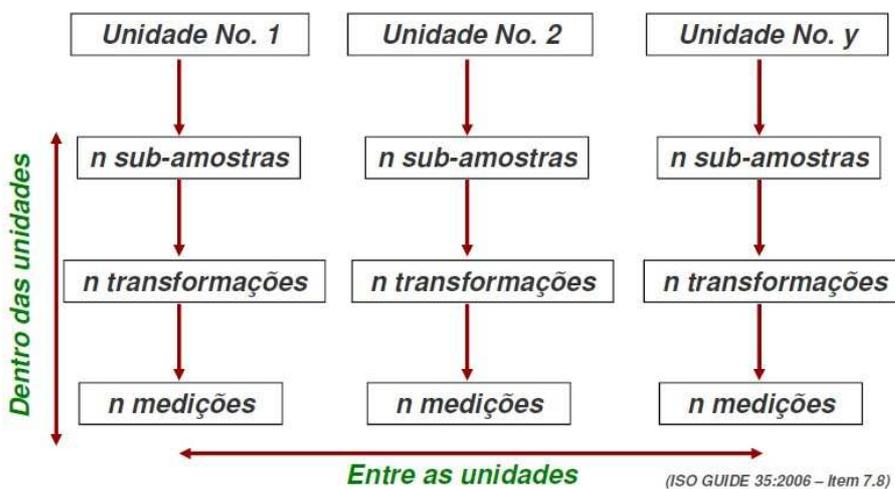
Os ensaios para o estudo de homogeneidade devem ser executados em condições de repetitividade (mesmo laboratório, mesmo analista e todas as amostras testadas no mesmo dia, se possível) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

O planejamento para verificar a homogeneidade de um lote de material preparado para fins de certificação deve indicar as variabilidades da amostra dentro do recipiente, na qual uma quantidade mínima da amostra deve ser tomada para que represente a porção teste dentro do mesmo. Assim como entre os recipientes que contêm os materiais que compõem o lote, devidamente envasados. O modelo

estatístico é o mais indicado para realização desse estudo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

Esta avaliação quantitativa deve ser realizada segundo recomendações do ISO GUIA 35 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b). O teste de homogeneidade da amostra deve indicar as variabilidades da amostra dentro do recipiente assim como entre os recipientes que contém o material que compõe o lote, como mostrado na figura 2.

Figura 2 - Homogeneidade: planejamento 1



Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b.

❖ Estimativa de incerteza da homogeneidade

A incerteza da homogeneidade deve ser calculada em função dos valores da média quadrática entre os frascos (MQ_{entre}) e dentro dos frascos (MQ_{dentro}), fornecidos pelo teste de análise de variância ANOVA. Para isso, devem ser utilizadas as equações 3 e 4 para calcular o desvio padrão entre os frascos.

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{\text{entre}} - MQ_{\text{dentro}}}{n}} \quad \text{equação (3)}$$

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{\text{dentro}}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{gl_{\text{dentro}}}} \quad \text{equação (4)}$$

Onde:

$s_{bb} = u_{bb}$ = incerteza da homogeneidade entre as unidades;

MQ_{entre} = média quadrática entre frascos;

MQ_{dentro} = média quadrática dentro dos frascos;

n = número de replicatas das amostras;

gl_{dentro} = graus de liberdade dentro dos frascos.

A estimativa de incerteza da homogeneidade (u_{homog}) deve ser considerada igual ao maior valor de u_{bb} , conforme equação 5. Além disso, a contribuição percentual (%H) da incerteza da homogeneidade pode ser calculada pela equação 6.

u_{homog} = maior valor de u_{bb} equação (5)

$$\%H = \left(\frac{u_{homog}}{média_{geral}} \right) \cdot 100 \quad \text{equação (6)}$$

Onde:

u_{homog} = incerteza da homogeneidade;

%H = contribuição percentual da incerteza da homogeneidade.

A norma ISO 13528 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION, 2005) apresenta um procedimento para a determinação do grau de homogeneidade que é constituído das seguintes etapas:

1) A média é calculada, $x_{t,k}$, entre as duas alíquotas de teste ($x_{t,1}$ e $x_{t,2}$), para cada amostra, e em seguida, calculada a média geral, \bar{x} , definida como a média das médias de cada amostra. Sendo que t representa o número da amostra ($t=1, 2, \dots, g$) e k o número da replicata ($k=1, 2$). A partir destes valores, é calculado o desvio padrão das médias das amostras, s_x .

$$s_x = \sqrt{\sum (x_t - \bar{x})^2 / (g - 1)} \quad \text{equação (7)}$$

2) O valor absoluto da amplitude w_t é calculado para cada amostra (dentro-das-amostras), diferença entre as porções de teste da amostra.

$$w_t = |x_{t,1} - x_{t,2}| \quad \text{equação (8)}$$

3) Dos valores definidos acima, é calculado o desvio padrão dentro das amostras s_w e o desvio padrão entre as amostras s_s

$$s_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)} \quad \text{equação (9)}$$

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} \quad \text{equação (10)}$$

4) As amostras podem ser considerada adequadamente homogêneas para o ensaio de proficiência, se $S_s \leq 0,3 \sigma$, onde, σ é o desvio padrão alvo.

5) O valor para o desvio padrão alvo do critério de aceitação é atribuído pelo Horwitz modificado por Thompson, onde se leva em consideração a concentração média de todos os resultados obtidos no estudo de homogeneidade. Onde, c deve ser expresso como uma grandeza adimensional (THOMPSON, 2000), conforme as equações 11, 12 e 13:

i) Se c (concentração) $> 0,138$

$$\sigma = 0,01c^{0,5} \quad \text{equação (11)}$$

ii) Se $1,2 \times 10^{-7} \leq c$ (concentração) $\leq 0,138$

$$\sigma = 0,02c^{0,8495} \quad \text{equação (12)}$$

iii) Se c (concentração) $< 1,2 \times 10^{-7}$

$$\sigma = 0,22c \quad \text{equação (13)}$$

1.5.3 Estudo de estabilidade de materiais de referência

Um estudo de estabilidade tem como objetivo determinar o grau de instabilidade de um material candidato a ser um MR ou confirmar a estabilidade de um material (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

O estudo de estabilidade também é um dos pré-requisitos para produção de materiais de referência, pois é um dos fatores essenciais para a garantia da manutenção das propriedades físico-químicas em todas as unidades dos MR produzidos ao longo do tempo de validade do mesmo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

O estudo de estabilidade visa simular as condições de transporte e armazenamento em que o material se mantém sem perder as suas propriedades.

Na avaliação da estabilidade de um MR, devem ser considerados dois tipos de estudos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b):

❖ Estabilidade em longa duração (condições de armazenamento) – de maneira geral são escolhidas duas temperaturas, sendo que a primeira é a temperatura de referência (na qual o material é considerado estável) e a segunda é a temperatura de armazenamento. A duração do estudo de estabilidade relacionado à longa duração com a utilização do modelo clássico normalmente pode variar entre 24 e 36 meses, com intervalos típicos de amostragem de 5 a 6 vezes durante o período determinado, e de 6 a 12 meses com a utilização do modelo isócrono (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b; VAN DER VEEN et al., 2001b).

❖ Estabilidade em curta duração (condições de transporte) – são escolhidas temperaturas, possíveis de ocorrer durante o transporte, onde será estimado o efeito desta sobre o MR. A duração do estudo pode ser de até 2 meses, a fim de se obter informações adicionais sobre o tempo de transporte (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b; VAN DER VEEN et al., 2001b).

Dois modelos experimentais são utilizados no planejamento do estudo de estabilidade; o clássico e o isócrono.

O estudo de estabilidade clássico visa identificar se há reprodutibilidade nas determinações do analito ao longo do tempo, isto é, amostras individuais são preparadas ao mesmo tempo (mesma batelada), sob condições idênticas, sendo medidas em tempos separados. Sendo assim, há grandes chances de variações nos resultados, e deve-se apresentar o valor da incerteza inerente a esta propriedade (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b; VAN DER VEEN et al., 2001b). A sua vantagem em relação ao isócrono é que qualquer evidência de instabilidade do material é logo detectada.

Já o estudo de estabilidade isócrono é realizado em um curto período de tempo, no qual amostras individuais são preparadas ao mesmo tempo (mesma batelada), sob condições idênticas, porém as medições são realizadas sob condições de repetitividade, em uma mesma análise. Nesse modelo, como as medições são realizadas sob condições de repetitividade, em geral as incertezas são inferiores às do modelo clássico. A sua desvantagem é que a estabilidade do material só é conhecida ao término do estudo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

Portanto, os estudos de estabilidade são realizados não apenas para avaliar a incerteza de medição associada à estabilidade do material, mas também para poder especificar as condições apropriadas de armazenamento e transporte (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

Os parâmetros de regressão são calculados a partir das seguintes expressões. No caso a inclinação, a seguinte expressão é utilizada.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad \text{equação (14)}$$

A intersecção é calculada a partir de.

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \quad \text{equação (15)}$$

O desvio padrão dos pontos entre as linhas é calculado por

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2} \quad \text{equação (16)}$$

A incerteza associada à inclinação é calculada pela equação abaixo.

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \quad \text{equação (17)}$$

Assim a avaliação estatística para testar a significância da regressão durante o intervalo de tempo de estudo é observada através da aplicação do valor-p da inclinação da regressão. Caso o valor de p seja maior que 0,05, ao nível de

confiança de 95%, a inclinação da regressão linear é considerada insignificante (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

A significância da inclinação da regressão, b_1 , também pode ser estatisticamente testada através da aplicação do teste t de Student, para $n-2$ graus de liberdade e $p=0,95$ (95% o nível de confiança), conforme equação 18.

$$|b_1| < t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$$

equação (18)

Se a condição da equação 18 for atendida, indica que o material tem estabilidade garantida, ou seja, a inclinação da regressão é insignificante.

❖ Estimativa de incerteza da estabilidade em curta duração/ longa duração

A partir dos dados de regressão linear a incerteza inerente à estabilidade de curta duração ($u_{\text{est curta}}$) e longa duração ($u_{\text{est longa}}$) é calculada através da equação 19, pela multiplicação do erro padrão pelo tempo de estudo do material (expresso em dias).

$$u_{\text{est curta}} = s(b_1) \cdot t$$

$$u_{\text{est longa}} = s(b_1) \cdot t$$

equação (19)

Onde:

$s(b_1)$ = erro padrão do tempo;

t = tempo de estudo.

1.5.4 Estudo de caracterização de materiais de referência

A caracterização de um material de referência (MR) é a determinação de um ou mais valores de propriedades químicas, físicas, biológicas ou tecnológicas relevantes ao uso pretendido (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2011).

Assim, o estudo de caracterização visa atribuir um valor a componente do material e a estimativa da incerteza correspondente.

O ISO GUIA 34 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012a) e o ISO GUIA 35 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b) descrevem os procedimentos empregados na caracterização do material de referência: (i) medições realizadas por um único laboratório que utiliza um método primário; (ii) medições realizadas por um único laboratório que utiliza dois ou mais métodos de referência independentes; (iii) medições realizadas por uma rede de laboratórios qualificados que utilizem para medição um ou mais métodos de exatidão comprovada; (iv) medições realizadas por uma rede de laboratórios que utilizem um método específico.

Na escolha da caracterização do MR, cabe ressaltar a contribuição dos diferentes componentes de incerteza para a determinação do valor de propriedade. Além disso, o valor de propriedade e sua incerteza precisam ser demonstrados. No entanto, a escolha da melhor forma para caracterizar um MR depende da disponibilidade dos métodos e do material (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

O procedimento experimental para análise de dados segue indicação do item 10.5.2 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b), a qual indica que a média das médias dos laboratórios participantes é a melhor escolha para ser o valor de propriedade do material avaliado no estudo interlaboratorial. As equações 20 e 21 utilizadas são apresentadas abaixo.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^{n_i} x_j \quad \text{equação (20)}$$

$$\bar{x} = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \bar{Y}_i \quad \text{equação (21)}$$

Onde:

x_{ij} = os resultados j^{th} reportados pelos laboratórios i .

p = o número de laboratórios participantes

n_i = o número de resultados reportados pelos laboratórios i .

$\bar{x} = \bar{\bar{Y}}$ = média das médias

Para o cálculo dos valores das incertezas associadas às médias dos laboratórios é empregado o desvio padrão obtido pela equação 22 e 23 abaixo.

$$u_{carac} = \frac{s}{\sqrt{p}} \quad \text{equação (22)}$$

$$s^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p (Y_i - \bar{Y})^2 \quad \text{equação (23)}$$

Onde:

$$(Y_i - \bar{Y})^2 = (x_i - \bar{x})^2$$

Para avaliação dos valores discrepantes é aplicado os testes de Cochran e de Grubbs. O teste de Cochran é aplicado quando se deseja comparar variâncias, ou seja, verificar se a variância dos resultados obtidos por um laboratório é diferente da variância dos demais laboratórios. O teste de Grubbs verifica se as médias obtidas pelos laboratórios são compatíveis, após a aplicação do teste de Cochran (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b; INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION, 1994b).

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios participantes da comparação interlaboratorial, é utilizado o índice Z-score, medida da distância relativa dos resultados. O índice Z é calculado para avaliação dos resultados dos laboratórios de acordo com a equação 24 abaixo:

$$Z = \frac{(x - \mu)}{\sigma} \quad \text{equação (24)}$$

onde:

x = valor obtido pelo laboratório participante

μ = estimativa do valor verdadeiro convencional

σ = estimativa do desvio padrão para μ

A interpretação do valor do índice Z está descrito abaixo:

$|z| \leq 2$ - resultado satisfatório

$2 < |z| < 3$ - resultado questionável

$|z| \geq 3$ - resultado insatisfatório

1.6 ENSAIOS FÍSICOS E QUÍMICOS EMPREGADOS NO ESTUDO DE VIABILIDADE

As características físico-químicas do fármaco, da formulação, são fatores determinantes para garantir a segurança, a eficácia e a qualidade da formulação farmacêutica. De acordo com os compêndios, os seguintes testes devem ser realizados para atestar a qualidade de um fármaco: identificação, peso médio, friabilidade, desintegração, teor, uniformidade de conteúdo, dissolução/perfil de dissolução e caracterização dos excipientes (FARMACOPEIA, 2010a; STORPIRTIS et al., 2009).

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica, este teste constitui-se em elemento útil na avaliação da qualidade integral dos comprimidos. E visa demonstrar a resistência dos comprimidos à ruptura provocada por quedas ou fricção. O teste se aplica, unicamente, a comprimidos não revestidos. Este é realizado em aparelho denominado de friabilômetro que lança os comprimidos em queda livre, repetidas vezes, durante o movimento giratório do disco, onde se ajusta a velocidade para 25 RPM e o tempo de 4 minutos (FARMACOPEIA, 2010a).

O teste de desintegração permite verificar se os comprimidos se desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação de aparelhagem e sob condições específicas (FARMACOPEIA, 2010a).

A desintegração é definida, como o estado no qual nenhum resíduo das unidades testadas, ficam na tela metálica do aparelho de desintegração, salvo fragmentos insolúveis de revestimento do comprimido. Consideram-se, também, como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa, desde que não apresentem núcleo palpável. Este teste se baseia na determinação de tempo em que um comprimido se desfaz em meio aquoso aquecido a 37°C, num sistema em movimento, ascendente e descendente (FARMACOPEIA, 2010a).

O teste de identificação é importante para demonstrar que o fármaco presente no medicamento candidato é o sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa do medicamento de referência (STORPIRTIS et al., 2009).

O método de teor serve para a quantificação do fármaco naquela determinada forma farmacêutica (FARMACOPEIA, 2010a).

Para assegurar a administração de doses corretas, cada unidade do lote de um medicamento deve conter a quantidade do componente ativo próxima da quantidade declarada. O teste de uniformidade de conteúdo permite avaliar a quantidade de componente ativo em unidades individuais do lote e verificar se esta quantidade é uniforme nas unidades testadas (FARMACOPEIA, 2010a).

Um dos critérios mais importantes de uma monografia farmacopeica para o estudo de equivalência farmacêutica é o ensaio de dissolução. O ensaio de dissolução, com coleta em um ponto não fornece dados sobre a velocidade e a extensão da cedência do fármaco de sua forma farmacêutica ao longo do tempo, sendo necessário que, para a comparação entre dois medicamentos, seja realizado o perfil de dissolução (STORPIRTIS et al., 2009).

Esse teste derivou-se do teste de dissolução de um único ponto incluído na maioria das farmacopeias, e tem sido utilizado como ferramenta no desenvolvimento de formulações, uma vez que evidencia diferenças na dissolução causadas por fatores ligados ao fármaco, aos excipientes e à técnica de fabricação empregada. Para obter o perfil de dissolução deve-se realizar várias coletas do meio de dissolução, em tempos adequados, para determinar a porcentagem de fármaco dissolvido a cada tempo (STORPIRTIS et al., 1999a; YUGUE et al., 1996).

A utilização de excipientes na produção de formas farmacêuticas está relacionada com a via de administração, forma farmacêutica, características físico-químicas do fármaco, ação terapêutica desejada, fatores tecnológicos da produção e propriedades funcionais dos excipientes. São importantes componentes de uma formulação farmacêutica, e não se deve chamar de componentes inertes, uma vez que podem atuar como promotores de características desejáveis ou indesejáveis do fármaco (KALINKOVA, 1999).

Portanto, é importante caracterizar o estado sólido das substâncias da melhor forma possível. Isto implica a utilização de uma técnica de forma adequada e integrada (STORPIRTIS et al., 2009).

As técnicas espectroscópicas são muito utilizadas nas áreas químicas e farmacêuticas para a identificação molecular. Esta técnica se baseia na exposição da amostra a uma radiação eletromagnética de comprimento de onda na região do infravermelho, que induz transições vibracionais e rotacionais (STORPIRTIS et al., 2009).

1.7 DISSOLUÇÃO DE MEDICAMENTOS

Dissolução é o processo no qual uma substância sólida entra em solução, ou seja, se dissolve. Esta pode ser definida de forma simplificada como o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (STORPIRTIS et al., 2009).

O ensaio de dissolução visa determinar a porcentagem da quantidade de princípio ativo, declarado no rótulo do produto, liberado no meio de dissolução, dentro do período de tempo especificado na monografia de cada produto, quando o mesmo é submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais descritas (FARMACOPEIA, 2010a).

A determinação da dissolução de fármacos a partir de formas farmacêuticas em condições padronizadas fornece informações importantes que são utilizadas para assegurar a qualidade do produto e a biodisponibilidade do fármaco; auxiliar na escolha de excipientes e do processo de fabricação durante o desenvolvimento do medicamento e modificações pós-registro; e estabelecer correlação *in vitro* - *in vivo* (STORPIRTIS et al., 2009).

1.7.1 Ensaio de dissolução - histórico

A Farmacopeia Helvética (Suíça), em 1934, foi o primeiro compêndio oficial a introduzir o teste de desintegração para comprimidos. Este se tornou oficial na

Farmacopeia Americana (United States Pharmacopoeia - USP XIV), em 1950 para produtos de liberação imediata e para a avaliação qualitativa (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Na década de sessenta foi reconhecido o fato que o teste de desintegração para comprimidos, não tem necessariamente uma correlação com a ação in vivo, porém é a maneira do fabricante demonstrar que uma fórmula medicamentosa em comprimido num lote de produção tem as mesmas características de desintegração de outro lote (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1960, ocorreu a descrição dos primeiros aparelhos, automáticos ou não, para a realização do ensaio de dissolução (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1970, a Farmacopeia Americana XVIII (USP 18) oficializou o primeiro teste de dissolução. As 12 primeiras monografias de formas orais sólidas foram introduzidas nesta edição (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1972, os cientistas encontraram uma grande variação no resultado de dissolução de um aparelho para outro. A USP e o Food and Drug Administration - FDA perceberam a necessidade de padronização do ensaio de dissolução. Assim a Farmacopeia Americana vem substituindo o teste de desintegração pelo teste de dissolução, em suas monografias (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1975, ocorreu a oficialização de dois aparelhos: aparato (1) cesta e aparato (2) pá (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1978, houve a introdução com posterior oficialização dos comprimidos calibradores: Prednisona (Hoffman - La Roche) e ácido salicílico (Upjohn) em 1980.

A partir de 1980, houve a fase de oficialização do teste de dissolução em diversos países e a USP XX passa a incluir o teste nas monografias de comprimidos. Aproximadamente 75 monografias foram acrescentadas nesta edição. Houve também a introdução dos comprimidos calibradores (prednisona e ácido salicílico), para garantir a reprodutibilidade dos resultados (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1988, a Farmacopeia Brasileira 4ª edição, oficializou o teste de dissolução no Brasil e a Farmacopeia Britânica no Reino Unido (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1990, a USP XXII introduz cerca de 400 monografias para dissolução e incorpora três novos aparatos para a dissolução de formulações transdérmicas (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1995, a USP 23 apresenta cerca de 532 monografias e introduz mais dois novos aparatos para dissolução de formas de liberação prolongada (HANSON-RESEARCH-CORPORATION, 1996).

Em 1997, a Pharmacia & Upjohn decidiu que deixaria de fazer comprimido calibrador da USP. Também neste ano a USP reformulou o comprimido de prednisona com a Universidade de Maryland.

Em 1999, ocorreu a criação da Anvisa, houve a entrada dos medicamentos genéricos, e o ensaio de dissolução foi oficialmente exigido no Brasil.

Em 2002, a USP 25, apresenta cerca de 662 monografias com o teste de dissolução, sendo 58 monografias com o teste para liberação prolongada e 148 monografias com o teste de desintegração.

A partir de 2003, USP 26, a Farmacopeia Americana passou a ser editada anualmente, e mais monografias para o ensaio de dissolução são acrescentadas.

A partir de dezembro de 2009, não é um requisito compendial a utilização do padrão de referência, comprimido de ácido salicílico da USP (calibrador de dissolução, sem desintegração).

Em dezembro de 2010 o padrão de referência da USP, comprimido de prednisona lote P1I300 (comprimido de qualificação de desempenho, desintegrante), inseriu uma alteração no cálculo do teste de qualificação de desempenho da dissolução, ou seja, um novo critério passou a ser utilizado, a média geométrica e o % CV (coeficiente de variação), obtidos a partir da realização do ensaio com um número pré-definido de comprimidos (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Em fevereiro de 2012, a USP removeu o material de referência Maleato de Clorfeniramina, utilizado para o teste de qualificação do aparato 3, ou cilindros alternantes. Esta mudança foi necessária porque o Maleato de Clorfeniramina, lote corrente será esgotado e nenhum candidato substituto adequado foi encontrado até a data (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Em 2012, a USP 35, apresenta cerca de 951 monografias de dissolução (THE UNITED, 2012b).

1.7.2 Aparatos de dissolução

As farmacopeias devem ser a primeira fonte de informação a ser consultada para obtenção de aparatos de dissolução (FARMACOPEIA, 2010a; THE EUROPEAN, 2008; THE UNITED, 2012a).

O equipamento de dissolução, mostrado na figura 3, consiste de um sistema com recipientes abertos de forma cilíndrica e fundo hemisférico (cubas); hastes em aço inoxidável para prover agitação do meio de dissolução, que podem se apresentar sob duas formas: cesto ou pá; um motor que possibilita ajustar a velocidade de rotação da haste aquela especificada na monografia individual. As cubas são imersas em banho de água termostaticado, de material transparente e tamanho adequado, em que a temperatura seja mantida a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante a execução do teste (FARMACOPEIA, 2010a).

Figura 3 - Dissolutor Hanson SR8 Plus



Fonte: Hanson Research Corporation, 2008.

Cesto (aparato 1), figura 4, consiste essencialmente em um cesto de aproximadamente 25 mm de diâmetro por 37 mm de altura, fabricado em malha de aço inoxidável com abertura de malha de 40 mesh (STORPIRTIS et al., 2009).

Figura 4 - Cesto e haste para cesto (aparato 1)



Fonte: Hanson Research Corporation, 2008.

Cestos são utilizados na avaliação da dissolução de cápsulas e comprimidos que flutuam. Se a formulação obstruir a malha do cesto, a opção é realizar o teste com pás e colocar uma âncora ao redor da forma farmacêutica. Cestos devem ser considerados e tratados como instrumentos de precisão. Por isso, cuidados especiais na sua limpeza e armazenamento devem ser tomados para evitar danos ou alterar a abertura da malha. A combinação da composição do meio de dissolução e da formulação pode corroer os fios metálicos que formam a malha. Cestos devem ser substituídos com certa periodicidade, afim de que a abertura da malha não seja fonte de variabilidade no teste de dissolução (STORPIRTIS et al., 2009).

A figura 5, pá (aparato 2), apresenta a mesma configuração do equipamento utilizado para cesto, sendo empregado em substituição pela pá. A pá pode ser construída em aço inoxidável, o qual pode ser revestido ou não com Teflon® ou outro material inerte. Ela pode ser confeccionada em uma única peça ou pode ter a pá aparafusada na haste (STORPIRTIS et al., 2009).

Figura 5 - pá (aparato 2)



Fonte: Hanson Research Corporation, 2008.

1.7.3 Meio de dissolução

Dados físicos e físico-químicos tanto do fármaco como da formulação são importantes para seleção do meio de dissolução. No caso do fármaco é essencial conhecer a sua solubilidade em função do pH. Todas as doses do produto que serão comercializadas devem ser consideradas, na definição do volume de meio de dissolução, para garantir que as *sink conditions* sejam atendidas. A definição mais utilizada de *sink conditions* é o mínimo de três vezes o volume de meio de dissolução necessário para se obter uma solução saturada do fármaco. No caso de cesto e pá, os volumes de meio de dissolução mais utilizados estão entre 500 e 1000 mL, sendo 900 mL o mais usual (STORPIRTIS et al., 2009).

A necessidade de desaeração do meio deve ser verificada porque bolhas de ar podem interferir no perfil de dissolução. Bolhas de ar podem atuar como barreira à penetração do meio de dissolução, o que pode aumentar a flutuação das partículas e facilitar a aderência destas às paredes e componentes do dissolutor. O método de desaeração consiste em aquecer entre 41°C a 45°C o meio de dissolução, filtrar sob vácuo e manter sob vácuo com agitação por 5 minutos (STORPIRTIS et al., 2009; THE UNITED, 2012a).

1.7.4 Tempo de dissolução

Quando um único tempo for especificado na monografia do produto, ele representa o tempo máximo dentro do qual deve ser dissolvida a quantidade mínima, em porcentagem, de substância ativa nela estabelecida. Quando mais de um tempo for especificado na monografia, devem ser tomadas alíquotas, adequadamente medidas, ao final de cada tempo indicado (FARMACOPEIA, 2010a).

1.7.5 Considerações para dissolução

Ao realizar montagem e verificação do dissolutor conforme especificação é adicionada a cuba o volume medido do meio de dissolução, convenientemente desgaseificado. Também se deve manter a temperatura do meio a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, e retirar o termômetro antes de iniciar a agitação dos aparatos (FARMACOPEIA, 2010a).

Posteriormente, a forma farmacêutica é introduzida na cuba com a pá parada. A rotação da pá só deve ser iniciada após a forma farmacêutica ter atingido o fundo da cuba. Caso a forma farmacêutica flutue, âncoras podem ser utilizadas para mantê-la parada no fundo da cuba (STORPIRTIS et al., 2009).

De acordo com o especificado na monografia do produto, o volume de amostra retirado pode ou não ser repostado. Se necessária a reposição, o mesmo meio de dissolução aquecido a 37°C deve ser utilizado. Caso a reposição do meio não seja realizada, corrigir o volume nos cálculos (FARMACOPEIA, 2010a; STORPIRTIS et al., 2009).

O filtro tem um papel extremamente importante no teste de dissolução. Ele é utilizado para interromper o processo de dissolução e para remover todas as partículas em suspensão, além das partículas de fármaco não dissolvidas (STORPIRTIS et al., 2009). Após filtração a quantificação do fármaco é efetuada mediante a técnica indicada na monografia do produto (FARMACOPEIA, 2010a). Os resultados de dissolução são expressos em porcentagem de teor declarado no rótulo do fármaco (STORPIRTIS et al., 2009).

1.7.6 Formas farmacêuticas de liberação imediata

Geralmente são utilizados cestos ou pás para a avaliação da dissolução a partir destas formas farmacêuticas. Na maior parte dos casos, o critério de aprovação vai ser ponto único, como a prednisona, no mínimo 80% do teor declarado no rótulo dissolvido em 30 minutos. Dependendo das características do

fármaco ou de possíveis efeitos adversos causados por ele, pode também ser necessário avaliar a quantidade de fármaco liberada em um ponto inicial do perfil de dissolução, neste caso para formas farmacêuticas de liberação imediata com tolerância em dois pontos (STORPIRTIS et al., 2009).

Segundo o critério de aceitação para o teste de dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata, mostrado no quadro 1, o produto cumpre o teste se os resultados atenderem as exigências descritas (FARMACOPEIA, 2010a).

Quadro 1 - critério de aceitação para o teste de dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata

<i>Estágios</i>	<i>Nº de amostras testadas</i>	<i>Crítérios de aceitação</i>
E_1	06	Cada unidade apresenta resultado maior ou igual a $Q + 5\%$
E_2	06	Média de 12 unidades ($E_1 + E_2$) é igual ou maior que Q e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a $Q - 15\%$.
E_3	12	Média de 24 unidades ($E_1 + E_2 + E_3$) é igual ou maior do que Q , não mais que duas unidades apresentam resultados inferiores a $Q - 15\%$ e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a $Q - 25\%$.

Fonte: FARMACOPEIA, 2010a.

O termo Q corresponde à quantidade dissolvida de fármaco, especificada na monografia individual, expressa como porcentagem da quantidade declarada (FARMACOPEIA, 2010a).

Para a qualificação do dissolutor com aparatos cesto e pá, a Farmacopeia Americana preconiza a utilização da USP Prednisona comprimidos Padrões de Referência (comprimido de qualificação de desempenho, desintegrante) (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

1.7.7 Calibração do dissolutor

A Farmacopeia Americana comercializa desde 1980 o comprimido de referência para calibração do sistema de dissolução. Atualmente existe o

comprimido desintegrante, prednisona 10 mg. Este vem acompanhado de um protocolo com número de lote e com as especificações estabelecidas para realização do teste, para cada aparato cesta e pá, e para rotação de 50 RPM. Além de conter informações sobre os limites de aceitação para os comprimidos de referência (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Como o teste de dissolução tem implicações na qualidade e desempenho *in vivo* do produto e pode ser influenciado não só pelo que acontece no laboratório analítico, mas por todas as etapas de produção, desde os excipientes, fármacos até o acondicionamento e a estocagem, muita cautela precisa ser tomada no seu desenvolvimento e execução de rotina, assim a calibração é uma ferramenta importante para reduzir estas variações (STORPIRTIS, 1999b).

Para a maioria dos equipamentos de dissolução farmacopeicos utilizados existe um procedimento detalhado para a sua qualificação e verificação, pois a calibração do equipamento interfere na qualidade dos resultados do ensaio, uma vez que está diretamente relacionado à manutenção da rastreabilidade das medições (FARMACOPEIA, 2010a; THE EUROPEAN, 2008; THE UNITED, 2012a).

A Qualificação Instrumental Analítico, que inclui a Qualificação de Instalação, Qualificação Operacional e Performance de Qualificação, é amplamente utilizada. Assim a calibração do equipamento de dissolução é constituída primeiramente por uma calibração física ou mecânica do equipamento, que deve satisfazer a Qualificação Operacional e algumas condições da Qualificação de Instalação, e deve ser realizada regularmente. Posteriormente é realizada a Performance de Qualificação, ou teste de qualificação de desempenho, que envolve a utilização da USP comprimido padrão referência de prednisona (STORPIRTIS et al., 2009).

1.7.7.1 Calibração física

Na calibração física os parâmetros que devem ser verificados são os seguintes: a bancada usada para suportar o equipamento de dissolução deve ter nível adequado; todas as peças individuais dos elementos de agitação (pá, cesto e haste para cesto) devem ter uma identificação unívoca; verificar a verticalidade das

hastes (eixo); a variação de velocidade ou rotação; o efeito de oscilação para cestas e pás (Wobble); a verificação da centralização dos eixos, quando o equipamento não vier autocentrado de fábrica; o ajuste da altura é executado por meio de gabarito próprio fornecido pelo fabricante do dissolutor, que acompanha a mudança de aparato cesto ou pá; o controle da temperatura nas cubas que contém o meio de dissolução deve ser verificado para cada posição do sistema; a verificação do controle de aquecimento do banho-maria do dissolutor (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

A recomendação para a periodicidade da calibração física é quadrimestral (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2011c).

1.7.7.2 *Teste de qualificação de desempenho*

A avaliação deve ser realizada para todos os equipamentos de dissolução com o uso do material de referência USP prednisona comprimido. O material de referência utilizado no teste de qualificação de desempenho deve ser armazenado como descrito no respectivo certificado ou protocolo. Além disso, este documento contém as informações necessárias para a realização do teste de qualificação de desempenho (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

A recomendação para a periodicidade do teste de qualificação de desempenho é semestral (THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

1.8 PREDNISONA

Os anti-inflamatórios podem ser divididos entre os anti-inflamatórios esteróides (glicocorticóides), derivados da cortisona, também chamados de corticóides ou esteróides, e os anti-inflamatórios não-hormonais ou não-esteroidais,

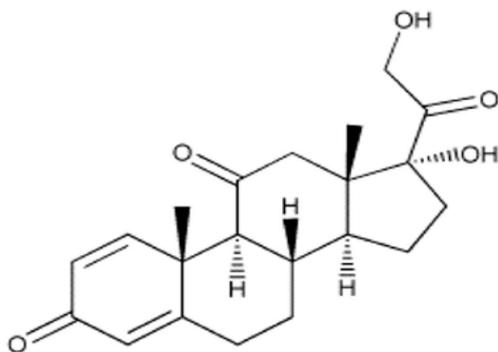
que também se constituem em uma enorme série de medicamentos (RANG; DALE; RITTER, 2001).

A prednisona é um anti-inflamatório esteróide, do grupo dos glicocorticóides, definida como pró-droga, ou seja, o fármaco só se torna farmacologicamente ativo após ter sido metabolizado no fígado em prednisolona. A forma ativa da prednisona é a prednisolona, sendo utilizado para tratamento de inflamações gerais (MARTINDALE, 2009).

Sua atividade anti-inflamatória ocorre pela inibição de um sistema enzimático denominado cicloxigenase (COX2), responsável pela síntese dos diferentes tipos de prostaglandinas (MARTINDALE, 2009).

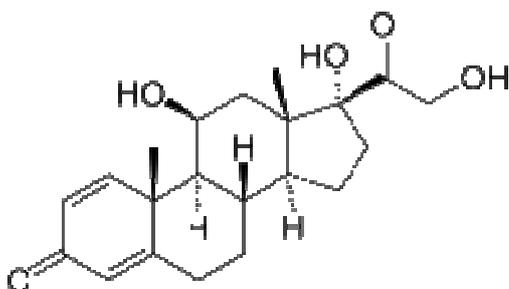
A prednisona é quimicamente denominada 17,21-diidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona. Sua estrutura, mostrada na figura 6, apresenta dupla ligação no carbono da posição 1-4, e o radical cetona na posição carbono 11 (=O), sendo um composto inativo até ser convertido ao seu análogo 11- β -hidroxi (-OH), que é a prednisolona, conforme demonstrado na figura 7 (LACY, 2006).

Figura 6 - Fórmula estrutural da prednisona



Fonte: FARMACOPEIA, 2010b.

Figura 7 - Fórmula estrutural da prednisolona



Fonte: THE UNITED, 2012b.

1.8.1 Descrição da matéria prima

A prednisona apresenta as características físicas de um pó branco, inodoro e tem polimorfismo. Quanto à sua solubilidade é muito pouco solúvel em água; pouco solúvel em etanol, clorofórmio, dioxana e metanol. Ela é considerada neutra quanto à sua estrutura química, pois não fornece qualquer caráter ácido ou básico (FARMACOPEIA, 2010b).

1.8.2 Descrição do comprimido

No banco de dados da Anvisa, as formas farmacêuticas encontradas para as especialidades registradas que contém prednisona (não associada) são comprimidos simples. A prednisona é comercializada na forma farmacêutica de comprimidos de 5 mg, 20 mg e 50 mg de princípio ativo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011b).

Um Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) de fármacos foi desenvolvido por Amidon et al. (1995), baseado na solubilidade e permeabilidade de fármacos:

Classe 1: alta solubilidade/ alta permeabilidade;

Classe 2: baixa solubilidade/ alta permeabilidade;

Classe 3: alta solubilidade/ baixa permeabilidade;

Classe 4: baixa solubilidade/ baixa permeabilidade.

Esta classificação pode ser utilizada na definição de especificações para o teste de dissolução e também pode ajudar na previsão de se obter correlação *in vivo- in vitro* (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2000). Para esta classificação, a solubilidade do fármaco é determinada por meio da solubilização da maior dose disponível do produto em 250 mL do meio de dissolução com pH na faixa de 1,0 a 7,5. A substância é considerada altamente solúvel quando a maior dose se dissolve em volume igual ou menor que 250 mL de meio de dissolução. Alta permeabilidade

é quando o fármaco é absorvido em mais de 90% da dose administrada (AMIDON et al., 1995; STORPIRTIS et al., 2009).

Os dados sobre a solubilidade, absorção oral e permeabilidade sugerem que o comprimido de prednisona de acordo com o SCB é Classe 1 – fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade (VOGT et al., 2007).

1.8.3 Características dos excipientes do comprimido de prednisona

Além da substância ativa, o comprimido contém um grande número de adjuvantes; seu papel é permitir que a operação de compressão ocorra satisfatoriamente e assegurar que os comprimidos sejam obtidos com a qualidade especificada. Dependendo da função principal pretendida, os adjuvantes a serem empregados nos comprimidos podem ser classificados em diferentes grupos. Na preparação de comprimidos, normalmente são acrescentados diluentes ou espessantes para aumentar o volume da formulação, deslizantes e lubrificantes para facilitar o fluxo e evitar adesão, agentes desintegrantes para promover sua desagregação e outros materiais (AULTON, 2005). A formulação do comprimido de prednisona desenvolvido no Laboratório Farmacêutico da Marinha (LFM), utilizado neste estudo, apresenta os excipientes: fosfato de cálcio dibásico, celulose microcristalina, amido glicolato de sódio, ácido esteárico, estearato de magnésio e talco.

O fosfato de cálcio dibásico é um diluente para comprimido usado como enchimento para criar o volume desejado, as propriedades de fluxo e as características de compressão direta na preparação de comprimidos, auxilia a dissolução, 31% conteúdo de cálcio e 22% conteúdo de fósforo (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000).

No início dos anos 60, modificações no processo de obtenção da celulose originaram a celulose microcristalina (CMC). Devido às suas propriedades a CMC é um ingrediente único que pode ser chamado de multifuncional na fabricação de comprimidos (SHANGRAW, 1989). É o melhor aglutinante seco para compressão direta, o que permite a obtenção de comprimidos resistentes à ruptura e à abrasão,

sendo muito utilizado como material de enchimento. Apresenta também, propriedades desintegrantes apesar desse efeito não ser muito consistente e altamente dependente da formulação. Possui problemas como pobre capacidade de fluxo e sensibilidade à umidade (AULTON, 2005).

O amido glicolato de sódio é um derivado substituído do amido, obtido a partir do processo de esterificação do grupo hidroxila presente no amido. Ele é amplamente utilizado em produtos farmacêuticos orais como um desintegrante em cápsula e formulações de comprimidos, sua ação desintegrante decorre da captura de água e intumescimento. Recomenda-se para usar em comprimidos preparados por processos de compressão direta ou granulação úmida. A concentração recomendada em uma formulação é de 2 - 8%, com a concentração ótima de cerca de 4%, embora em muitos casos, 2% é suficiente (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000).

A eficiência desintegrante de amido glicolato de sódio não é afetada na presença de excipientes hidrofóbicos, tais como lubrificantes ao contrário de muitos outros desintegrantes (KIBBE, 2001). Os comprimidos preparados com glicolato de amido de sódio têm propriedades de armazenamento boas. Ele é estável e deve ser armazenado em um recipiente bem fechado para protegê-lo de grandes variações de umidade e temperatura que podem causar aglutinação (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000).

O ácido esteárico é um ácido graxo saturado de cadeia longa que consiste de 18 átomos de carbono sem duplas ligações. É um componente comum em muitos alimentos, como as carnes vermelhas e os produtos lácteos. Ele apresenta as características requeridas de um deslizante para comprimidos, usado na formulação para melhorar as propriedades de fluxo das misturas em pó (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000).

O estearato de magnésio é amplamente utilizado em produtos cosméticos, alimentos e formulações farmacêuticas. É usado principalmente como lubrificante em comprimidos numa concentração de 0,25 - 5,0%. A função primária do lubrificante é reduzir o atrito durante a compressão (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000; AULTON, 2005).

Este lubrificante é hidrofóbico e pode retardar a dissolução de um fármaco de fórmula sólida. Portanto, a concentração mais baixa possível é utilizada em tais formulações. A dissolução é sensível tanto para a quantidade de magnésio na

formulação quanto no tempo de mistura. Um nível mais elevado de magnésio e longo período de mistura podem causar a formação de barreiras de pó hidrofóbicas que não se dispersam após a dissolução. Portanto, o tempo de mistura do estearato de magnésio na formulação deve ser cuidadosamente controlado (AULTON, 2005).

O talco é um pó fino livre de partículas arenosas, de coloração branca a branca acinzentada e praticamente sem cheiro. Este excipiente é usado como lubrificante e/ou diluente em formulações sólidas por via oral. Também pode ser utilizado em produtos de liberação controlada, uma vez que pode retardar a dissolução de outros ingredientes. O talco deve ser conservado ao abrigo do calor, e em local com baixa umidade (ANSEL; POPOVICH; ALLEN Jr, 2000).

1.9 JUSTIFICATIVA

A tecnologia moderna requer uma grande variedade de material de referência em campos amplamente diversos, e cuja demanda tende a aumentar, pois o uso de material de referência certificado possibilita a calibração de equipamentos, controle da qualidade, rastreabilidade, confiabilidade no resultado da medição, melhor garantia de exatidão e melhor relação custo/ benefício.

A qualificação do equipamento de dissolução fornece informações que auxiliam ao laboratório, e tem implicações em obter resultados confiáveis no ensaio de dissolução.

A prednisona foi o fármaco de escolha, devido ao seu histórico de uso pela farmacopeia americana. Além disso, o foco do estudo é a forma de liberação deste fármaco, para assim possibilitar o estabelecimento de um material de referência com uma variação estreita na liberação.

No Brasil, não existe nenhum material de referência certificado de prednisona para qualificação do instrumental de dissolução, a importância deste trabalho está no estabelecimento de comprimidos de referência, que possibilitará suprir a rede de laboratórios oficiais, diminuição de custos e proporcionar agilidade na aquisição deste material.

Estas informações possibilitarão ao Laboratório de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes do Departamento de Química do INCQS, permanecer atuante nas atividades de Vigilância Sanitária, além de incentivar e tornar mais acessível o uso de material de referência certificado pelos laboratórios de controle da qualidade.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a viabilidade do estabelecimento do comprimido referência de prednisona para qualificação do equipamento de dissolução.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e do LFM que contém prednisona 20 mg na forma farmacêutica comprimido;
- Experimentar a preparação de um lote do material de referência prednisona a partir da formulação do comprimido USP;
- Realizar testes conforme a monografia da matéria-prima e do produto acabado, descritos na Farmacopeia Brasileira;
- Realizar o estudo de homogeneidade, estabilidade e caracterização para preparação de um material de referência para qualificação do dissolutor de acordo com os GUIAS da série 30 e a Norma NBR ISO/IEC 17025:2005.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Substância química de referência da farmacopeia brasileira (SQR-FB)

A substância química utilizada como referência (SQR-FB) foi o padrão da Farmacopeia Brasileira - lote: 1037, teor: 100,1% calculado em relação à substância dessecada, determinado por espectrofotometria de absorção no ultravioleta. O recipiente que contém a prednisona deve ser armazenado e conservado bem fechado, protegido da luz e em refrigerador com temperatura entre 2°C e 8°C (FARMACOPEIA, 2010b).

3.1.2 Comprimido referência de prednisona

O comprimido referência de prednisona 10 mg utilizado foi o padrão da Farmacopeia Americana - lote: P1I300 (validade: 29/02/2012) e o lote Q0H398 (validade: 28/02/2013), estes devem ser estocados entre 15°C e 25°C (THE UNITED, 2012a).

3.1.3 Amostras comerciais

Foram adquiridos os medicamentos de referência, genérico e do Laboratório Farmacêutico da Marinha que contém prednisona 20 mg na forma farmacêutica comprimido.

3.1.4 Preparação do material de referência - amostras formuladas de comprimidos de prednisona

O Laboratório Farmacêutico da Marinha - LFM produziu duas formulações contendo prednisona 10 mg por comprimido, com peso médio de 220 mg. A formulação 1 com a mesma composição do comprimido padrão USP, e a formulação 2, baseada na anterior, sendo ajustada com adição de 0,5% de talco e retirada de 0,5% da celulose. Na tabela 1 estão descritas a composição das formulações realizadas.

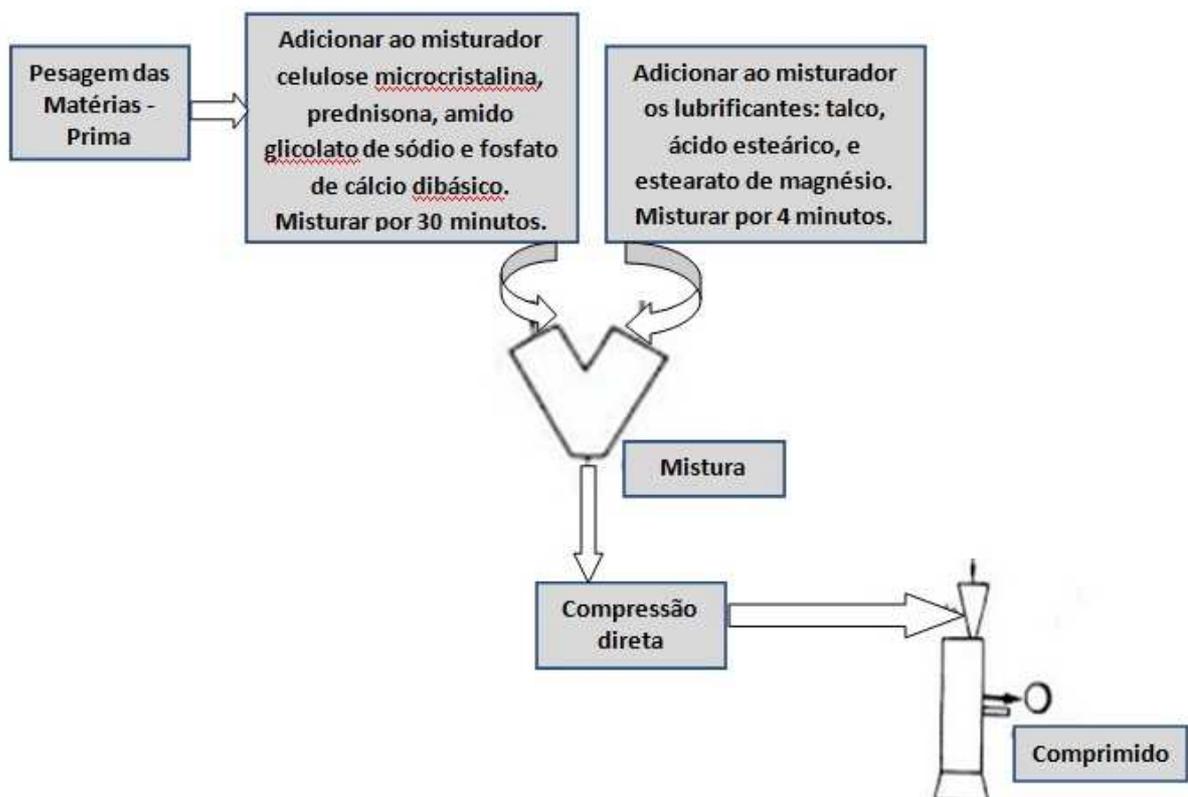
Tabela 1 - Formulações utilizadas no estudo e produzidas pelo LFM

Excipientes	Origem	Formulação 1(%)	Formulação 2 (%)
Prednisona	Tianjin Tianyao pharmaceuticals (China)	4,5	4,5
Fosfato de cálcio dibásico	Budenheim Chemische Fabrik (Alemanha)	38,5	38,5
Celulose microcristalina	Blanver Farmoquímica, Ltda (Brasil)	52,9	52,4
Amido glicolato de sódio	Dmv-Fonterra Excipients (Holanda)	1,8	1,8
Ácido esteárico	Stearinerie Dubois Fils (França)	1,4	1,4
Talco	Magnesia GmbH (Alemanha)	---	0,5
Estearato de magnésio	Magnesia GmbH (Alemanha)	0,9	0,9

Os comprimidos foram fabricados por compressão direta. A compressão direta é o processo de escolha da indústria farmacêutica para produzir comprimidos. Simplicidade, redução de custos, rapidez, maior rendimento, não exposição do fármaco ao calor e aos solventes são vantagens oferecidas na produção de sólidos orais. Os comprimidos elaborados por esta técnica são mais estáveis do ponto de vista físico-químico.

Na produção foi utilizado um misturador em V Fabbes com capacidade de 12 L para misturar os excipientes e o princípio ativo. A compressão foi realizada em máquina compressora rotativa Lawes modelo 2000-10-14 PSC, com punções de 8,0 mm, planos. A compressão direta envolve somente duas operações sequenciais: a mistura dos pós e a compressão, como mostrado na figura 8

Figura 8 - Esquema da produção dos comprimidos de prednisona 10 mg utilizados no estudo



Fonte: Do autor, 2013.

O LFM produziu dois lotes pilotos, sendo o primeiro lote constituído por 1.000 comprimidos, e o segundo lote composto por 3.000 comprimidos de prednisona 10 mg. O segundo lote foi dividido em 100 frascos com 30 comprimidos cada frasco, como mostrado na figura 9.

Figura 9 - Frascos com comprimidos de prednisona 10 mg utilizados no estudo



Fonte: Do autor, 2013.

A qualidade dos comprimidos produzidos foi avaliada, conforme a Farmacopeia Brasileira e Americana (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.2 FASE1: PLANEJAMENTO DE UM PROJETO DE CERTIFICAÇÃO - ESTUDO DE VIABILIDADE

Os testes de controle da qualidade apresentam informações valiosas as quais garantem que formulações farmacêuticas tenham sua eficácia comprovada. No presente trabalho procurou-se avaliar as características físico-químicas, como identificação, peso médio, friabilidade, desintegração, teor, uniformidade de conteúdo, dissolução/perfil de dissolução e caracterização dos excipientes.

3.2.1 Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona 20 mg

A cinética de dissolução do produto comercial a partir dos medicamentos referência, genérico e do LFM que contém prednisona 20 mg, foi avaliado em dissolutor (Hanson, SR8 Plus) e foi utilizado o aparelho preparador de meio (Media-Mate Plus Hanson, MMP-40L), e foram levados em conta os parâmetros que

influenciam a dissolução. O teste de perfil de dissolução foi realizado nas condições preconizadas pela Farmacopeia Brasileira, para o ensaio de dissolução. Para comprimidos contendo 20 mg de prednisona, o meio de dissolução utilizado foi 900 mL de água tipo I obtido pelo sistema de purificação de água (Millipore, Milli-Q A10), e pá como dispositivo de agitação, com velocidade de 50 RPM, mantidos a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Foi coletada uma alíquota de 5 mL em cada cuba com seringa de vidro, nos seguintes intervalos 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos. A determinação da porcentagem de prednisona dissolvida foi efetuada por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Visível Varian, Cary 50), em comprimento de onda de 242 nm, com a realização de uma curva padrão do SQR-FB (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.2.2 Determinação do perfil de dissolução das formulações dos comprimidos de prednisona 10 mg

Foram avaliadas as formulações dos dois lotes piloto de comprimidos de prednisona 10 mg, formulação 1 e formulação 2.

O teste de perfil de dissolução foi realizado nas condições preconizadas pela Farmacopeia Brasileira, para o ensaio de dissolução utilizando-se o dissolutor (Hanson, SR8 Plus) e o aparelho preparador de meio (Media-Mate Plus Hanson, MMP-40L). Para comprimidos contendo 10 mg de prednisona, o meio de dissolução utilizado foi 500 mL de água tipo I obtido pelo sistema de purificação de água (Millipore, Milli-Q A10), e pá como dispositivo de agitação, com velocidade de 50 RPM, mantidos a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Foi coletada uma alíquota de 5 mL em cada cuba com seringa de vidro nos seguintes intervalos 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos. A determinação da porcentagem de prednisona dissolvida foi efetuada por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Visível Varian, Cary 50), em comprimento de onda de 242 nm, com a realização de uma curva padrão do SQR-FB (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.2.3 Teste de identificação

A identificação foi realizada conforme monografia da prednisona, os comprimidos foram pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205) e pulverizados em gral. Uma quantidade de pó equivalente a 10 mg de prednisona foi agitada com cerca de 50 mL de clorofórmio P.A (Proquímios, lote: 08/0592, validade: 11/2013). Após foi filtrado e evaporado até securo. O resíduo foi seco em estufa (VWR, Vacun oven) a 105 °C por 3 horas. O espectro de absorção do espectrofotômetro de infravermelho por transformada de fourier (Shimadzu, FTIR - 8400) do resíduo, disperso em brometo de potássio para infravermelho (J.T.Baker, lote: G18588, validade: 15/05/2013), apresentou máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de prednisona SQR, que foram preparados de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, deve-se dissolver, separadamente, prednisona SQR e amostra em acetona e evaporar até securo. Obter novos espectros com os resíduos (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Ao resíduo obtido anteriormente na identificação, cerca de 6 mg, foram adicionados 2 mL de ácido sulfúrico P.A 95-97% (Merck, lote: K40073431, validade: 31/03/2014), permaneceu em repouso por 5 minutos, até desenvolver uma coloração alaranjada. A solução foi vertida, gota a gota e sob agitação, em 10 mL de água. A cor alaranjada mudou primeiramente para amarelo e em seguida, gradualmente, para verde-azulado (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.2.4 Determinação de peso

A determinação de peso médio dos comprimidos de prednisona 10 mg foi realizada pela pesagem em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205), individualmente 20 unidades, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira.

Para comprimido não revestido, com peso médio entre 80 mg e 250 mg, o limite de variação é $\pm 7,5\%$ (FARMACOPEIA, 1988).

3.2.5 Teste de friabilidade

Foram pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205), 20 comprimidos de prednisona 10 mg, e foram introduzidos no friabilômetro (Erweka, 52984-TAR). A velocidade foi ajustada para 25 rotações por minuto e o tempo do teste para 4 minutos. Decorrido o prazo, removeu-se qualquer resíduo de pó da superfície dos comprimidos e novamente foi pesado. Nenhum comprimido deveria apresentar-se, ao final do teste, quebrado, lascado, rachado ou partido. Foram considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso (FARMACOPEIA, 2010a).

3.2.6 Teste de desintegração

Foram utilizados seis comprimidos de prednisona 10 mg para o teste de desintegração. Um comprimido de prednisona foi colocado em cada um dos seis tubos da cesta do desintegrador (Distek, System 3100), um disco foi adicionado a cada tubo e o aparelho foi acionado, foi utilizada água destilada mantida a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ como líquido de imersão. Ao final do intervalo de tempo de 30 minutos, foi cessado o movimento da cesta e o material foi observado em cada um dos tubos. Todos os comprimidos deveriam estar completamente desintegrados (FARMACOPEIA, 2010a).

3.2.7 Ensaio de teor

A determinação do teor de prednisona nos comprimidos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado cromatógrafo (Dionex, Ultimate 3000), provido de detector por ultravioleta a 254 nm; coluna Symmetry[®] C18 nas dimensões de 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 µm de tamanho de partícula, lote:0240392532, mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1,0 mL/ minuto, fase móvel composta de uma mistura de água tipo I, tetrahidrofurano para CLAE (Merck, lote: I581201, validade: 31/03/2014) e metanol para CLAE (J.T.Baker, lote: J16C01, validade: 23/04/2015) na respectiva proporção (688:250:62) (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Foram pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205) e pulverizados em gral, 20 comprimidos. Foi transferida uma quantidade de pó equivalente a um peso médio, prednisona 10 mg, para balão volumétrico de 50 mL e foram acrescentados 20 mL de diluente, metanol:água tipo I (1:2). O balão volumétrico foi deixado no ultrassom (Branson, 3510), por 20 minutos. Decorrido o tempo, o volume foi completado com o diluente e foram transferidos 2,5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e foi adicionado o diluente, após foi homogeneizado e filtrado. Separadamente, foram injetados 10 µL da curva padrão e das amostras, os cromatogramas foram registrados e foi calculada a quantidade de prednisona nos comprimidos (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.2.8 Ensaio de uniformidade de conteúdo

Este ensaio foi conduzido de acordo com a metodologia do ensaio de teor descrita na Farmacopeia, onde foram pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205) e analisados individualmente 10 comprimidos de prednisona 10 mg e calculou-se o valor de aceitação, L_1 . O produto cumpre o teste de uniformidade se o valor de aceitação calculado para as 10 primeiras unidades testadas não for maior que L_1 , sendo L_1 igual a 15. Se o valor de aceitação for maior que L_1 , deve-se testar

mais 20 unidades e calcular o valor de aceitação (FARMACOPEIA, 2010a; THE UNITED, 2012a).

3.2.9 Ensaio de dissolução

A determinação do tempo de dissolução dos comprimidos de prednisona 10 mg foi realizada conforme Farmacopeia Brasileira, e foi utilizado equipamento específico de dissolução (Hanson, SR8 Plus) e o aparelho preparador de meio (Media-Mate Plus Hanson, MMP-40L), e 500 mL de água tipo I obtido pelo sistema de purificação de água (Millipore, Milli-Q A10) como meio de dissolução, e pá como dispositivo de agitação, com velocidade de 50 RPM, mantida a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, num tempo de 30 minutos. Para o teste foram utilizadas seis unidades do produto (FARMACOPEIA, 2010b).

Após o final do teste de dissolução, foi retirada uma alíquota de 10 mL de cada cuba com seringa de vidro, a amostra foi filtrada e submetida à quantificação. As leituras das amostras e da curva padrão do SQR-FB foram realizadas por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Visível Varian, Cary 50), no comprimento de onda de 242 nm, utilizando-se o mesmo solvente para ajuste do zero (FARMACOPEIA, 2010b).

3.2.10 Caracterização dos excipientes

Para o preparo das pastilhas cerca de 2 mg de cada excipiente (fosfato de cálcio dibásico, celulose microcristalina, amido glicolato de sódio, ácido esteárico, estearato de magnésio e talco) foi triturado com 200 mg de brometo de potássio de grau espectroscópico (J.T.Baker, lote: G18588, validade: 15/05/2013), previamente dessecados. As determinações foram realizadas em espectrofotômetro de

infravermelho por transformada de fourier (Shimadzu, FTIR - 8400), na faixa entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

3.3 FASE 2: DESENVOLVIMENTO - ESTUDOS PARA O ESTABELECIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA

3.3.1 Estudo de homogeneidade

Para avaliação da homogeneidade do lote de prednisona 10 mg produzido pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha, foram selecionados aleatoriamente 14 frascos contendo 30 comprimidos cada. As amostras foram analisadas em triplicata, num total de 42 medições. Todas as séries de medições foram sob condições de repetitividade.

Os frascos retirados para este estudo foram os de número: 4, 9, 14, 19, 24, 29, 34, 39, 44, 49, 54, 59, 64, 69.

A quantificação dos comprimidos de prednisona foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado cromatógrafo (Dionex, Ultimate 3000), provido de detector por ultravioleta a 254 nm; coluna Symmetry[®] C18 nas dimensões de 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 μm de tamanho de partícula, lote:0240392532, mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1,0 mL/ minuto, fase móvel composta de uma mistura de água tipo I, tetrahidrofurano para CLAE (Merck, lote: I581201, validade: 31/03/2014) e metanol para CLAE (J.T.Baker, lote: J16C01, validade: 23/04/2015) na respectiva proporção (688:250:62) (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Foram retirados aleatoriamente e pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205) três comprimidos de prednisona de cada frasco. Posteriormente, cada comprimido foi transferido para balão volumétrico de 50 mL e foram acrescentados 20 mL de diluente, metanol:água tipo I (1:2). O balão volumétrico foi deixado no ultrassom (Branson, 3510), por 20 minutos. Decorrido o tempo, o volume foi completado com o diluente e foram transferidos 2,5 mL desta solução para balão

volumétrico de 25 mL e foi adicionado o diluente, após foi homogeneizado e filtrado. Separadamente, foram injetados 10 µL da curva padrão e das amostras, os cromatogramas foram registrados e foi calculada a quantidade de prednisona nos comprimidos (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

A análise estatística foi realizada pela utilização da análise de variância (ANOVA) com fator único. As amostras podem ser consideradas adequadamente homogêneas, se for atendido o critério da ANOVA.

3.3.2 Estudo de estabilidade

Foi realizado o estudo de curta duração do material (condições de transporte) e o de longa duração do material (condições de armazenamento).

A estabilidade em curta duração foi desenhada no modelo isócrono, na temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$ (temperatura de estudo), e o de longa duração no modelo clássico, na temperatura de armazenamento/ referência entre 20°C e 25°C .

O estudo de *estabilidade em curta duração* foi realizado no período de dois meses, sendo oito frascos selecionados aleatoriamente. A cada período de tempo 15, 30, 45 e 60 dias, dois frascos foram armazenados na temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$. No 60º dia, os oito frascos foram retirados da estufa e o teor foi determinado em triplicata. Além dos frascos armazenados a $50 \pm 2^\circ\text{C}$ para cada item da comparação, o teor de dois frascos que não foram colocados na estufa, também foi determinado (representativo do tempo zero), que estava à temperatura de referência.

Os itens de ensaio retirados para o estudo de curta duração foram os frascos de número: 11 e 16 (tempo zero), 21, 26, 31, 36, 41, 46, 51, 56.

A estabilidade em curta duração foi repetida na temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ (temperatura de estudo). O estudo de *estabilidade em curta duração* foi realizado no período de um mês, sendo oito frascos selecionados aleatoriamente. A cada período de tempo 7, 14, 22, e 30 dias, dois frascos foram armazenados na temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$. No 30º dia, os oito frascos foram retirados da estufa e o teor foi determinado em triplicata. Além dos frascos armazenados a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ para cada item da comparação, o teor de dois frascos que não foram colocados na estufa, também

foi determinado (representativo do tempo zero), que estava à temperatura de referência.

Os itens de ensaio retirados para o estudo de curta duração foram os frascos de número: 11 e 16 (tempo zero), 20, 25, 32, 37, 40, 45, 52, 57.

As medições foram realizadas no mesmo experimento, sob condições de repetitividade, sendo em uma única corrida no final do estudo. Desta forma a dispersão dos dados foi minimizada com o alcance de melhores resultados.

A análise quantitativa dos comprimidos de prednisona foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado cromatógrafo (Dionex, Ultimate 3000), provido de detector por ultravioleta a 254 nm; coluna Symmetry[®] C18 nas dimensões de 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 µm de tamanho de partícula, lote:0240392532, mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1,0 mL/ minuto, fase móvel composta de uma mistura de água tipo I, tetrahydrofurano para CLAE (Merck, lote: I581201, validade: 31/03/2014) e metanol para CLAE (J.T.Baker, lote: J16C01, validade: 23/04/2015) na respectiva proporção (688:250:62) (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Foram retirados aleatoriamente e pesados em balança analítica (Mettler Toledo, AX 205) três comprimidos de prednisona de cada frasco. Posteriormente, cada comprimido foi transferido para balão volumétrico de 50 mL e foram acrescentados 20 mL de diluente, metanol:água tipo I (1:2). O balão volumétrico foi deixado no ultrassom (Branson, 3510), por 20 minutos. Decorrido o tempo o volume foi completado com o diluente e foram transferidos 2,5 mL desta solução para balão volumétrico de 25 mL e foi adicionado o diluente, depois foi homogeneizado e filtrado. Separadamente, foram injetados 10 µL da curva padrão e das amostras, os cromatogramas foram registrados e foi calculada a quantidade de prednisona nos comprimidos (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

O estudo de estabilidade de longa duração, na temperatura de armazenamento entre 20°C e 25°C teve a duração de um ano. No tempo zero do estudo, os frascos analisados, foram os mesmos utilizados na estabilidade de curta duração, os de número 11 e 16.

Ao longo do estudo e em períodos pré-estabelecidos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 meses) dois frascos foram retirados do local de armazenamento e foi determinado seu teor em triplicata. Os itens de ensaio retirados para o estudo de

longa duração foram os frascos de número: 2, 6, 10, 15, 18, 22, 30, 34, 38, 42, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98 e 100.

As medições foram realizadas sob condições de reprodutibilidade, ou seja, a estabilidade de longa duração dos comprimidos de prednisona foi conhecida a cada análise. A quantificação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência conforme condições cromatográficas utilizadas na estabilidade de curta duração.

O critério de avaliação utilizado foi o *valor p* da regressão, que deveria ser maior que 0,05, para considerar os itens de ensaio estáveis para o propósito. O fator *t* de Student foi outro critério utilizado na estabilidade (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b).

3.4 FASE 3 :CERTIFICAÇÃO – CARACTERIZAÇÃO DO MR

3.4.1 Estudo interlaboratorial para caracterização dos comprimidos de prednisona

Na avaliação da caracterização, a medição foi realizada por meio de estudo interlaboratorial, ou seja, medições envolvendo uma rede de laboratórios competentes utilizando um método de medição específico.

Neste caso, o estudo foi realizado para determinar a dissolução dos comprimidos de prednisona, e assim estabelecer a faixa de liberação do fármaco, que será utilizado para qualificação do dissolutor.

Os comprimidos de prednisona utilizados neste estudo foram formulados e comprimidos pelo LFM, envasados no INCQS em frasco âmbar, contendo 30 comprimidos cada frasco. Os frascos receberam um código conforme a ordem de preparo, sendo um para o primeiro frasco e cem para o último frasco. Os frascos foram armazenados a temperatura entre 20°C e 25°C.

Sete laboratórios aceitaram o convite para participar da etapa de certificação dos comprimidos de prednisona. Foi enviado a cada laboratório um frasco de amostra, contendo comprimidos de prednisona, e outro frasco de padrão de

prednisona. Para a determinação da dissolução dos comprimidos de prednisona, cada participante deste estudo interlaboratorial utilizou a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira. Os resultados foram registrados em formulário, protocolo técnico, que se encontra inserido no apêndice M e os resultados enviados por E-mail.

O método empregado para determinação do tempo de dissolução dos comprimidos foi realizado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira, utilizando-se equipamento específico de dissolução e o aparelho preparador de meio, e 500 mL de água tipo I como meio de dissolução, e pá como dispositivo de agitação, com velocidade de 50 RPM, mantida a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, num tempo de 30 minutos. Para o teste foram utilizadas seis unidades do produto (FARMACOPEIA, 2010b).

Após o final do teste de dissolução, foi retirada uma alíquota de 10 mL de cada cuba com seringa de vidro, a amostra foi filtrada e foi realizada a quantificação. As leituras das amostras e da curva padrão do SQR-FB foram realizadas por espectrofotometria, no comprimento de onda de 242 nm, e foi utilizado o mesmo solvente para ajuste do zero. Após os espectros foram registrados e foi calculada a quantidade liberada dos comprimidos de prednisona (FARMACOPEIA, 2010b).

Posteriormente o procedimento descrito foi repetido, sendo que neste caso, ocorreu a substituição do aparato pá pelo cesto.

3.4.2 Caracterização dos comprimidos de prednisona por dois métodos de referência independentes

A caracterização dos comprimidos de prednisona por dois métodos de referência independentes foi realizada para estabelecer um valor de referência para o ensaio de dissolução do aparato cesta e pá, sendo este resultado utilizado também na comparação interlaboratorial.

Para esta caracterização foram selecionados três itens de ensaio, os frascos de número 05, 47 e 93.

O método de dissolução que foi empregado para determinação do tempo de dissolução dos comprimidos de prednisona foi conforme Farmacopeia Brasileira. Foi

utilizado equipamento específico de dissolução (Hanson, SR8 Plus) e o aparelho preparador de meio (Media-Mate Plus Hanson, MMP-40L), e 500 mL de água tipo I como meio de dissolução, e pá como dispositivo de agitação, com velocidade de 50 RPM, mantidos a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, num tempo de 30 minutos. Após o final do teste foi coletada e filtrada uma alíquota de 15 mL em cada cuba com seringa de vidro e foram realizadas as leituras das amostras e da curva padrão do SQR-FB, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Visível Varian, Cary 50), no comprimento de onda de 242 nm, e foi utilizada água tipo I para ajuste do zero (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Neste mesmo teste, foram realizadas as leituras das amostras e da curva padrão do SQR-FB em cromatografia líquida de alta eficiência. Foi utilizado cromatógrafo (Dionex, Ultimate 3000), provido de detector por ultravioleta a 254 nm; coluna Symmetry[®] C18 nas dimensões de 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno, 5 μm de tamanho de partícula, lote:0240392532, mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1,0 mL/ minuto, fase móvel composta de uma mistura de água tipo I, tetrahidrofurano para CLAE (Merck, lote: I581201, validade: 31/03/2014) e metanol para CLAE (J.T.Baker, lote: J16C01, validade: 23/04/2015) na respectiva proporção (688:250:62) e separadamente injetado 50 μL da curva padrão e das amostras, os cromatogramas registrados e após calculada a quantidade liberada dos comprimidos de prednisona (FARMACOPEIA, 2010b; THE UNITED, 2012b).

Posteriormente, o procedimento descrito foi repetido, sendo que neste caso, ocorreu a substituição do aparato pá pelo cesto.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DOS COMPRIMIDOS DE PREDNISONA 20 mg

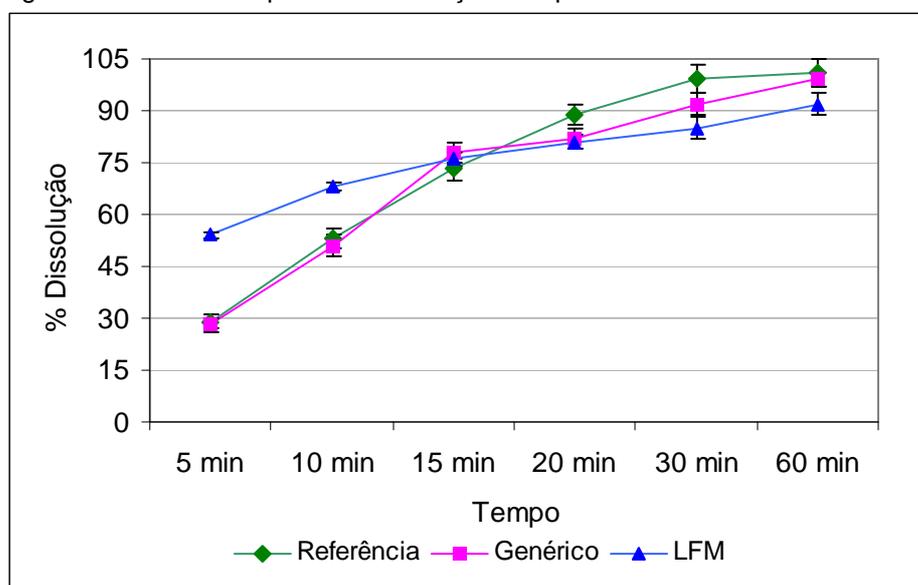
Os medicamentos referência, genérico e LFM que contém 20 mg de prednisona foram submetidos ao perfil de dissolução. Os resultados encontram-se apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Resultados percentuais do princípio ativo liberado no perfil de dissolução dos produtos estudados

	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	60 min
Referência	29%	53%	73%	89%	99%	101%
Genérico	28%	51%	78%	82%	92%	99%
LFM	54%	68%	76%	81%	85%	92%

A figura 10 mostra a curva que foi obtida para o perfil de dissolução de cada medicamento.

Figura 10 - Gráfico do perfil de dissolução dos produtos estudados



Fonte: Do autor, 2013.

Como a liberação dos produtos estudados foi muito rápida, praticamente em 15 minutos foi alcançado o valor da especificação, não menos que 80% do declarado se dissolve em 30 minutos. Este resultado seria um impedimento da sua utilização como material de referência.

4.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE COMPRIMIDOS DE PREDNISONA 10 mg

Inicialmente foram produzidos 1.000 comprimidos de prednisona 10 mg pelo LFM, formulação 1, para realização do perfil de dissolução. A formulação 1 apresentou resultados de perfil de dissolução muito semelhante ao material de referência da USP, porém durante o processo de produção destes comprimidos, houve um baixo escoamento do pó, o que dificultou e gerou perdas na compressão. Assim, tornou-se necessário introduzir modificações na formulação do produto.

O FDA elaborou um guia que define essas alterações em grandes ou pequenas modificações. Ao acrescentar o antiaderente talco $\leq 1\%$, tivemos uma modificação na composição da formulação considerada pelo FDA como pequena alteração (FDA, 1995).

Devido a este fato, foi realizado um ajuste na formulação para possibilitar um melhor escoamento, e a opção encontrada foi a adição de 0,5% de talco na formulação e a retirada de 0,5% da celulose microcristalina, obtendo-se uma nova composição, considerada como formulação 2.

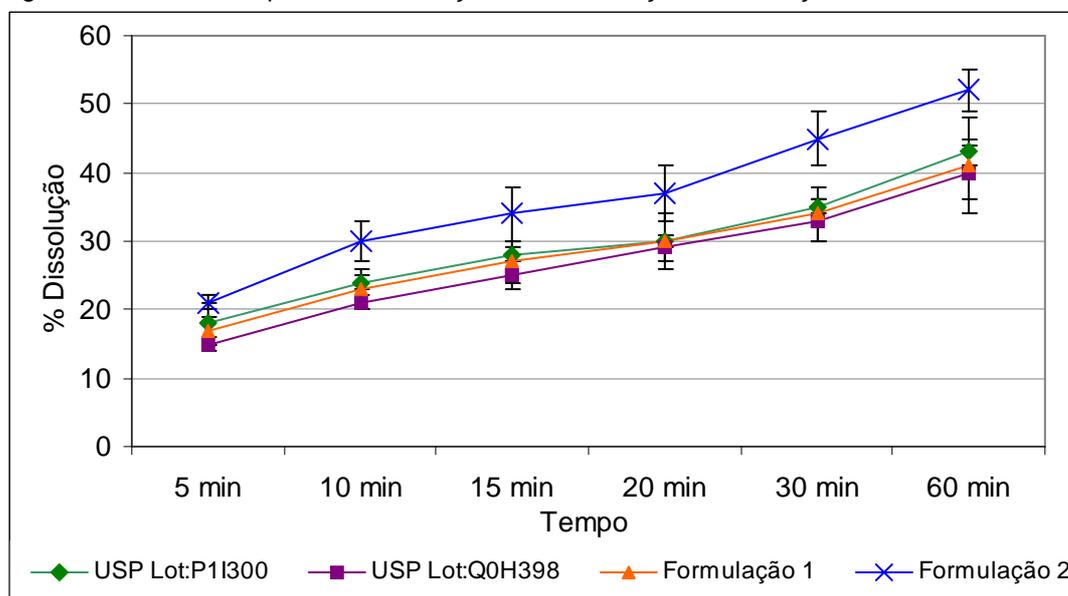
O perfil de dissolução das formulações 1 e 2 também foi comparado com o perfil do comprimido referência de prednisona 10 mg, padrão da Farmacopeia Americana, lote: P1I300 e Q0H398. Os resultados encontram-se apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Resultados do perfil de dissolução das formulações em comparação com o MR da USP

	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	60 min
USP Lot: P1I300	18%	24%	28%	30%	35%	43%
USP Lot: Q0H398	15%	21%	25%	29%	33%	40%
Formulação 1	17%	23%	27%	30%	34%	41%
Formulação 2	21%	30%	34%	37%	45%	52%

A figura 11 mostra a comparação entre o perfil de dissolução das formulações em relação ao material de referência da Farmacopeia Americana.

Figura 11 - Gráfico do perfil de dissolução das formulações em relação ao MR da USP



Fonte: Do autor, 2013.

Posteriormente, a formulação 2 que apresentou melhor escoamento, foi analisada, e os resultados gerados pela avaliação físico-química dos comprimidos de prednisona 10 mg, estão apresentados na tabela 4

Tabela 4 - Resultados da avaliação físico-química da formulação 2

Testes realizados	Resultados	Especificações
Identificação	positiva	De acordo com prednisona SQR
Peso médio	226,04 ± 2,82 mg/comprimido	Não se aplica
Limite de variação de peso	Varição máxima: 1,3% Varição mínima: 3,0%	± 7,5% do peso médio
Friabilidade	0,1% de perda de peso	Perda inferior a 1,5% do seu peso
Desintegração	Todos os comprimidos desintegraram em 30 segundos	Todos os comprimidos devem estar completamente desintegrados em 30 minutos
Teor	10,05 ± 0,13 mg/comprimido 100,5% do declarado	(90 - 110)%
Uniformidade de conteúdo	*VA= 8,2	VA menor ou igual 15,0
Dissolução	46 ± 5% do declarado se dissolve em 30 minutos	Não se aplica

*VA - Valor de Aceitação

Como os resultados obtidos na análise da formulação 2 foram satisfatórios, esta foi utilizada como candidato a material de referência. O espectro de infravermelho da prednisona encontra-se no apêndice A.

4.2.1 Caracterização dos excipientes da formulação 2

A formulação do comprimido de prednisona desenvolvido no LFM, utilizado neste estudo, apresenta os excipientes: fosfato de cálcio dibásico, celulose

microcristalina, amido glicolato de sódio, ácido esteárico, estearato de magnésio e talco. Os espectros de infravermelho dos excipientes estão no apêndice B, C, D, E, F e G, respectivamente. Ao comparar o espectro do padrão com o da matéria prima constatou-se bandas semelhantes entre eles.

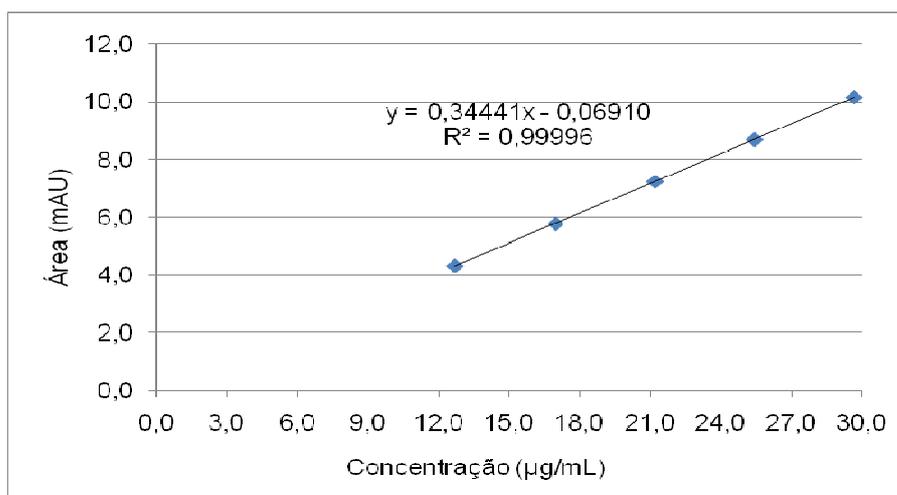
4.3 FASE 2: DESENVOLVIMENTO - ESTUDOS PARA O ESTABELECIMENTO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA

4.3.1 Estudo de homogeneidade

O estudo de homogeneidade do candidato a MR é um dos fatores preponderantes para a garantia da manutenção das propriedades físico-químicas do material estudado. O estudo de homogeneidade da prednisona foi realizado de acordo com a ISO GUIA 35 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b), e as medições foram realizadas por CLAE de acordo com a Farmacopeia Brasileira e Americana.

A figura 12 mostra a curva padrão de prednisona para o estudo de homogeneidade dos comprimidos de prednisona. O cromatograma da prednisona na homogeneidade está no apêndice H.

Figura 12 - Gráfico da curva padrão de prednisona para o estudo de homogeneidade



Fonte: Do autor, 2013.

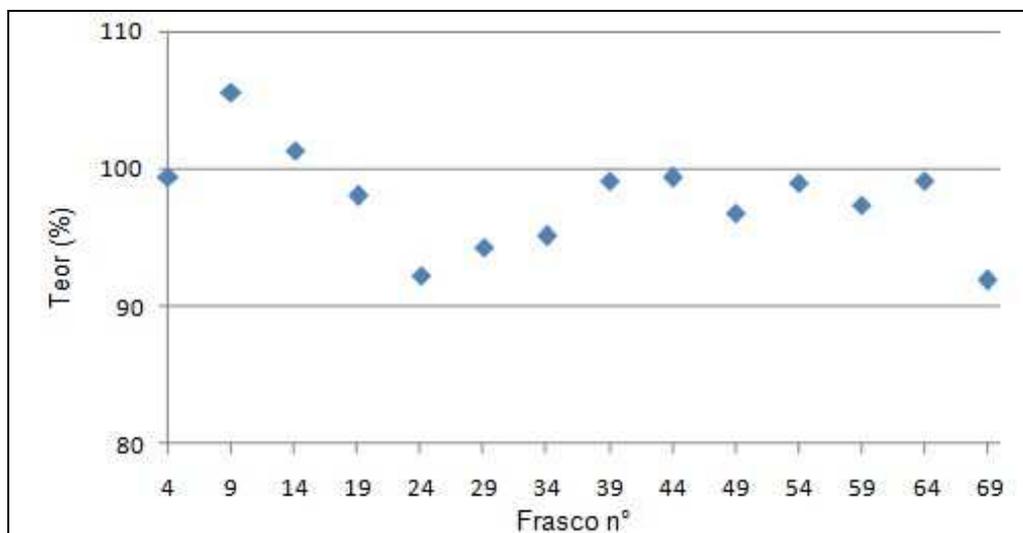
Estes dados foram utilizados no cálculo das medições. A tabela 5 apresenta os resultados encontrados nas medições do teor dos comprimidos de prednisona, de quatorze frascos escolhidos aleatoriamente.

Tabela 5 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de homogeneidade

Frasco nº	Alíquota 1 (%)	Alíquota 2 (%)	Alíquota 3 (%)	Média (%)	Desvio padrão
4	95,06	104,34	98,79	99,40	4,67
9	116,44	99,08	101,26	105,59	9,46
14	101,37	103,65	98,87	101,30	2,39
19	102,49	94,33	97,19	98,00	4,14
24	97,67	89,50	89,39	92,19	4,75
29	94,12	91,98	96,77	94,29	2,40
34	89,41	105,07	90,81	95,10	8,66
39	87,80	102,22	107,41	99,14	10,16
44	100,21	96,85	100,96	99,34	2,19
49	102,40	107,34	80,65	96,80	14,20
54	102,98	96,39	97,54	98,97	3,52
59	93,07	99,91	99,00	97,33	3,71
64	99,79	101,37	96,20	99,12	2,65
69	93,00	85,59	96,99	91,86	5,78

A figura 13 demonstra uma tendência maior dos resultados estarem entre 90 e 100%.

Figura 13 - Gráfico das médias dos resultados dos frascos no estudo de homogeneidade



Fonte: Do autor, 2013.

Os resultados da tabela 5 foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) com fator único, utilizando-se o software Microsoft Excel[®]. Na tabela 6 estão descritos os valores dessa avaliação.

Tabela 6 - Resultados da ANOVA na homogeneidade da prednisona

Fonte de variação	Soma de quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática (MQ)	F	valor-p	F crítico
Entre grupos	511,3480286	13	39,33446	0,89712921	0,565893	2,088929
Dentro dos grupos	1227,6548	28	43,84481			
Total	1739,002829	41				

Para estimar a incerteza referente à homogeneidade dos comprimidos, as equações 3 e 4 foram utilizadas no cálculo.

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{entre} - MQ_{dentro}}{n}} \quad \text{equação (3)}$$

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{gl_{dentro}}} \quad \text{equação (4)}$$

Ao substituir os valores da tabela 6 nas equações 3 e 4, tem-se respectivamente $u_{bb} = 1,23\%$ mg/mg e $u_{bb} = 1,98\%$ mg/mg.

No cálculo da estimativa de incerteza da homogeneidade foi considerado o maior valor de u_{bb} , logo u_{homog} igual a 1,98% mg/mg. Assim, a contribuição percentual da incerteza da homogeneidade foi expressa pela equação 6.

$$\%H = \left(\frac{u_{homog}}{média\ geral} \right) \cdot 100 \quad \text{equação (6)}$$

Sendo a média geral equivalente a 97,74%, temos %H igual a 2,02%, este valor foi à contribuição da heterogeneidade do lote em estudo. Este percentual é aceitável de acordo com a ISO GUIA 35 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2012b), o que confirma a homogeneidade do lote.

A repetitividade do método (s_r) também foi avaliada, sendo calculada pela equação abaixo:

$$s_r = \sqrt{MQ_{dentro}}$$

Substituindo os valores da tabela 6 nesta equação, temos s_r igual a 6,62. A repetitividade do método contribuiu com 6,77% para a homogeneidade.

Os resultados obtidos para o estudo de homogeneidade da prednisona estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Resultados do estudo da homogeneidade da prednisona

$U_{bb}=S_{bb}$	S_r (%)	%H	U_{homog}
1,98% mg/mg	6,77	2,02	1,98% mg/mg

A norma ISO 13528 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION, 2005) foi utilizada, pois fornece procedimentos para avaliar se o material de referência produzido para o Ensaio de Proficiência (EP) está adequadamente homogêneo e estável para o propósito.

O procedimento para a determinação do grau de homogeneidade abordado na norma ISO 13528 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION, 2005) foi realizado conforme as seguintes etapas:

1) Foi calculada a média, $x_{t,k}$, entre as duas alíquotas de teste ($x_{t,1}$ e $x_{t,2}$), para cada amostra, e em seguida, foi calculado a média geral, \bar{x} , definida como a média das médias de cada amostra. Sendo que t representa o número da amostra ($t=1, 2, \dots, g$) e k o número da replicata ($k=1, 2$). A partir destes valores, foi calculado o desvio padrão das médias das amostras, s_x .

$$s_x = \sqrt{\sum (x_t - \bar{x})^2 / (g - 1)} \quad \text{equação (7)}$$

2) Foi calculado o valor absoluto da amplitude w_t para cada amostra (dentro-das-amostras), diferença entre as porções de teste da amostra.

$$w_t = |x_{t,1} - x_{t,2}| \quad \text{equação (8)}$$

3) Dos valores definidos acima, foi calculado o desvio padrão dentro das amostras s_w e o desvio padrão entre as amostras s_s

$$s_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)} \quad \text{equação (9)}$$

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} \quad \text{equação (10)}$$

4) As amostras podem ser consideradas adequadamente homogêneas para o ensaio de proficiência, se $S_s \leq 0,3 \sigma$, onde, σ é o desvio padrão alvo.

5) Foi atribuído o valor para o desvio padrão alvo do critério de aceitação, que foi o de Horwitz modificado por Thompson, onde foi levado em consideração a concentração média de todos os resultados obtidos no estudo de homogeneidade. Onde, c deve ser expresso como uma grandeza adimensional (THOMPSON, 2000), conforme as equações 11, 12 e 13:

i) Se c (concentração) $> 0,138$

$$\sigma = 0,01c^{0,5} \quad \text{equação (11)}$$

ii) Se $1,2 \times 10^{-7} \leq c$ (concentração) $\leq 0,138$

$$\sigma = 0,02c^{0,8495} \quad \text{equação (12)}$$

iii) Se c (concentração) $< 1,2 \times 10^{-7}$

$$\sigma = 0,22c \quad \text{equação (13)}$$

O desvio padrão alvo (σ) foi calculado através da função Horwitz modificado por Thompson, $\sigma = 0,02c^{0,8495}$.

Os resultados obtidos para o estudo de homogeneidade da prednisona pela norma ISO 13528 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION, 2005) estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 - Resultados da avaliação pela norma ISO 13528

S_x	W_t	S_w	S_s	σ	Homogeneidade
0,3871	1,9481	0,37698	0,2807	1,10565	Suficientemente homogêneo

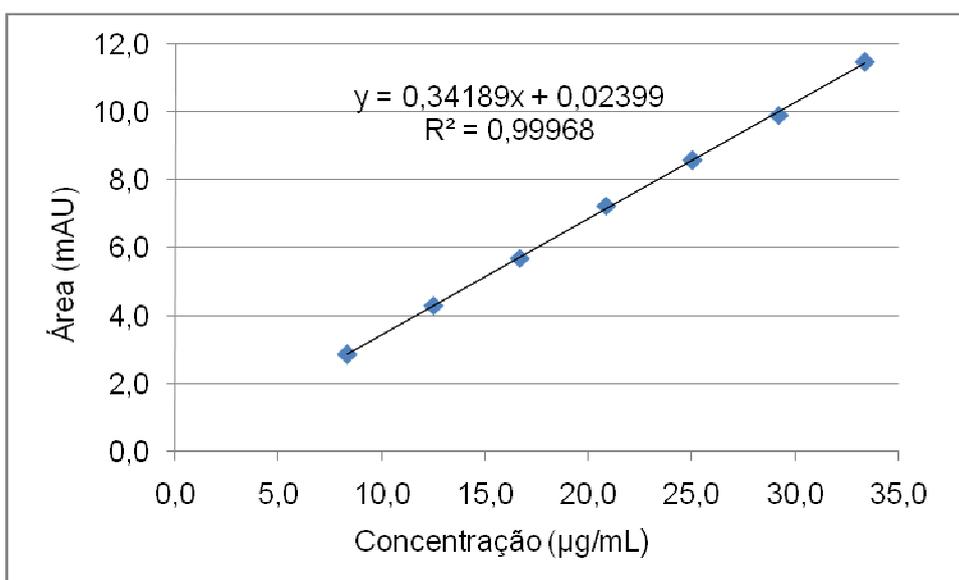
4.3.2 Estudo de estabilidade

A estabilidade demonstra a capacidade do material de referência em manter o valor de uma determinada propriedade dentro de limites especificados por um período de tempo preestabelecido, quando estocado nas condições especificadas.

A estabilidade de curta duração foi realizada para avaliar o comportamento do comprimido de prednisona durante o transporte.

Foi realizada uma curva padrão para executar o estudo de estabilidade dos comprimidos de prednisona. A figura 14 mostra a equação da reta obtida, e o cromatograma da prednisona na estabilidade está no apêndice I.

Figura 14 - Gráfico da curva padrão de prednisona para o estudo da estabilidade



Fonte: Do autor, 2013.

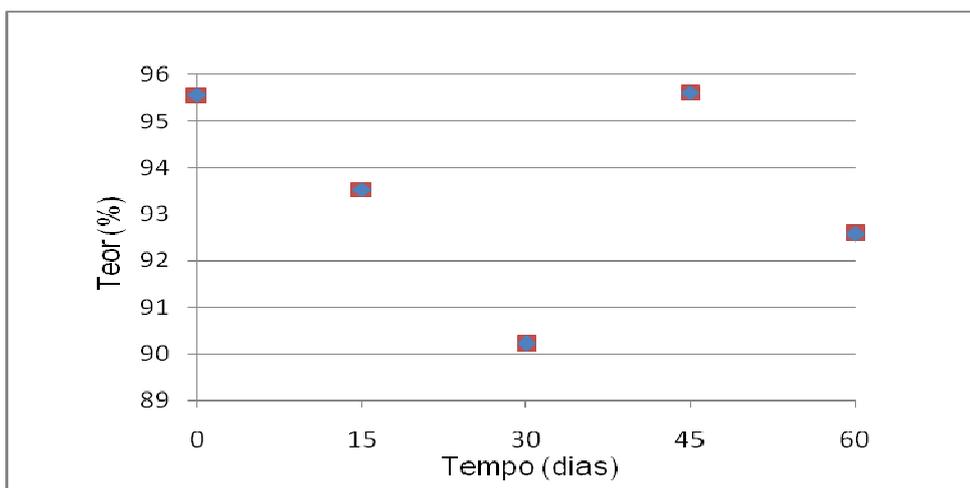
A tabela 9 apresenta os resultados do teor de prednisona de dez frascos escolhidos aleatoriamente. Os frascos foram armazenados na temperatura de $50 \pm 2^\circ\text{C}$ e analisadas no mesmo experimento sob condições de repetitividade.

Tabela 9 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C

Frasco n°	Alíquota 1 (%)	Alíquota 2 (%)	Alíquota 3 (%)	Média (%)	Tempo (dias)
11	99,49	97,18	95,58	95,57	0
16	93,59	93,11	94,44		
51	97,01	89,03	92,04	93,53	15
56	96,07	90,67	96,37		
41	89,07	94,84	89,83	90,23	30
46	91,51	88,49	87,62		
31	95,73	97,89	98,35	95,61	45
36	91,06	95,09	95,54		
21	94,12	96,33	97,40	92,58	60
26	86,96	88,80	91,89		

A figura 15 demonstra que não existe tendência nos resultados da estabilidade de curta duração.

Figura 15 - Gráfico das médias dos resultados do teor de prednisona dos frascos aleatórios no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C



Fonte: Do autor, 2013.

A tabela 10 apresenta os resultados da regressão linear do software Microsoft Excel®, aplicados aos valores do teor de prednisona em função do tempo.

Tabela 10 - Regressão linear para a verificação da estabilidade de curta duração da prednisona a 50°C

Estatística de regressão				
R múltiplo	0,273880727			
R-Quadrado	0,075010652			
R-quadrado ajustado	-1,666666667			
Erro padrão	2,500407967			
Observações	1			

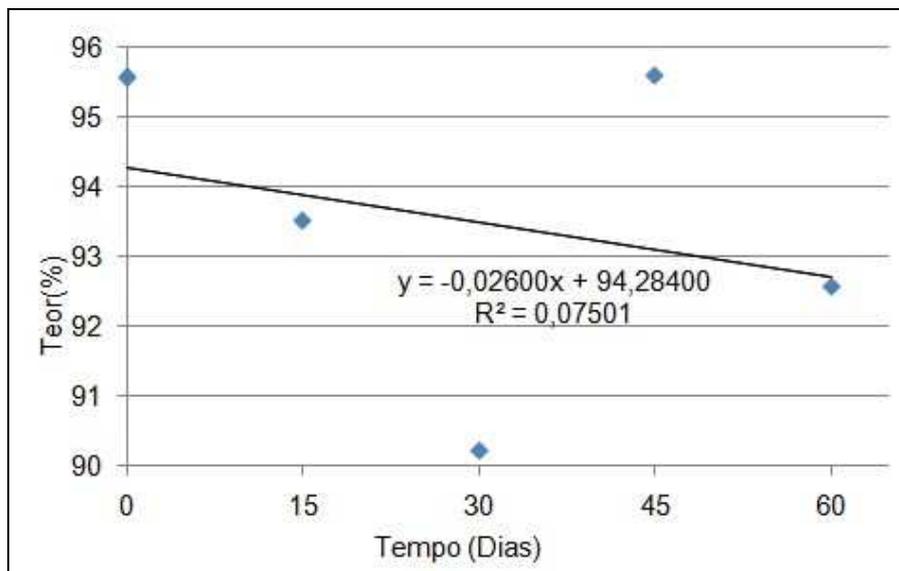
ANOVA				
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
Regressão	5	1,521	0,3042	0,2432806
Resíduo	3	18,75612	6,25204	
Total	8	20,27712		

	Coeficientes	Erro padrão	Stat t (t_{calculado})	valor-p
Interseção	94,284	1,93680768	48,6801	1,909E-05
Variável X1	-0,026	0,05271323	-0,49323	0,6556942

A avaliação estatística para testar a significância da regressão da estabilidade de curta duração, durante o intervalo de tempo estudado foi observada através do valor-p. O valor p da variável x1 foi maior que 0,05 indicando que a inclinação da regressão linear foi considerada insignificante e não houve tendência. Conseqüentemente, nenhuma instabilidade foi observada neste lote de prednisona.

A figura 16 demonstra o gráfico com a equação da reta para a estabilidade de curta duração a 50°C, que relaciona o teor (%) dos comprimidos de prednisona em função do tempo (dias).

Figura 16 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de curta duração a 50°C



Fonte: Do autor, 2013.

A significância da inclinação da regressão, b_1 , também pode ser estatisticamente testada através da aplicação do fator t de student, para $n - 2$ graus de liberdade e $p = 0,95$, sendo calculada pela equação 18:

$$|b_1| < t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$$

equação (18)

Sendo t de student igual a 3,18, o resultado da multiplicação deste valor por $s(b_1)$ (erro padrão da variável x_1), foi igual a 0,168, e temos $|b_1|$ igual a 0,026. Logo o critério do fator t de student foi atendido, pois $0,026 < 0,168$, o que indica que os comprimidos de prednisona apresentam estabilidade garantida, ou seja, a inclinação da regressão é insignificante.

A partir dos dados da tabela 10, a estimativa de incerteza referente à estabilidade de curta duração foi calculada pela equação 19, onde o erro padrão foi multiplicado pelo tempo de estudo dos comprimidos de prednisona.

$$u_{\text{est curta}} = s(b_1) \cdot t$$

equação (19)

Ao substituir os valores da tabela 10 na equação 15, temos $u_{\text{est curta}}$ igual a 3,16% mg/mg.

Com a execução das medições para a estabilidade de curta duração a 50°C foi percebida uma rigidez maior dos comprimidos de prednisona, sendo necessário aumentar o tempo de permanência no ultrassom, o que permitiu que o comprimido abrisse e o fármaco fosse liberado.

Assim foi verificada a necessidade de realizar o perfil de dissolução dos comprimidos que estavam na estufa a 50°C. A comparação do perfil destes comprimidos com os que estavam a temperatura ambiente, está mostrado na tabela 11.

Tabela 11 - Resultado do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona

Temperatura	15 min	30 min	45 min	60 min
ambiente	35%	46%	50%	52%
50°C	23%	33%	40%	45%

Devido à constatação de alteração do perfil de dissolução dos comprimidos que estavam a 50°C quando comparado com os que estavam em temperatura ambiente, foi necessário realizar o estudo de estabilidade de curta duração a temperatura de 40°C durante um mês.

A tabela 12 apresenta os resultados das medições do teor da prednisona. Os frascos foram armazenados na temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e analisadas no mesmo experimento sob condições de repetitividade.

Tabela 12 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de curta duração a 40°C

Frasco n°	Alíquota 1 (%)	Alíquota 2 (%)	Alíquota 3 (%)	Média (%)	Tempo (dias)
11	97,26	96,62	100,54	98,82	0
16	96,35	98,59	103,55		
52	99,95	92,41	96,41	96,34	7
57	97,11	98,83	93,33		
40	99,04	96,25	98,53	97,36	14
45	96,41	97,83	96,09		
32	97,29	94,65	101,00	99,39	22
37	99,38	101,44	102,56		
20	98,21	98,65	95,00	96,24	30
25	93,09	88,10	104,39		

Os resultados da regressão linear aplicados aos valores do teor de prednisona são mostrados na tabela 13.

Tabela 13 - Regressão linear para a verificação da estabilidade de curta duração da prednisona a 40°C

Estatística de regressão				
R múltiplo	0,232594713			
R-Quadrado	0,0541003			
R-quadrado ajustado	-1,666666667			
Erro padrão	1,606249053			
Observações	1			

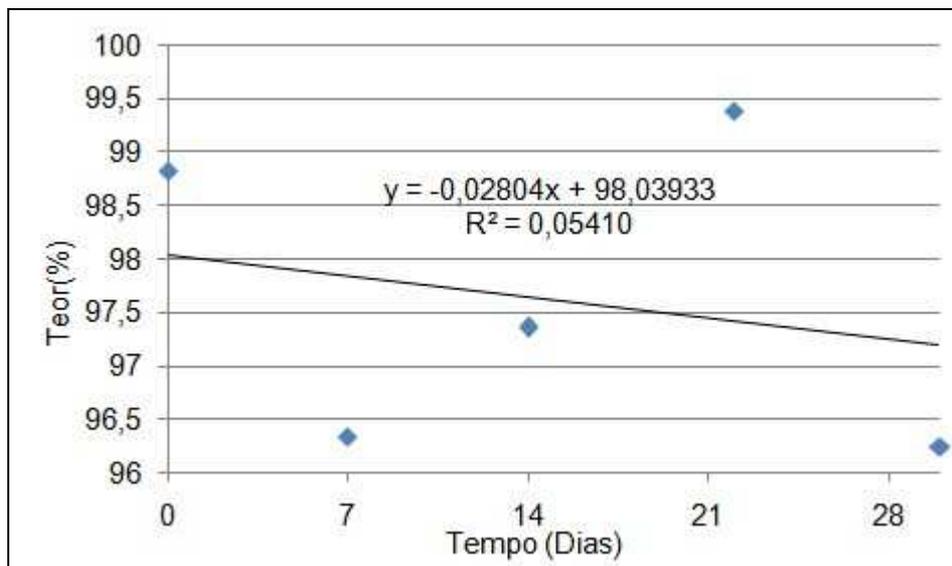
ANOVA				
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
Regressão	5	0,44269194	0,088538	0,1715836
Resíduo	3	7,74010806	2,580036	
Total	8	8,1828		

	Coeficientes	Erro padrão	Stat t (t_{calculado})	valor-p
Interseção	98,039	1,221679	80,24966	4,265E-06
Variável X1	-0,028	0,067683	-0,41423	0,7065435

A avaliação estatística para testar a significância da regressão da estabilidade de curta duração, durante o intervalo de tempo estudado é observada através do valor-p. O valor p da variável x1 foi maior que 0,05 indicando que a inclinação da regressão linear não é significativa e não há tendência, portanto, confirma a estabilidade do lote de prednisona.

A figura 17 demonstra o gráfico com a equação da reta para a estabilidade de curta duração a 40°C, que relaciona o teor (%) dos comprimidos de prednisona em função do tempo (dias).

Figura 17 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de curta duração a 40°C



Fonte: Do autor, 2013.

A significância da inclinação da regressão, b_1 , também pode ser estatisticamente testada através da aplicação do fator t de student, para $n - 2$ graus de liberdade e $p = 0,95$, sendo calculada pela equação 18:

$$|b_1| < t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$$

equação (18)

Sendo t de student igual a 3,18, o resultado da multiplicação deste valor por $s(b_1)$ (erro padrão da variável x_1), foi igual a 0,215, e temos $|b_1|$ igual a 0,028. Logo o critério do fator t de student foi atendido, pois $0,028 < 0,215$, o que indica que o material tem estabilidade garantida, ou seja, a inclinação da regressão é insignificante.

A partir dos dados da tabela 13, a estimativa de incerteza referente à estabilidade de curta duração foi calculada pela equação 19, multiplicando-se o erro padrão pelo tempo de estudo do material.

$$u_{\text{est curta}} = s(b_1) \cdot t$$

equação (19)

Ao substituir os valores da tabela 13 na equação 15, temos $u_{\text{est curta}}$ igual a 2,03% mg/mg.

A comparação do perfil de dissolução dos comprimidos que estavam na estufa a 40°C com os que estavam a temperatura ambiente, encontram-se apresentados na tabela 14.

Tabela 14 - Resultado do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona

Temperatura	15 min	30 min	45 min	60 min
ambiente	35%	46%	50%	52%
40°C	24%	32%	38%	41%

Tendo em vista que nas duas temperaturas de 50°C e 40°C o valor de p calculado foi maior do que 0,05, pode se afirmar que não houve diferença significativa entre os resultados das medições. Os valores encontrados no perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona nas temperaturas de 50°C e 40°C apresentaram resultados próximos. Além disso, os comprimidos que ficaram a 40°C não apresentaram rigidez igual aos que ficaram a temperatura de 50°C.

Outra constatação observada com os resultados do perfil de dissolução dos comprimidos de prednisona nas temperaturas de 50°C e 40°C, é que a melhor condição para os comprimidos de prednisona foi verificada a temperatura ambiente.

Neste caso, para o efeito da estabilidade de curta duração foi considerada a incerteza, $u_{\text{est curta}}$ igual a 2,03% mg/mg. Foram especificadas as condições adequadas de transporte dos comprimidos de prednisona, para reduzir assim o componente de incerteza referente à estabilidade.

O estudo de estabilidade de longa duração foi realizado para acompanhar o valor da propriedade de interesse de um material ao longo do tempo. A tabela 15 apresenta os resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de longa duração.

Tabela 15 - Resultados das medições do teor dos comprimidos de prednisona no estudo de estabilidade de longa duração

Frasco n°	Alíquota 1 (%)	Alíquota 2 (%)	Alíquota 3 (%)	Média (%)	Tempo (meses)
11	97,10	88,42	94,04	95,22	0
16	96,86	99,21	95,69		
2	86,45	87,63	90,30	92,38	1
6	96,52	96,37	96,99		
10	90,83	91,45	91,00	92,74	2
15	93,29	92,32	97,54		
18	96,52	95,44	100,44	98,47	3
22	102,00	100,26	96,17		
30	96,56	97,94	95,11	98,10	4
34	100,44	101,70	96,84		
38	91,69	96,75	100,24	97,70	5
42	98,04	100,21	99,25		
50	94,71	97,33	99,89	98,58	6
54	103,80	99,72	96,01		
58	95,19	99,89	97,03	96,73	7
62	95,61	99,64	93,02		
66	88,49	95,56	102,51	94,62	8
70	94,97	100,86	85,35		
74	101,52	99,76	99,10	98,12	9
78	90,72	98,21	99,40		
82	97,95	100,86	96,78	98,84	10
86	99,46	99,74	98,23		
90	95,31	100,69	93,81	97,74	11
94	97,60	98,25	100,80		
98	95,11	92,30	98,97	95,58	12
100	94,75	102,93	89,42		

Na tabela 16 são apresentados os resultados de regressão linear aplicada à média das medições em função do tempo de armazenamento do comprimido de prednisona.

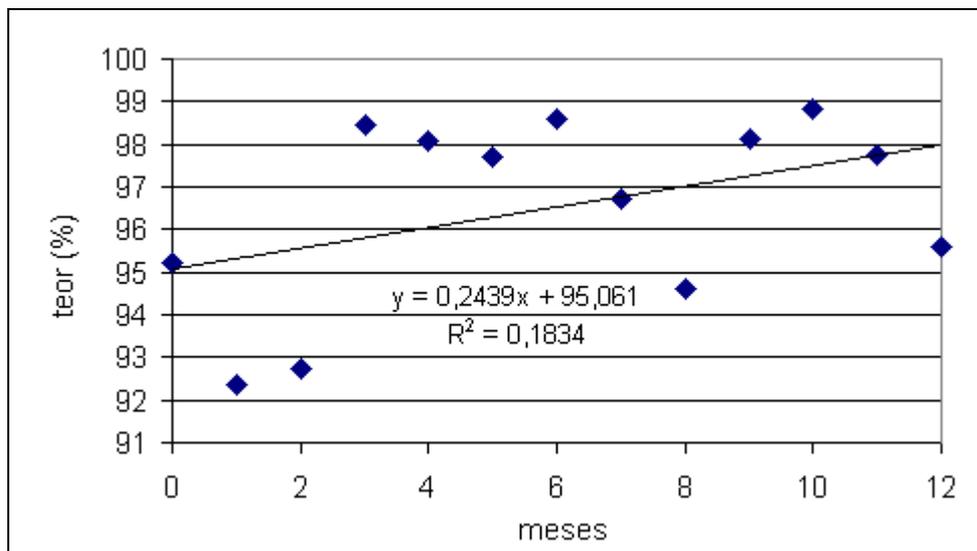
Tabela 16 - Dados da regressão linear da estabilidade de longa duração dos comprimidos de prednisona

Estatística de regressão				
R múltiplo	0,428279293			
R-Quadrado	0,183423152			
R-quadrado ajustado	-1,181818182			
Erro padrão	2,092997901			
Observações	1			
ANOVA				
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
Regressão	13	10,8239895	0,832615	2,4708693
Resíduo	11	48,1870424	4,38064	
Total	24	59,0110318		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t (t_{calculado})	valor-p
Interseção	95,06106593	1,09702898	86,65319	6,028E-17
Variável X1	0,24386978	0,15514333	1,5719	0,1442749

A análise estatística para testar a significância da regressão linear da estabilidade de longa duração, durante o intervalo de tempo estudado é observada através do valor-p. Como o valor de p da variável x1 foi maior que 0,05 indica que a inclinação da regressão linear não é significativa e não há tendência, portanto, confirma a estabilidade dos comprimidos de prednisona.

O gráfico com a equação da reta para a estabilidade de longa duração, que relaciona o teor (%) dos comprimidos de prednisona em função dos meses, está demonstrado na figura 18.

Figura 18 - Gráfico da análise de regressão do teor de prednisona em função do tempo no estudo de estabilidade de longa duração



Fonte: Do autor, 2013.

A significância da inclinação da regressão, b_1 , também pode ser estatisticamente testada através da aplicação do fator t de student, para $n - 2$ graus de liberdade e $p = 0,95$, sendo calculada pela equação 18:

$$|b_1| < t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$$

equação (18)

Como t de student foi igual a 2,20, o resultado da multiplicação deste valor por $s(b_1)$ (erro padrão da variável x_1), foi igual a 0,341, e temos $|b_1|$ igual a 0,244. Logo o critério do fator t de student foi atendido, pois $0,244 < 0,341$, o que indica que o material tem estabilidade garantida, ou seja, a inclinação da regressão é insignificante.

A partir dos dados de regressão linear da tabela 16, a incerteza inerente à estabilidade de longa duração foi calculada através da equação 19, pela multiplicação do erro padrão pelo tempo de estudo do material.

$$U_{\text{est longa}} = s(b_1) \cdot t$$

equação (19)

Os valores da tabela 16 foram substituídos na equação 19, tendo-se $U_{\text{est longa}}$ igual a 1,86% mg/mg. Este material foi considerado estável, por no mínimo um ano, a temperatura entre 20°C e 25°C.

4.4 FASE 3 :CERTIFICAÇÃO - CARACTERIZAÇÃO DO MR

4.4.1 Estudo interlaboratorial para caracterização dos comprimidos de prednisona

Inicialmente dez laboratórios foram convidados por telefone, mais apenas sete aceitaram o convite, os demais argumentaram que não poderiam realizar o ensaio de dissolução. Posteriormente foi enviada uma carta convite por E-mail para oficializar a participação no estudo interlaboratorial, juntamente com um cronograma contendo as atividades e seus prazos.

Os laboratórios participantes foram identificados como lab. 01, lab. 02, lab. 03, lab. 04, lab. 05, lab. 06 e lab. 07, de acordo com a ordem de confirmação do convite.

No prazo determinado pelo cronograma, os frascos com comprimidos de prednisona e do padrão SQR-FB foram enviados por SEDEX para estes laboratórios, e todos confirmaram o recebimento do material. Apenas cinco laboratórios enviaram o resultado dentro da data limite. O laboratório de nº 02 realizou dois ensaios de dissolução para cada aparato, cesta e pá. Depois do prazo, dois laboratórios remanescentes foram contactados e apenas um enviou o resultado. O laboratório de nº 06 não conseguiu realizar o ensaio, pois o espectrofotômetro estava com defeito.

Os resultados encontrados pelos seis laboratórios colaboradores estão de acordo com os determinados no INCQS. Na tabela 17 são apresentados os valores enviados pelos laboratórios para o aparato cesta.

Tabela 17 - Resultados enviados pelos participantes da comparação interlaboratorial do ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg e avaliação estatística dos dados do aparato 1 (cesta)

Laboratórios	01	02	02	03	04	05	07	INCQS
Itens	89	35	35	06	03	53	81	-
Cuba 1	87,63%	65,00%	51,00%	82,18%	72,10%	53,80%	65,00%	56,15%
Cuba 2	89,40%	52,00%	63,00%	74,71%	70,10%	48,54%	62,00%	65,88%
Cuba 3	64,33%	61,00%	62,00%	80,08%	70,40%	61,16%	71,00%	71,67%
Cuba 4	79,78%	57,00%	58,00%	69,34%	72,50%	55,09%	74,00%	62,33%
Cuba 5	79,59%	58,00%	56,00%	82,88%	69,50%	50,56%	70,00%	63,52%
Cuba 6	79,52%	50,00%	58,00%	80,78%	72,00%	53,64%	60,00%	57,73%
Média	80,04%	57,17%	58,00%	78,33%	71,10%	53,80%	67,00%	62,88%
Z-score	1,32	-0,84	-0,76	1,16	0,48	-1,16	0,09	-0,30

O índice Z foi calculado para avaliação dos resultados dos laboratórios:

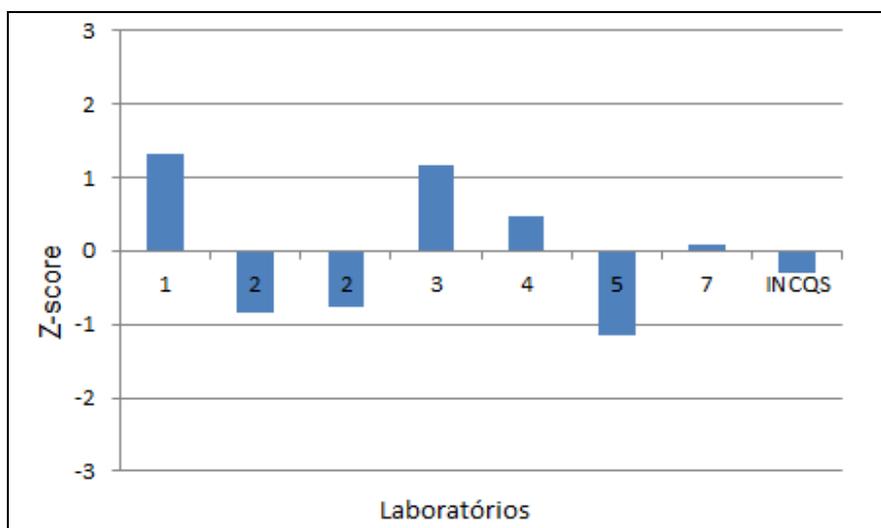
$|z| \leq 2$ - resultado satisfatório

$2 < |z| < 3$ - resultado questionável

$|z| \geq 3$ - resultado insatisfatório

Assim, de acordo com os resultados obtidos para o aparato cesta, nenhum laboratório participante obteve resultado questionável para o item analisado, conforme demonstrado na figura 19.

Figura 19 - Gráfico de Z-score dos laboratórios participantes do interlaboratorial do ensaio de dissolução dos comprimidos de prednisona aparato 1 (cesta)



Fonte: Do autor, 2013.

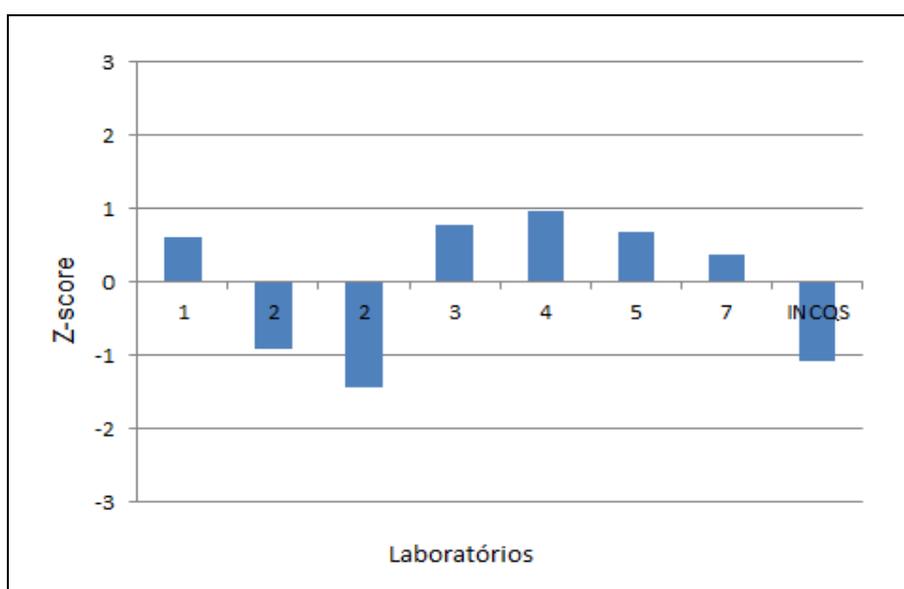
Na tabela 18 são apresentados os resultados enviados pelos laboratórios para o aparato pá.

Tabela 18 - Resultados enviados pelos participantes da comparação interlaboratorial do ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg e avaliação estatística dos dados do aparato 2 (pá)

Laboratórios	01	02	02	03	04	05	07	INCQS
Itens	89	35	35	06	03	53	81	-
Cuba 1	44,95%	39,00%	33,00%	61,17%	58,10%	64,97%	51,00%	37,00%
Cuba 2	59,98%	37,00%	34,00%	49,86%	54,70%	53,04%	55,00%	34,91%
Cuba 3	58,42%	49,00%	32,00%	49,63%	56,70%	51,93%	49,00%	35,18%
Cuba 4	52,20%	34,00%	37,00%	56,32%	56,10%	53,49%	48,00%	37,64%
Cuba 5	56,85%	35,00%	35,00%	62,10%	58,80%	50,94%	50,00%	37,42%
Cuba 6	50,12%	39,00%	32,00%	54,94%	60,10%	53,64%	57,00%	41,05%
Média	53,75%	38,83%	33,83%	55,67%	57,42%	54,67%	51,67%	37,20%
Z-score	0,60	-0,92	-1,43	0,79	0,38	0,69	0,38	-1,09

Assim, de acordo com os resultados obtidos para o aparato pá, nenhum laboratório participante obteve resultado questionável para o item analisado, conforme demonstrado na figura 20.

Figura 20 - Gráfico de Z-score dos laboratórios participantes do interlaboratorial do ensaio de dissolução dos comprimidos de prednisona aparato 2 (pá)



Fonte: Do autor, 2013.

O cálculo dos valores das incertezas associadas às médias dos laboratórios foi através do desvio padrão obtido pela equação abaixo.

$$u_{carac} = \frac{s}{\sqrt{p}}$$

$$s^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p (Y_i - \bar{Y})^2$$

Na tabela 19 são apresentados os resultados enviados pelos laboratórios e os valores da incerteza associada para os aparatos cesta e pá.

Tabela 19 - Tratamento estatístico dos dados enviados pelos laboratórios para atribuição da incerteza inerente a caracterização

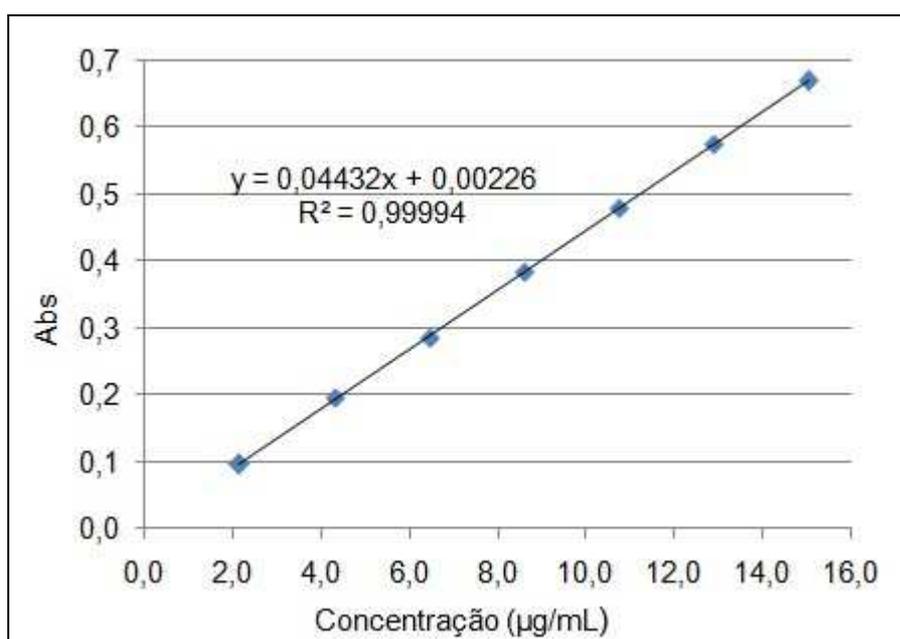
Laboratórios	Aparato cesta	Aparato pá
01	80,04%	53,75%
02	57,17%	38,83%
02	58,00%	33,83%
03	78,33%	55,67%
04	71,10%	57,42%
05	53,80%	54,67%
07	67,00%	51,67%
INCQS	62,88%	37,20%
Média	66,04%	47,88%
Desvio padrão	9,83	9,56
u carac	3,48% mg/mg	3,38% mg/mg

4.4.2 Caracterização dos comprimidos de prednisona por dois métodos de referência independentes

A caracterização do material por dois métodos de referência independentes, espectrofotometria e cromatografia líquida de alta eficiência, visou determinar a dissolução da prednisona 10 mg, que será utilizado para qualificação do dissolutor.

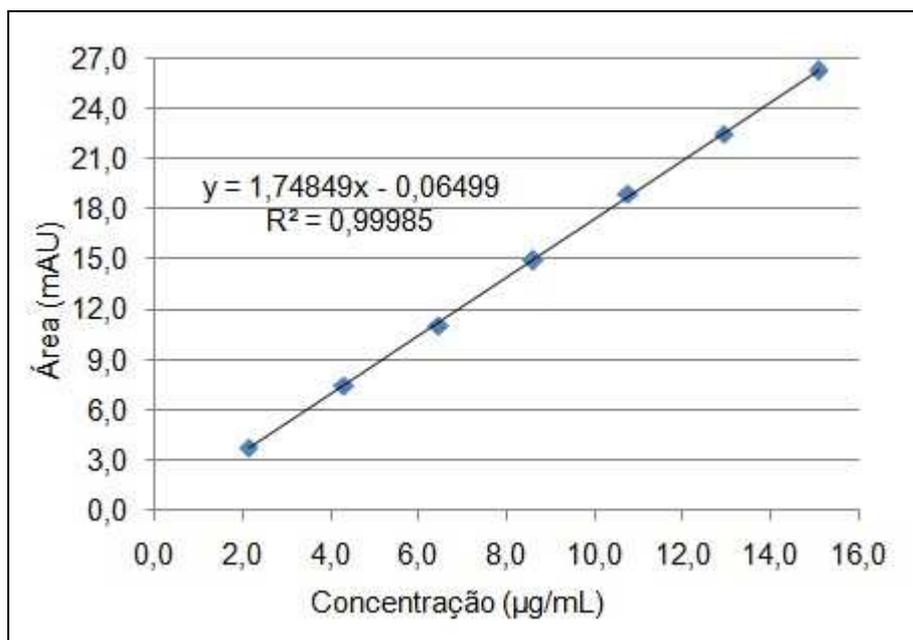
Foram realizadas duas curvas padrões para executar a caracterização deste material. A figura 21 mostra a equação da reta obtida pelo método espectrofotométrico e a figura 22 pelo método cromatográfico. Os cromatogramas da prednisona na caracterização encontram-se no apêndice J e L.

Figura 21 - Gráfico da curva padrão de prednisona para a caracterização pelo método espectrofotométrico



Fonte: Do autor, 2013.

Figura 22 - Gráfico da curva padrão de prednisona para a caracterização pelo método cromatográfico



Fonte: Do autor, 2013.

Foram selecionados para caracterização por dois métodos de referência independentes três itens de ensaio, os frascos de número 05, 47 e 93.

Nas tabelas 20 e 21 são apresentados os resultados obtidos para o aparato cesta, pelos dois métodos de referência independentes.

Tabela 20 - Resultados do método espectrofotométrico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato cesta

Aparato: cesta			
Método	espectrofotometria		
Itens	05	47	93
Cuba 1	55,28%	59,05%	54,12%
Cuba 2	74,94%	67,33%	55,37%
Cuba 3	78,24%	71,12%	65,64%
Cuba 4	62,88%	60,34%	63,76%
Cuba 5	61,00%	59,65%	69,92%
Cuba 6	70,20%	48,18%	54,81%
Média	67,09%	60,94%	60,60%

Tabela 21 - Resultados do método cromatográfico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato cesta

Aparato: cesta			
Método	Cromatografia líquida		
Itens	05	47	93
Cuba 1	52,18%	60,95%	51,58%
Cuba 2	61,68%	69,09%	52,17%
Cuba 3	72,97%	72,93%	59,20%
Cuba 4	64,18%	62,02%	61,02%
Cuba 5	58,45%	61,53%	64,45%
Cuba 6	66,35%	50,25%	56,67%
Média	62,63%	62,79%	57,51%

Nas tabelas 22 e 23 são apresentados os resultados obtidos para o aparato pá, pelos dois métodos de referência independentes.

Tabela 22 - Resultados do método espectrofotométrico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato pá

Aparato: pá			
Método	espectrofotometria		
Itens	05	47	93
Cuba 1	32,23%	35,70%	43,06%
Cuba 2	35,74%	37,06%	31,92%
Cuba 3	36,90%	36,10%	32,54%
Cuba 4	40,76%	39,22%	32,93%
Cuba 5	34,45%	42,17%	35,65%
Cuba 6	44,04%	47,61%	31,50%
Média	37,35%	39,64%	34,60%

Tabela 23 - Resultados do método cromatográfico do ensaio de dissolução de prednisona 10 mg do aparato pá

Aparato: pá			
Método	Cromatografia líquida		
Itens	05	47	93
Cuba 1	30,86%	35,27%	42,25%
Cuba 2	33,96%	36,03%	31,32%
Cuba 3	34,78%	34,98%	31,91%
Cuba 4	38,48%	38,11%	32,28%
Cuba 5	33,01%	41,98%	34,79%
Cuba 6	41,93%	47,55%	30,69%
Média	35,50%	38,99%	33,87%

Os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico foram utilizados para determinar o valor designado utilizado na comparação interlaboratorial. Além disso, a avaliação por dois métodos indicou que os excipientes dos comprimidos não interferiram na quantificação da prednisona no ensaio de dissolução, pois os valores obtidos pelo método espectrofotométrico e cromatográfico apresentaram concordância.

4.4.3 Certificação

A incerteza combinada para o material de referência comprimido de prednisona é a soma quadrática das incertezas combinadas obtidas nos estudos de caracterização, de homogeneidade e de estabilidade, calculado pela equação 1:

$$u_{\text{combinada}} = \sqrt{u_c^2 + u_h^2 + u_e^2}$$

equação (1)

Onde:

$u_{\text{combinada}}$ = incerteza combinada referente à certificação

u_c = incerteza combinada referente a caracterização

u_h = incerteza combinada referente a homogeneidade

u_e = incerteza combinada referente a estabilidade

Para verificar a existência de valores dispersos ou *outliers*, tanto para os resultados obtidos nos estudos de homogeneidade e estabilidade, quanto para os resultados enviados pelos laboratórios, foi utilizado os testes de Cochran e de Grubbs, conforme demonstrado no apêndice N.

A incerteza expandida (U) é expressa como o produto entre a incerteza combinada ($u_{\text{combinada}}$) e o fator de abrangência (k), que neste estudo foi considerado igual a 2. Assim, a incerteza expandida é expressa pela equação abaixo:

$$U = u_{\text{combinada}} \times k$$

Com os resultados enviados pelos laboratórios foi possível então determinar o valor de propriedade do material. Na tabela 24 são apresentados os valores de incerteza que contribuíram para a certificação dos comprimidos de prednisona.

Tabela 24 - Resultados das incertezas dos comprimidos de prednisona 10 mg do aparato cesta e pá

Comprimidos de prednisona	u_h (% mg/mg)	u_e curta (% mg/mg)	u_e longa (% mg/mg)	u_c (% mg/mg)	$u_{\text{combinada}}$ (% mg/mg)	U (% mg/mg)
Aparato cesta				3,48	4,86	9,72
Aparato pá	1,98	2,03	1,86	3,38	4,79	9,58

O valor atribuído para o comprimido de prednisona 10 mg foi obtido pelo resultado da média do estudo interlaboratorial, associado com a incerteza expandida, sendo o resultado encontrado para o aparato cesta de $66,04 \pm 9,72\%$ mg/mg e para o aparato pá de $47,88 \pm 9,58\%$ mg/mg. A determinação deste valor resultou no estabelecimento da faixa do aparato cesta 56 - 76% mg/mg e do aparato pá 38 - 57% mg/mg.

Após a caracterização dos comprimidos de prednisona foi elaborado um modelo de certificado propriamente dito, sua elaboração foi baseada na norma ISO GUIA 31 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).

Quadro 2 - Modelo do certificado para os comprimidos de prednisona 10 mg

	<p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde</p>	
<p>Certificado de análise do material de referência certificado</p>		
<p>Nome do material: Prednisona 10 mg, comprimido</p>		
<p>Código: INCQS_DQ_MRC_01/2013</p>		
<p>Número do lote: Prednisona_MRC_01/2013</p>		
<p>Descrição: Frasco de vidro contendo 30 comprimidos</p>		
<p>Uso pretendido: Qualificação do dissolutor</p>		
<p>Instruções para as condições apropriadas de armazenamento: Temperatura de armazenamento entre 20°C e 25°C</p>		
<p>Valores certificados e suas incertezas: Resultado encontrado para o aparato cesta de 66,04 ± 9,72% mg/mg e para o aparato pá de 47,88 ± 9,58% mg/mg Faixa estabelecida: Aparato cesta 56 - 76% mg/mg e aparato pá 38 - 57% mg/mg</p>		
<p>Método empregado para a obtenção de valores de propriedade: Valores obtidos por estudo interlaboratorial para caracterização, utilizando o método espectrofotométrico</p>		
<p>Prazo de validade: 12 meses</p>		

5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do material de referência de comprimidos de prednisona envolveu várias etapas como: o estudo de viabilidade para produzir o material; estudo de homogeneidade do material nos recipientes; estudo da estabilidade do material preparado; certificação dos valores atribuídos às propriedades de interesse do material preparado.

O estudo de viabilidade forneceu informações fundamentais à elaboração do material de referência de comprimidos de prednisona, no que se refere à solubilidade, diluição do padrão e amostra, concentração de trabalho, condições cromatográficas, que garantiram o desenvolvimento dos estudos seguintes.

Além disso, o perfil de dissolução dos produtos estudados referência, genérico e LFM que contém 20 mg de prednisona apresentou uma liberação muito rápida, praticamente em 15 minutos foi alcançado o valor da especificação, não menos que 80% do declarado se dissolve em 30 minutos. Este resultado seria um impedimento da sua utilização como material de referência. A alternativa encontrada foi à preparação das formulações.

O estudo de homogeneidade é de grande relevância na produção de um material de referência, e neste caso os resultados encontrados demonstraram que o material apresentou-se suficientemente homogêneo. A incerteza inerente à homogeneidade do material foi de 1,98% mg/mg.

Como a estabilidade é a capacidade do material de referência em manter o valor de uma determinada propriedade dentro de limites especificados por um período de tempo preestabelecido, quando estocado nas condições especificadas e identifica se há uma repetitividade em medições da amostra ao longo do tempo. Assim concluiu-se que a prednisona, manteve-se estável nas condições de armazenamento, temperatura ambiente entre 20°C e 25 °C. A incerteza referente à estabilidade de curta duração do material foi de 2,03% mg/mg, e de longa duração foi de 1,86% mg/mg.

Após realização do estudo de estabilidade, foi conduzida uma comparação interlaboratorial, para execução da etapa de caracterização dos comprimidos de prednisona candidato a material de referência.

Os resultados encontrados pelos laboratórios colaboradores estão de acordo com os resultados determinados pelo laboratório do INCQS. Com estes resultados foi possível determinar os valores de propriedade do material de referência de comprimidos de prednisona. Embora sete laboratórios convidados a participar desta etapa tenham recebido o material, apenas seis enviaram os resultados.

Na caracterização foi obtido $U_{\text{carac cesta}} 3,48\%$ mg/mg e $U_{\text{carac pá}} 3,38\%$ mg/mg. O valor atribuído para o comprimido de prednisona 10 mg foi obtido pelo resultado da média do estudo interlaboratorial, associado com a incerteza expandida, sendo o resultado encontrado para o aparato cesta de $66,04 \pm 9,72\%$ mg/mg e para o aparato pá de $47,88 \pm 9,58\%$ mg/mg. A determinação deste valor resultou no estabelecimento da faixa do aparato cesta 56 - 76% mg/mg e do aparato pá 38 - 57% mg/mg. Posteriormente foi elaborado um modelo de certificado para este material.

O objetivo principal deste trabalho foi alcançado com o estabelecimento da viabilidade de preparação e certificação do comprimido de referência de prednisona para qualificação do dissolutor. Porém, este processo pode ser aprimorado para obter incertezas menores, em próximos estabelecimentos de MRC.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Propor a inserção do comprimido referência de prednisona no escopo da Farmacopeia Brasileira para calibrar o dissolutor.
- Realizar o monitoramento do lote estabelecido.
- Estabelecer novos lotes do comprimido referência de prednisona de acordo com a demanda.

REFERÊNCIAS

ABDOU, H.M. **Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company, 1989.

ALGARTE, W; QUINTANILHA, D. **A história da qualidade e o programa brasileiro da qualidade e produtividade**. Rio de Janeiro: INMETRO; CNI/SENAI, 2000.

AMIDON, G.L; LENNERNAS, H; SHAH, V.P; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, n.03, p. 413-420, mar.1995.

ANSEL, H.C; POPOVICH, N.G; ALLEN Jr, L.V. **Farmacotécnica: Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6 ed. São Paulo: Premier, 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Glossário**. Brasília: ANVISA, 2011a. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> > . Acesso em: 10 mar. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Medicamentos**. Brasília: ANVISA, 2011b. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> > . Acesso em: 10 mar. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2011c. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> > . Acesso em: 10 mar. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Relatório do Estudo Colaborativo para Detecção Qualitativa de Organismos Geneticamente Modificados em alimentos**. Brasília: ANVISA, 2002. 18p. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> > . Acesso em: 10 mar. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 30**: Termos e definições relacionados com materiais de referência. Rio de Janeiro, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 31**: Materiais de referência - Conteúdo de certificados e rótulos. Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 32**: Calibração em química analítica e uso de materiais de referência certificados. Rio de Janeiro, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 33**: Utilização de materiais de referência certificados. Rio de Janeiro, 2002. 28p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 34:** Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência. Rio de Janeiro, 2012a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO GUIA 35:** Materiais de referência – princípios gerais e estatísticos para certificação. Rio de Janeiro, 2012b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005:** Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaios e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC Guia 43-1:** Ensaio de proficiência por comparações interlaboratoriais. Parte 1: Desenvolvimento e operação de programas de ensaios de proficiência. Rio de Janeiro, 1999a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC Guia 43-2:** Ensaio de proficiência por comparações interlaboratoriais. Parte 2: Seleção e uso de programas de proficiência por organismos de credenciamento de laboratórios. Rio de Janeiro, 1999b.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2 ed. Porto alegre: Artmed, 2005.

BISPO, J. M. A. **Certificado de material de referência de minério de ferro utilizando programa interlaboratorial.** 2007. 128 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46133/tde-01052007-164338/>>. Acesso em: 14 fev. 2013.

BRANDÃO, M. L. L. **Produção de material de referência em matriz queijo para ensaio de proficiência em microbiologia de alimentos.** 2012. 68 p. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BRANDÃO, S. M. C. **Avaliação da confiabilidade dos resultados gerados a partir das verificações físicas e químicas do ensaio de dissolução de medicamentos de 1983 a 2008.** 2008. 159 p. Dissertação de Mestrado em Vigilância Sanitária. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2008.

BRASIL. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Di spõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. Brasília, DF, em 17 de dezembro de 1973. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislação>>. Acesso em: 08 abr. 2012.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Di spõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos

farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. Brasília, DF, em 23 de setembro de 1976. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislação>>. Acesso em: 08 abr. 2012.

BRASIL. Decreto nº79.094, de 05 de janeiro de 1977 . Regulamenta a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976. Brasília, DF, em 05 de janeiro de 1977. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislação>>. Acesso em: 08 abr. 2012.

BRASIL. Lei nº8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Brasília, DF, em 19 de setembro de 1990. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislação>>. Acesso em: 08 abr. 2012.

BRASIL. Lei nº9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o sistema nacional de vigilância sanitária, cria a agência nacional de vigilância sanitária, e dá outras providências. Brasília, DF, em 26 de janeiro de 1999. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislação>>. Acesso em: 08 abr. 2012.

CARDOSO, M.H.W.M. **Preparação de um Material de Referência Certificado para Controle de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros**. 2008. 191 p. Tese de doutorado em vigilância sanitária. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2008.

CARDOSO, M.H.W.M. et al . Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da homogeneidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, jun. 2010 . Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000200021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em:14 fev. 2013.

CHUI, Q. S. H.; BISPO, J. M. A.; IAMASHITA, C. O. O Papel dos Programas Interlaboratoriais para a Qualidade dos Resultados Analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.6, p.993-1003, dez. 2004.

COSTA, E.A. **Vigilância Sanitária: proteção e defesa da saúde**. 2ºed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Vigilância de Medicamentos, 2004.

CUNHA, et al. Os conceitos envolvendo materiais de referência. **Revista Metrologia & Instrumentação**, 2009.

EMONS, H.; FAJGELJ, A.; VAN DER VEEN, A. M. H.; WATTERS, R. New definitions on reference materials. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 10, p.576-578, fev. 2006.

FARMACOPEIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010a.1v.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: Anvisa, 2010b. 2v.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for industry: immediate release solid oral dosage forms. Scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls, in vitro dissolution testing and in vivo bioequivalence documentation.** USA, 1995. Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder/guidance/cmc5.pdf>>. Acesso em: 16 maio. 2012.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System.** USA, 2000. Disponível em: <<http://www.fda.gov/CDER/GUIDANCE/3618fnl.pdf>> Acesso em: 21 mar. 2011.

HANSON-RESEARCH-CORPORATION. **Dissolution: Past, Present & Future.** 2.ed. Chatsworth: Hanson Research, 1996.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Apresentação.** Rio de Janeiro, 2011a. Disponível em: <<http://www.incqs.fiocruz.br>> Acesso em: 11 maio. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Produtos e Serviços.** Rio de Janeiro, 2011b. Disponível em: <<http://www.incqs.fiocruz.br>> Acesso em: 11 maio. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP.65.3110.035:** Qualificação Física do equipamento de Dissolução. Rev.02. Rio de Janeiro, 2011c. 10p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Norma nº NIT - DICLA-026 - Rev.04** : Requisitos sobre a participação dos laboratórios de ensaio e de calibração em atividades de ensaios de proficiência. Rio de Janeiro, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Comparação interlaboratorial de teor de água em álcool combustível.** Relatório final - Nº 001/2009. nov 2009, 24p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Comparação interlaboratorial para avaliação do desempenho de eletrodos na medição de pH em etanol combustível.**Nº 001/2010. jul 2010a, 41p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Norma DOQ-CGCRE-005 - Rev.01:** Orientação para a organização de comparações interlaboratoriais pelas comissões técnicas da dicla. Rio de Janeiro, 2010b.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Norma DOQ-CGCRE-016 - Rev.02** :Orientação para a seleção e uso de materiais de referência. Rio de Janeiro, 2010c.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Comparação interlaboratorial de biodiesel obtenção dos dados de precisão da norma ABNT NBR 15343 - Biodiesel determinação da concentração de metanol e/ ou etanol por cromatografia gasosa.** Relatório final - Nº 009/11. Agost 2011a, 19p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Norma nº NIT - DICLA- 047 - Rev.03** : Relação padronizada de categorias de materiais de referência. Rio de Janeiro, 2011b.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012). 1ª Edição Luso-Brasileira. Rio de Janeiro, 2012. 95 p.

ISHIKAWA, K. **Controle de qualidade total:** a maneira japonesa. Tradução: Iliana Torres. Rio de Janeiro: Campus, 1997.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. **ISO 13528:** Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. Geneva, 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. **ISO 5725-1:1994:** Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions. Geneva, 1994a.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, **ISO 5725-2:1994:** Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2: A basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. Geneva: Switzerland, 1994b.

KALINKOVA, G.N. Studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.187, n.1, p. 1-15, set.1999.

KIBBE, A. H. **Handbook of pharmaceutical excipients.** 3 ed. Washington, DC: American Pharmaceutical Association, 2001.

LACY, C.F. et al. **Drug Information Handbook.** 14.ed. Hudson: Lexi-Comp, 2006.

MARTINDALE: the complete drug reference. Editor: S. C. Sweetman. 36. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009. 2 v.

MELLO, A. L. et al. **Vigilância sanitária de medicamentos e correlatos.** Rio de Janeiro: Qualitymark, 1993.

MOFFAT, A.C.; OSSELTON, M.D.; WIDDOP, B. **Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material**. 3. ed. London: Pharmaceutical Press, 2004a. v. 1.

MOFFAT, A.C.; OSSELTON, M.D.; WIDDOP, B. **Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids and post mortem material**. 3. ed. London: Pharmaceutical Press, 2004b. v. 2.

MONTEIRO, M.A. **Produção de Material de Referência Certificado de Oxitetraciclina em Leite**. 2010. 132 f. Dissertação de Mestrado - Curso de Pós-Graduação da Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

MOREIRA, E. G. **Preparo e caracterização de um material de referência de mexilhão Perna perna (Linnaeus,1758)**. 2010. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-21062011-093245/>>. Acesso em: 14 jan. 2013.

MOURA, S.S.; COSTA, S.R.R. **Estudo da utilização de materiais de referência de água por laboratórios envolvidos no sistema de acreditação**. Produção, v.19, n.2, p.304-316, 2009.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Series de Informes Técnicos, nº957, Anexo1: **Boas Práticas da OMS para Laboratórios de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos**. Genebra, 2010. 40 p.

PROGRAMA GRAPHPAD Software, Inc, 2013. Disponível em:<<http://www.graphpad.com/quickcalcs/grubbs1.cfm>> Acesso em: 16 maio. 2012.

QUEENIE, S. H.C.; ANTONOFF, H. B.; OLIVIERI, J. C. Utilização de Índices r e R obtidos de Programas Interlaboratoriais para o Controle de Precisão de Método Analítico: Determinação de Água por Karl Fischer. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.4. p. 657-659, jul. 2002.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M., **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RODRIGUES, J. M. et al . Certified reference material to water content determination in bioethanol fuel. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 5, 2012 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000500026&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 jan. 2012.

RODRIGUES, J. M. **Produção e certificação de materiais de referência**. Trabalho apresentado no curso sobre material de referência no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde na forma de power point, Rio de Janeiro, 2012.

ROZENFELD, S. **Fundamentos da vigilância sanitária**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2000.

SANTORO, M.I.R.M. **Introdução ao controle de qualidade de medicamentos**. São Paulo: Atheneu, 1988.

SHANGRAW, R. **Compressed tablets by direct compression**. 2 ed. New York: Marcel Dekker Inc, 1989, V.1.

SILVA, F.A.S. Assistat versão 7,6 beta. DEAG- CTRN- UFCG, Campina Grande - PB, Brasil, 2013.

SOUSA, A.M.C. Manual de normalização de trabalhos acadêmicos. Rio de Janeiro: INCQS, 2011.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica**: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: s.n, 1999a.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. - Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.35, n.1, p.1-16, 1999b.

STORPIRTIS, S; GONÇALVES, J.E; CHIANN, C ; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica** (Ciências farmacêuticas). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

THE EUROPEAN Pharmacopoeia 6.0. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe, 2008.

THE UNITED States Pharmacopeia 35. National Formulary 30: 2012. Rockville:U. S. Pharmacopeia, 2012a. 1v.

THE UNITED States Pharmacopeia 35. National Formulary 30: 2012. Rockville:U. S. Pharmacopeia, 2012b. 3v.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Dissolution Toolkit procedures for mechanical calibration and performance verification test apparatus 1 and apparatus 2. **Dissolution performance verification testing (PVT)**, version 2.0, p.16, 22 mar.2010. Disponível em: < <http://www.usp.org/reference-standards/use-and-storage/dissolution-put-ranges> > Acesso em: 10 jan. 2012.

THOMPSON, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. **Analyst**, v. 125, n. 3, p. 385-386, 2000.

VAN DER VEEN, A. M. H; LINSINGER, T. P. J.; LAMBERTY, A; PAUWELS, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 2. Homogeneity study. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 6, p. 26-30, jan.2001a.

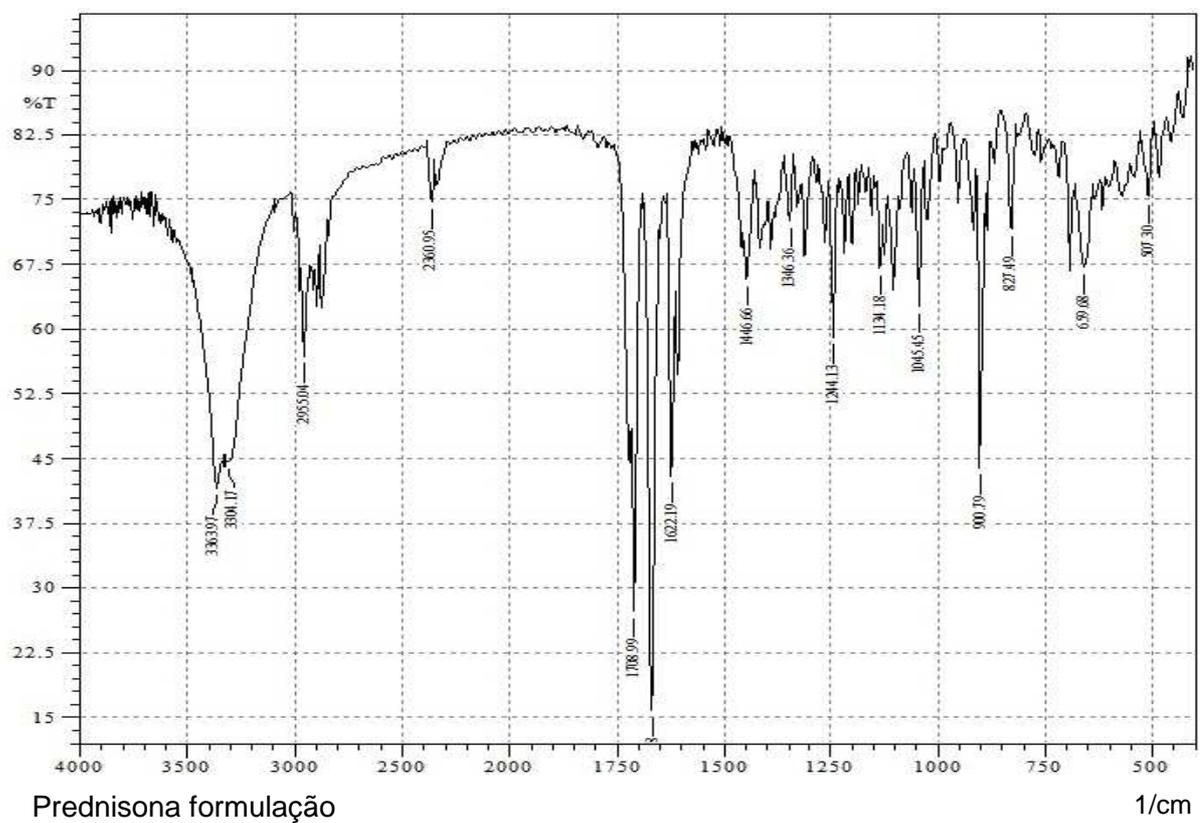
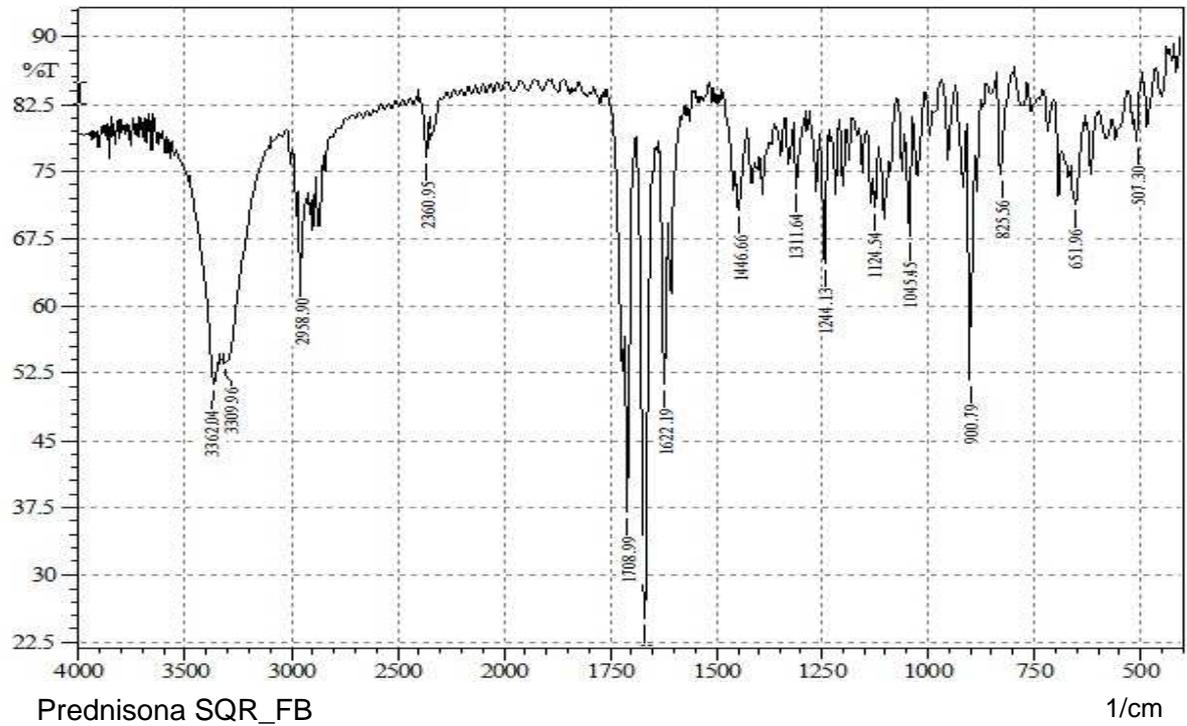
VAN DER VEEN, A. M. H; LINSINGER, T. P. J.; LAMBERTY, A; PAUWELS, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 3. Stability study. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 6, p. 257-263, may. 2001b.

VAN DER VEEN, A. M. H; LINSINGER, T. P. J.; SCHIMMEL, H.; LAMBERTY, A; PAUWELS, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 4. Characterisation and certification. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 6, p. 290-294, jul. 2001c.

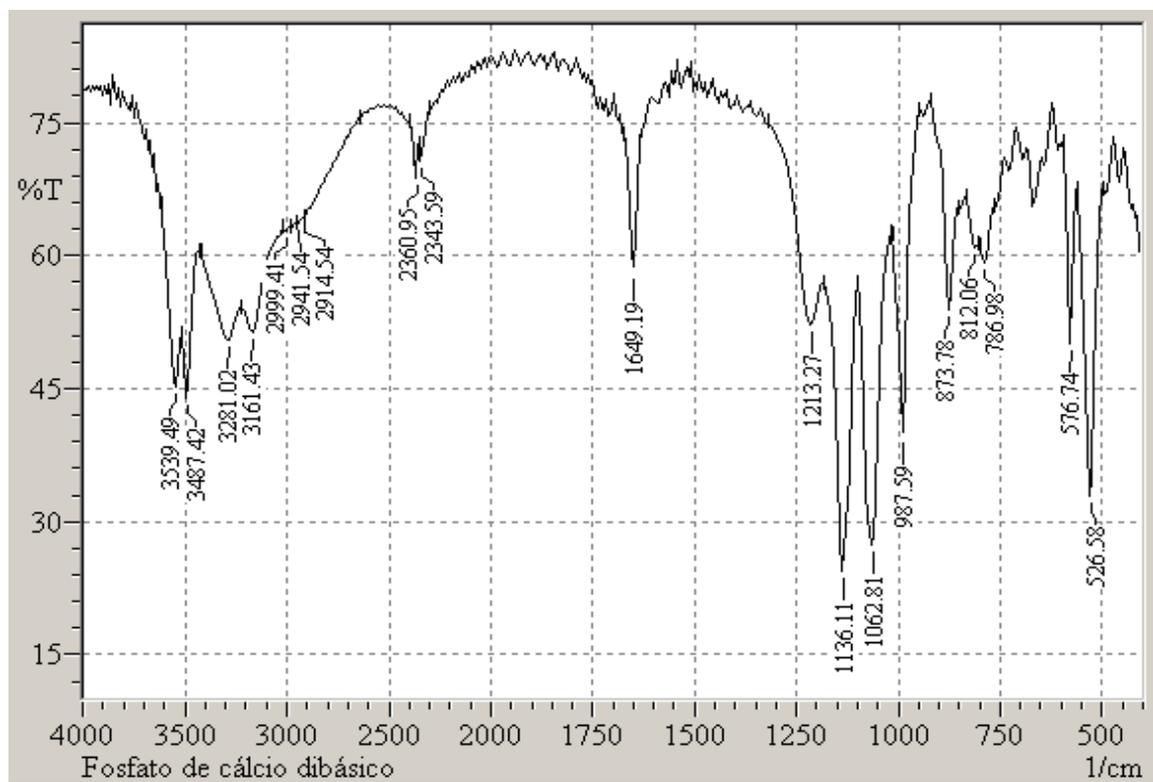
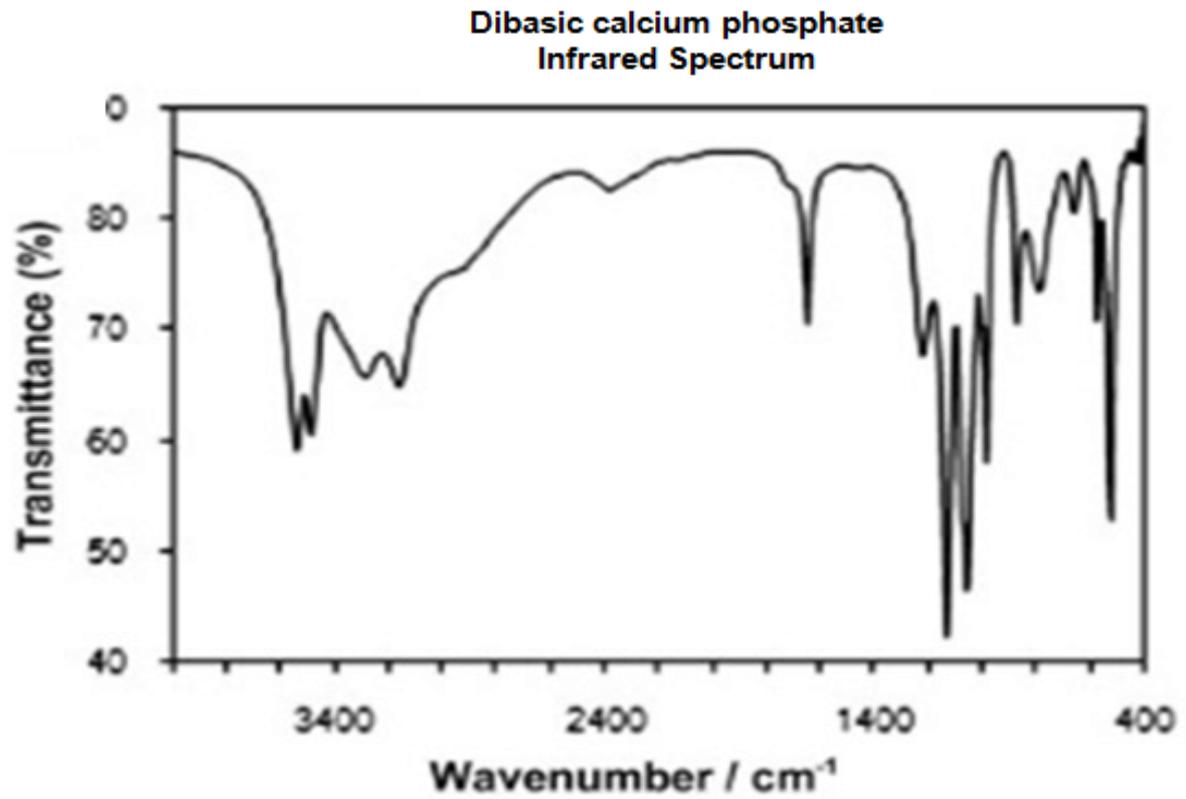
VOGT, M; et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Prednisone. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 96, n. 6, june. 2007.

YUGUE, R. T.; FERRAZ, H. G.; YUGUE, S. C.; FERNANDES, E.; STORPIRTIS, S. Perfil de dissolução do cloridrato de diltiazem a partir de formas farmacêuticas sólidas de ação prolongada comercializadas no Brasil. **Revista de Farmácia e Bioquímica** da Universidade de São Paulo, São Paulo, v.32, n.2, p.77-80, 1996.

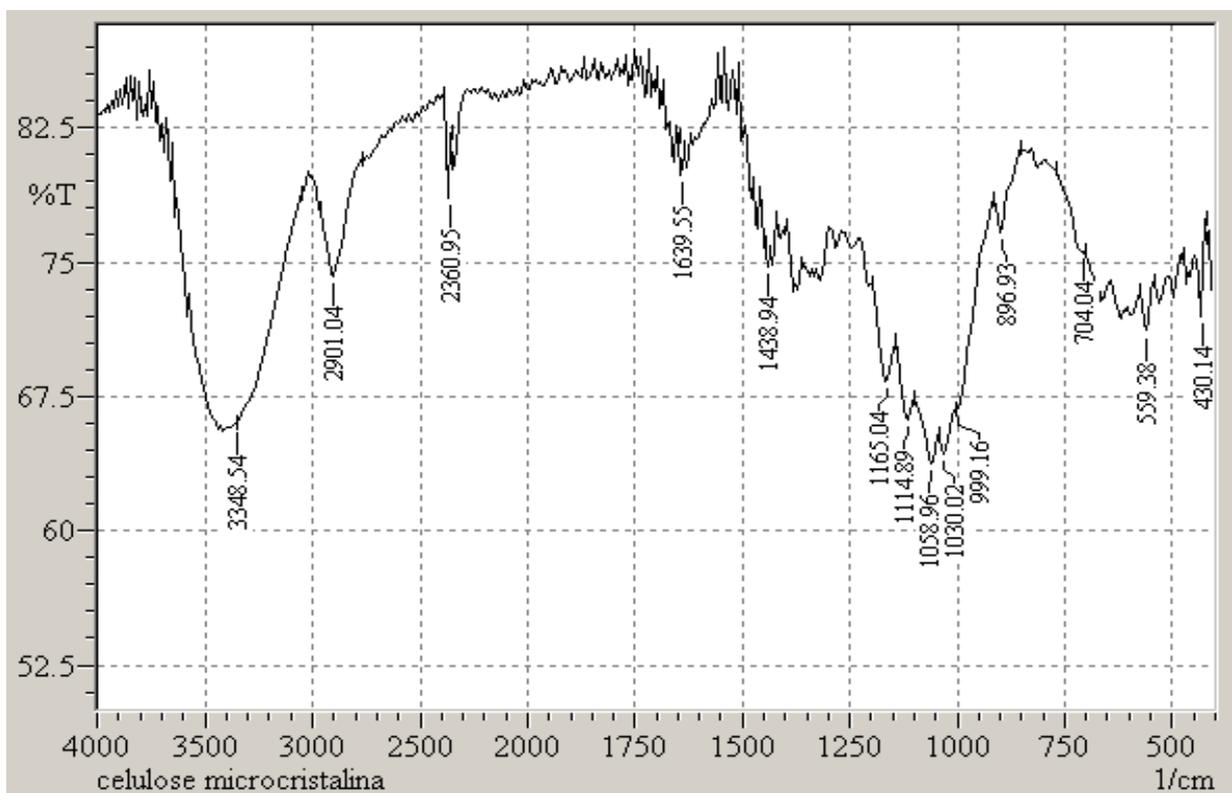
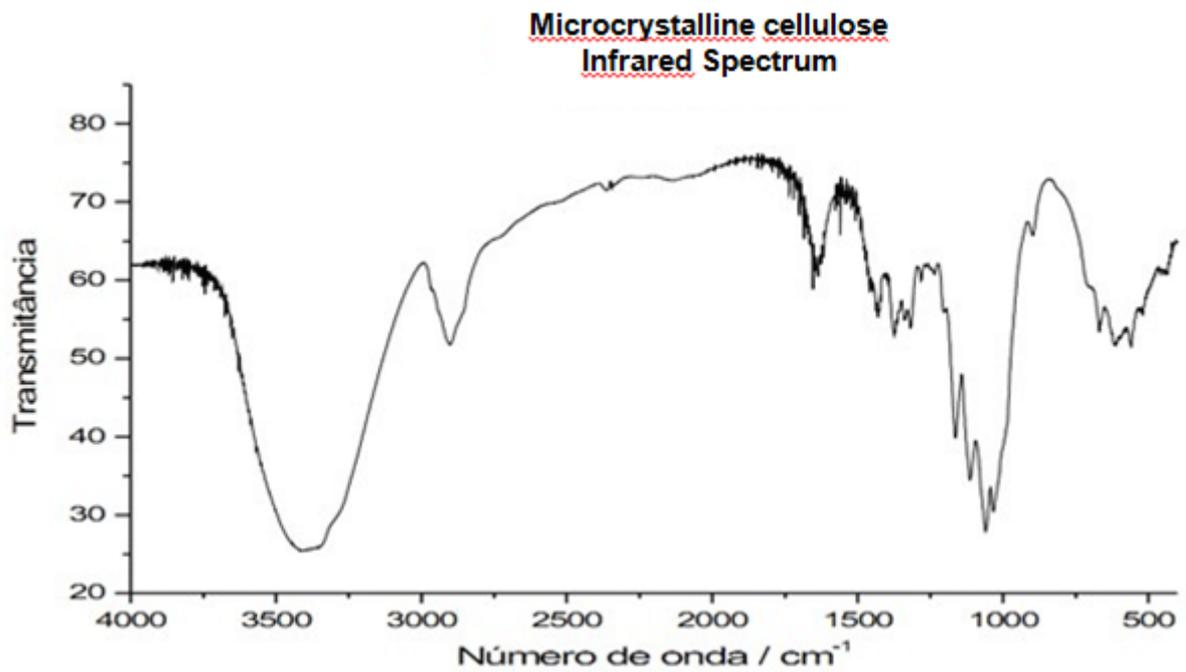
APÊNDICE A - Espectro de infravermelho do SQR-FB e formulação da prednisona



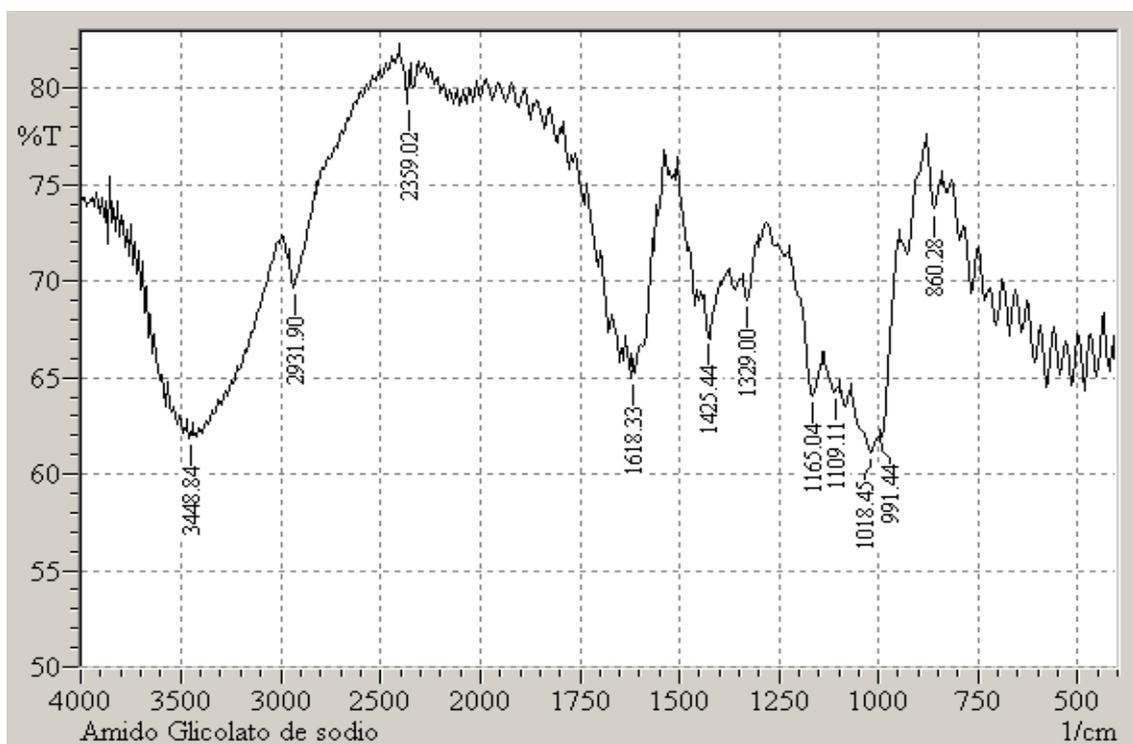
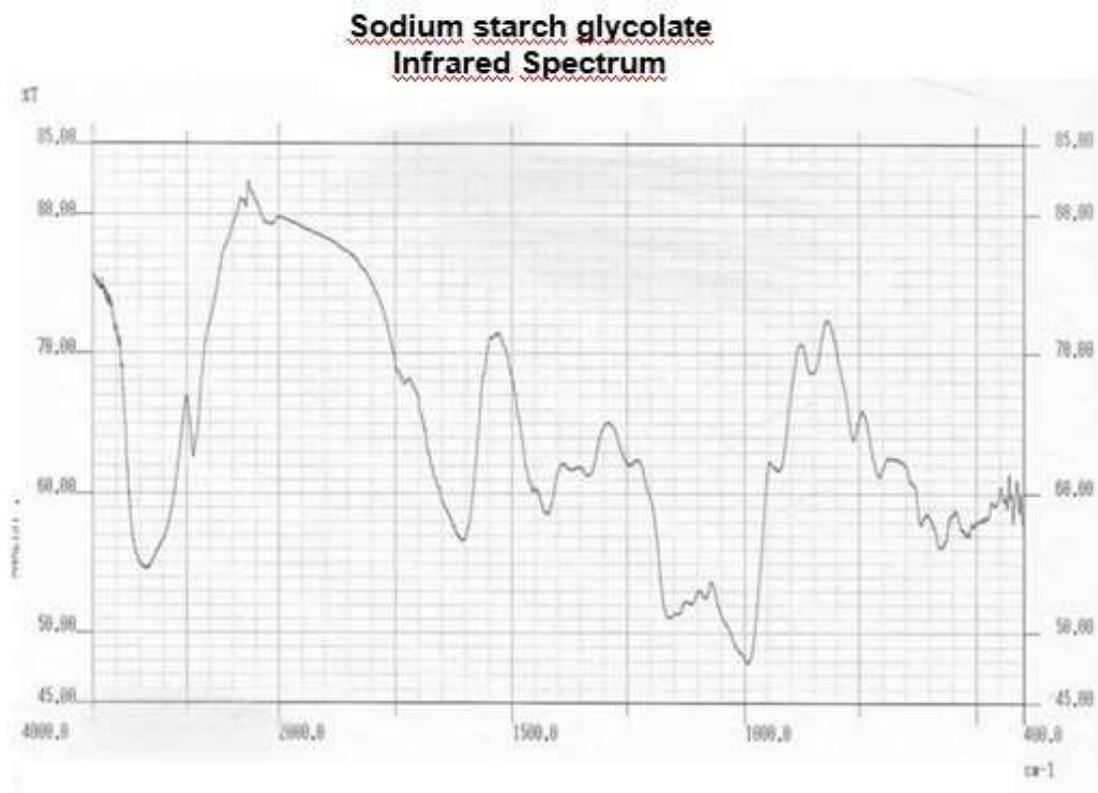
APÊNDICE B - Espectro de infravermelho do padrão fosfato de cálcio dibásico e da MP de fosfato de cálcio dibásico



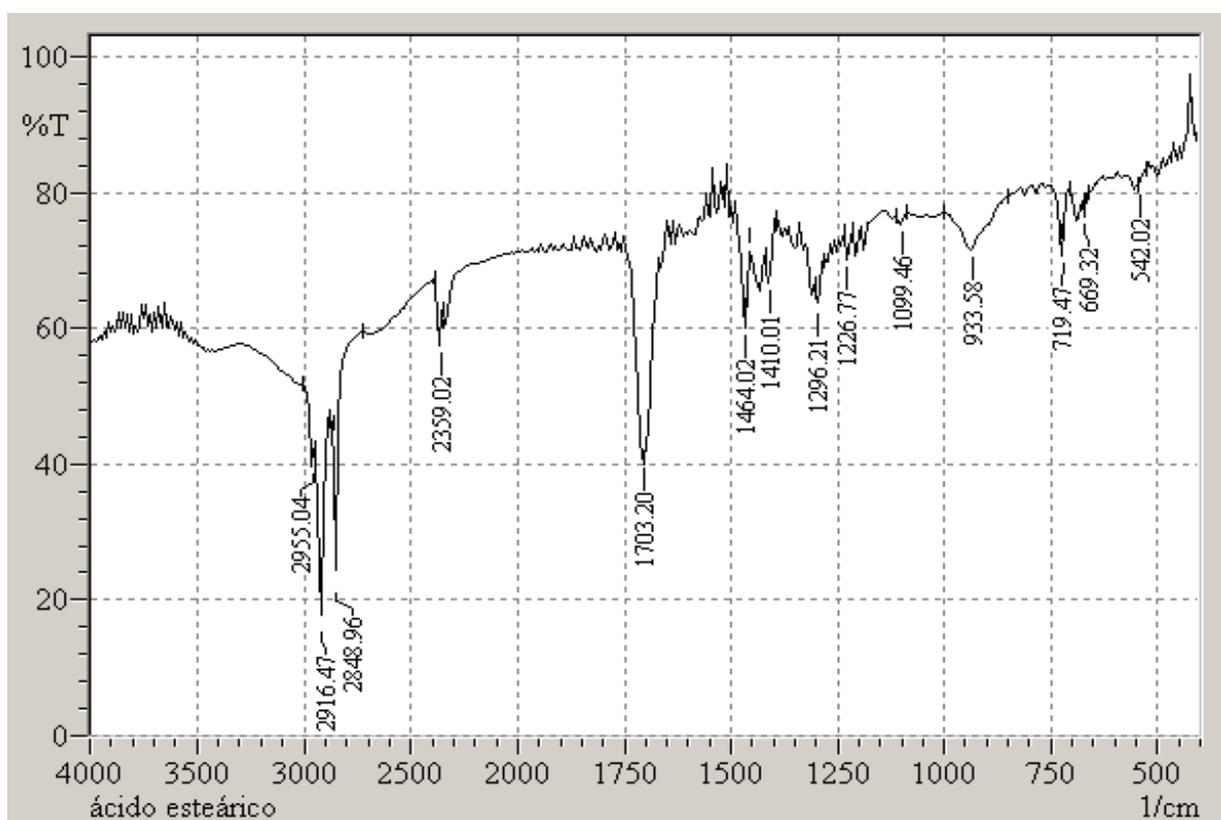
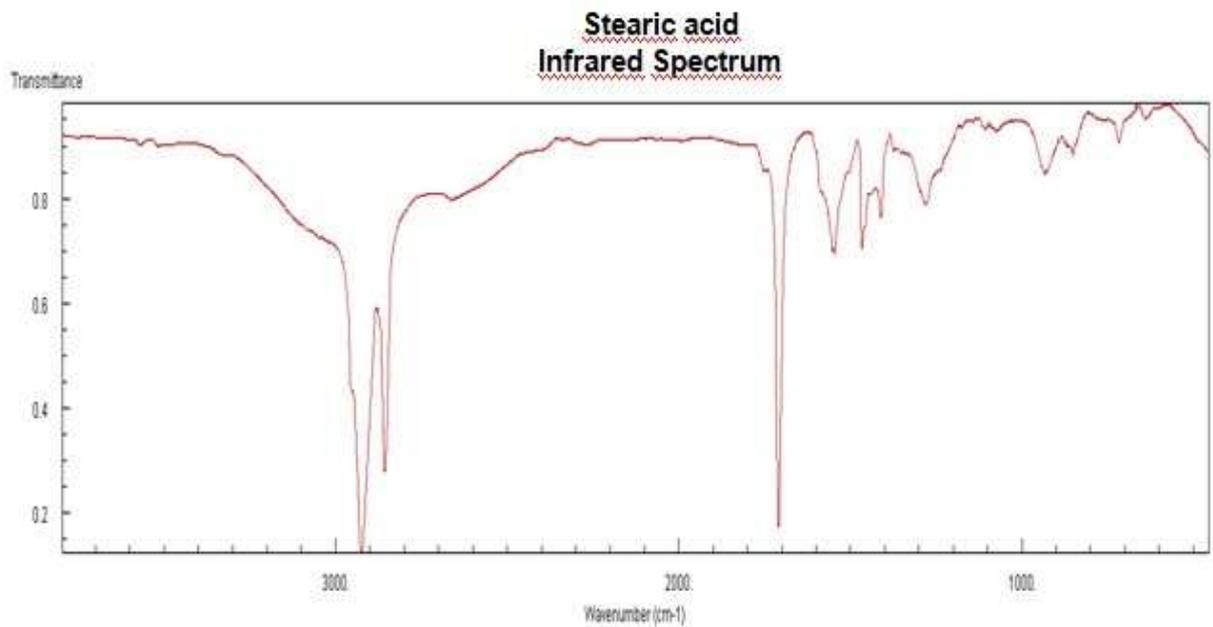
APÊNDICE C - Espectro de infravermelho do padrão celulose microcristalina e da MP de celulose microcristalina



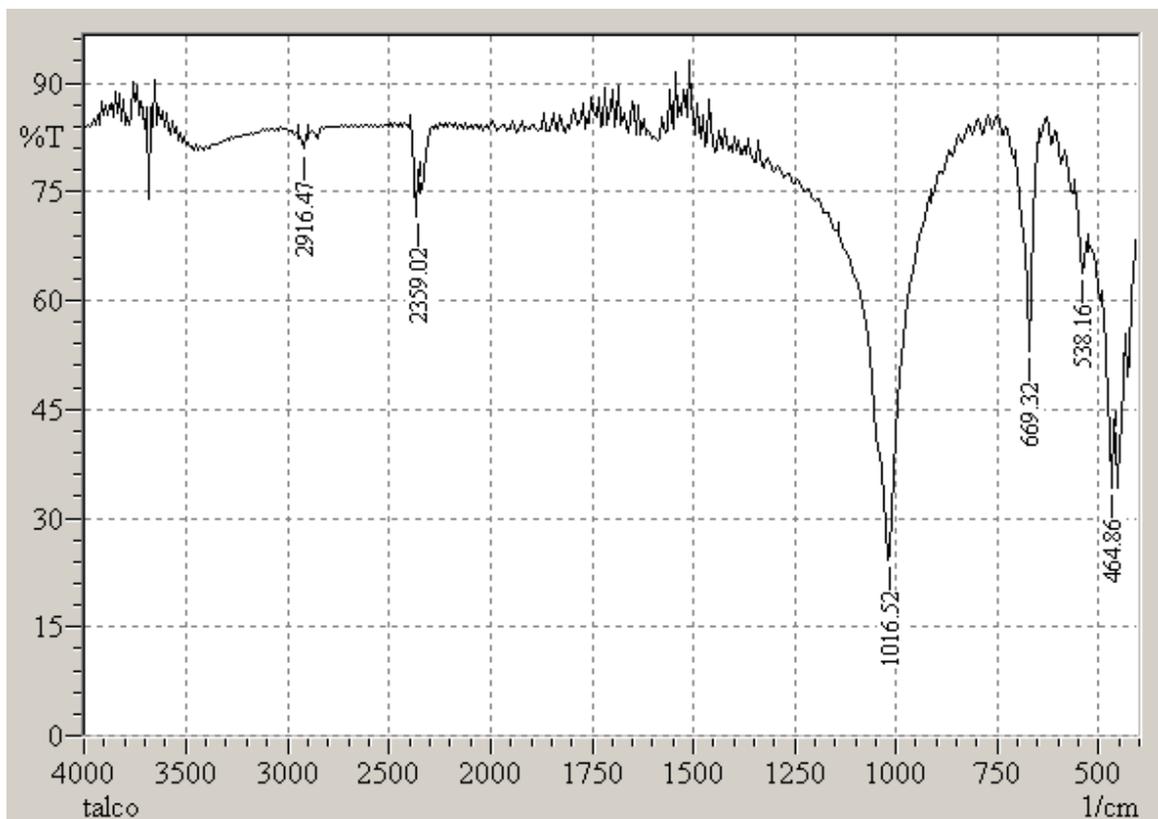
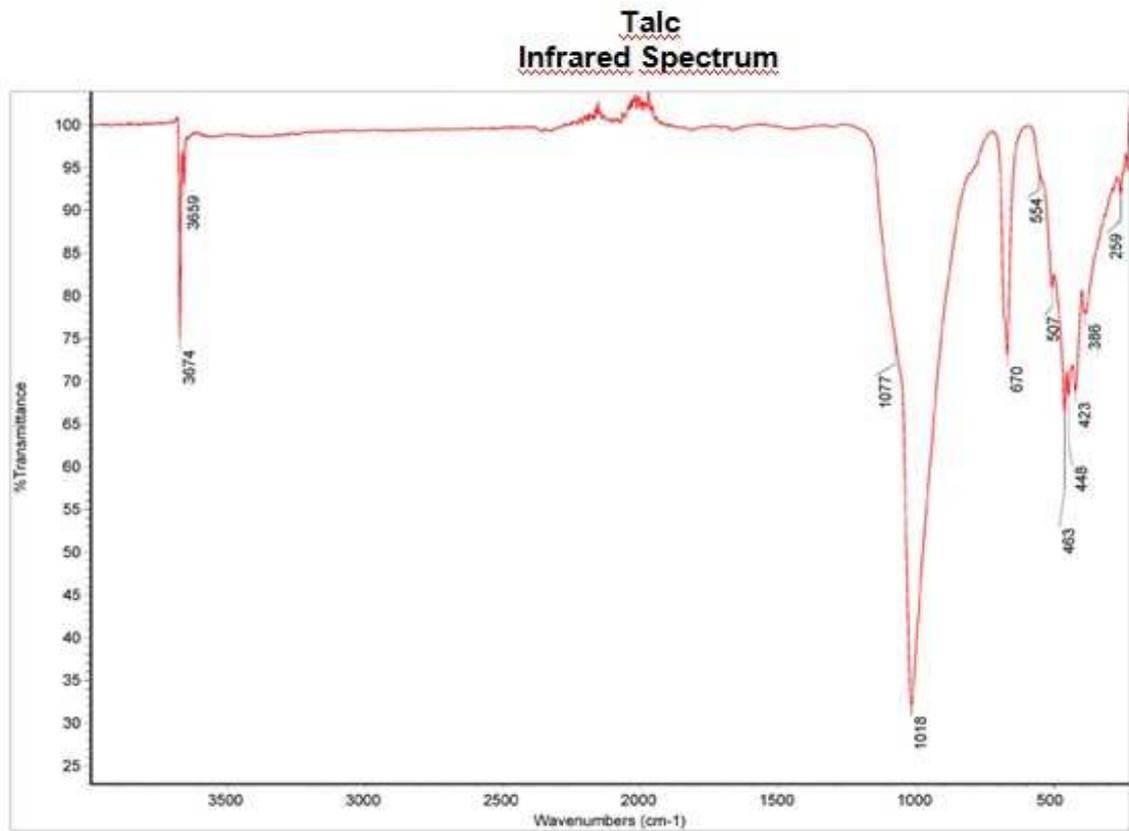
APÊNDICE D - Espectro de infravermelho do padrão amido glicolato de sódio e da MP de amido glicolato de sódio



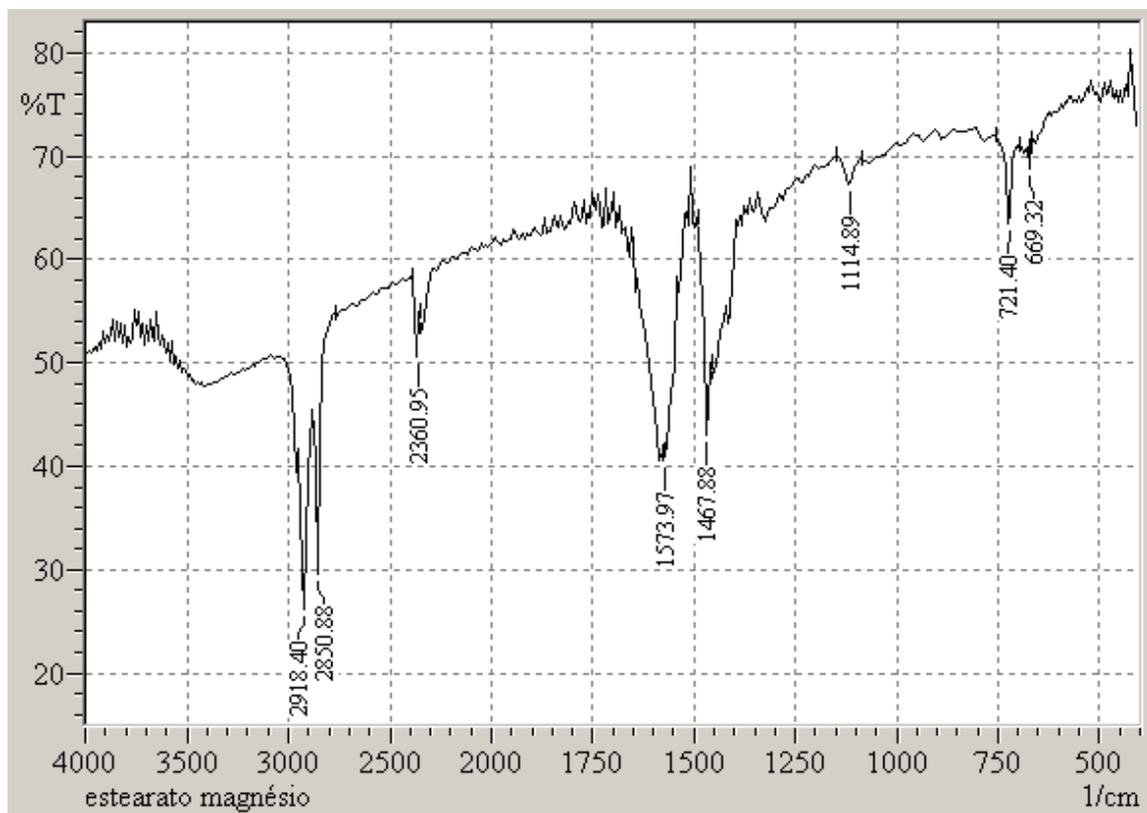
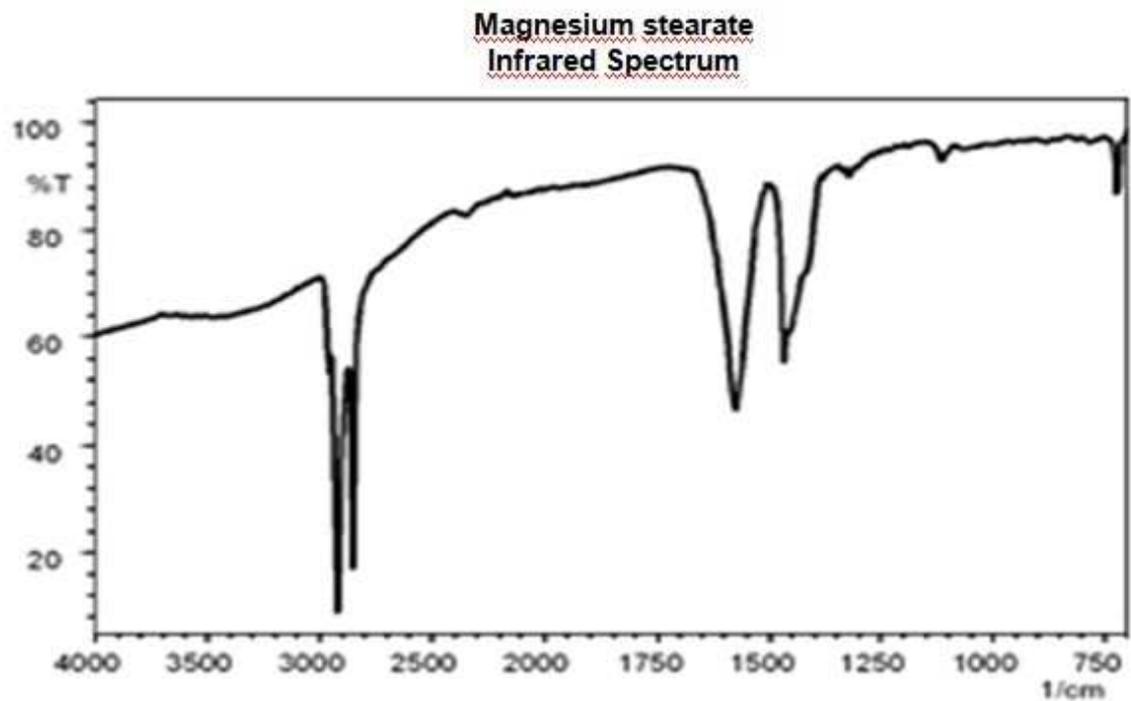
APÊNDICE E - Espectro de infravermelho do padrão ácido esteárico e da MP de ácido esteárico



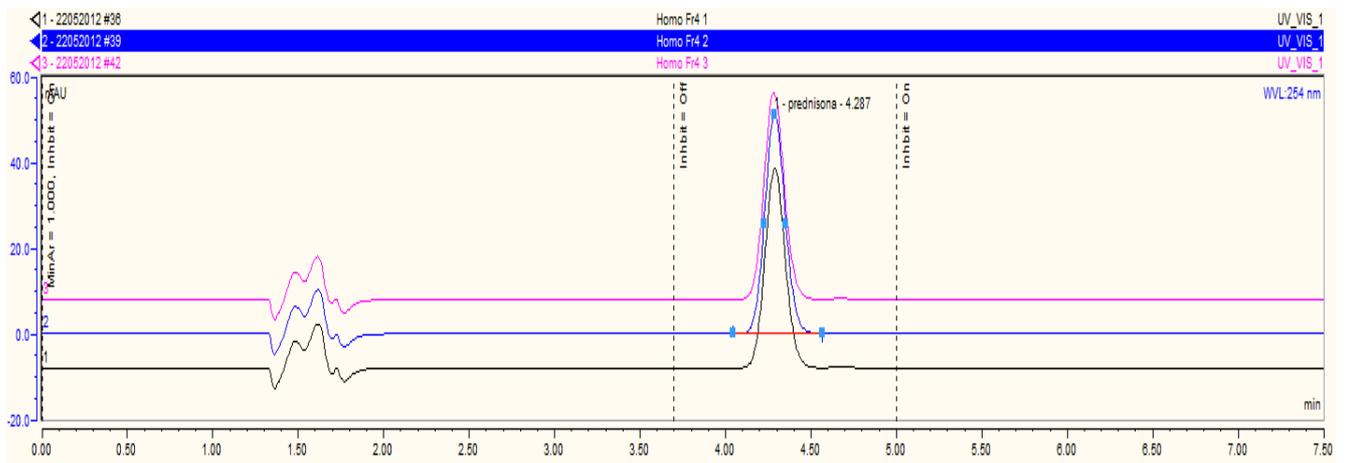
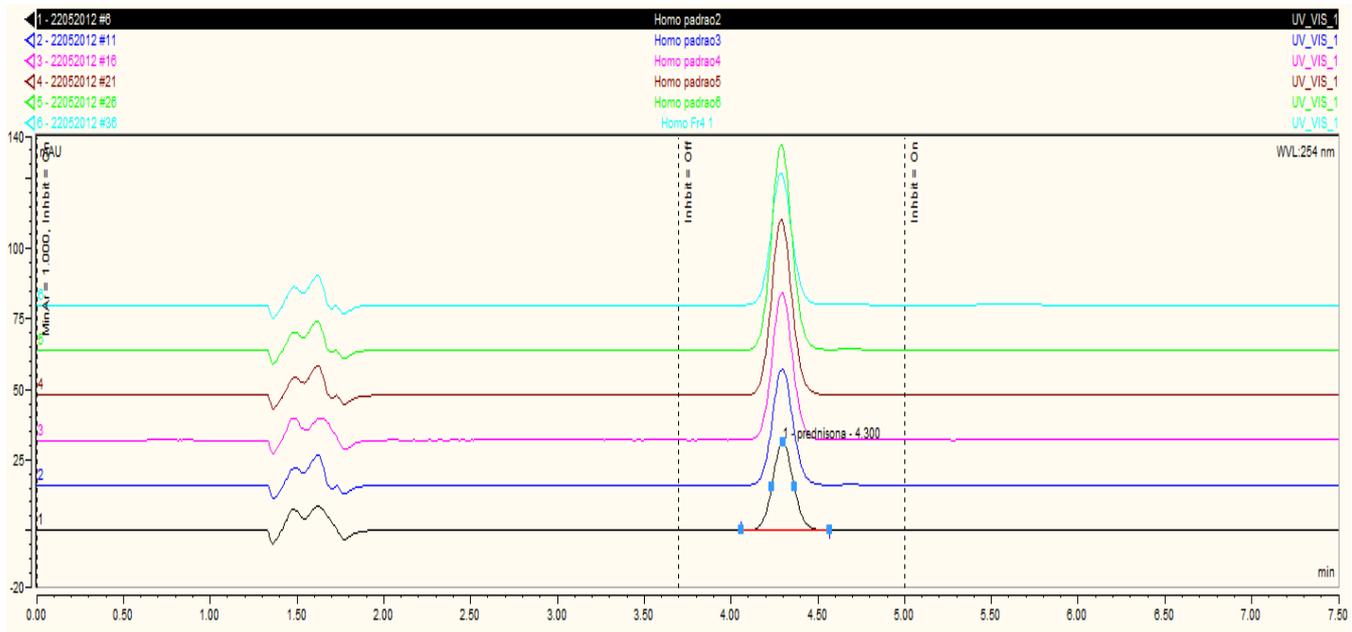
APÊNDICE F - Espectro de infravermelho do padrão talco e da MP de talco



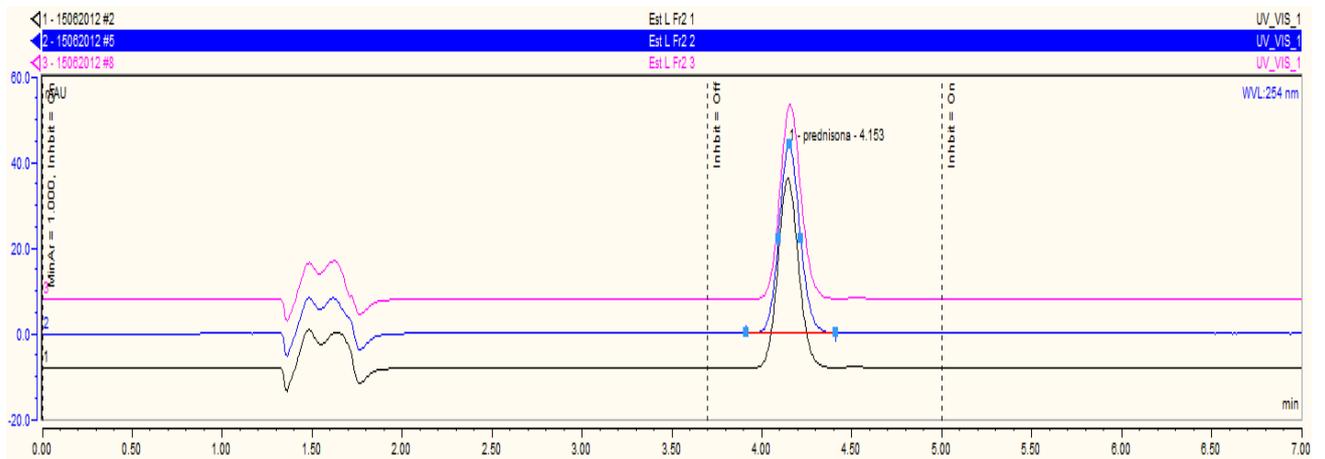
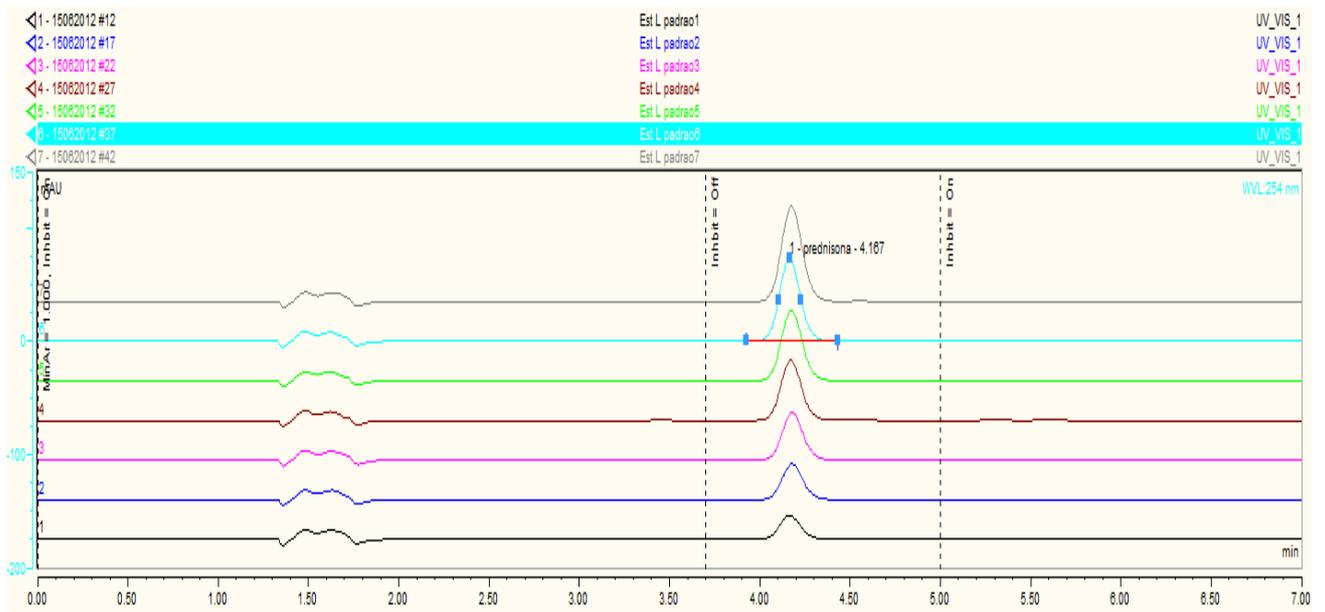
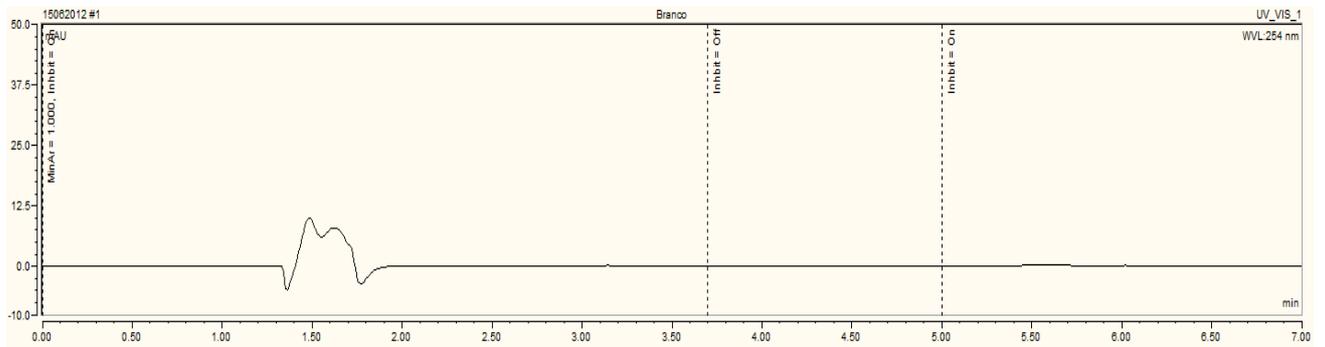
APÊNDICE G - Espectro de infravermelho do padrão estearato de magnésio e da
MP de estearato de magnésio



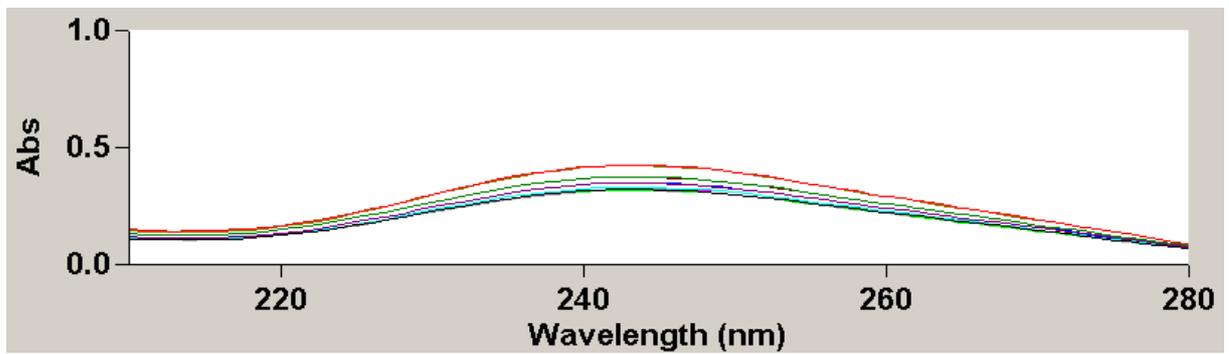
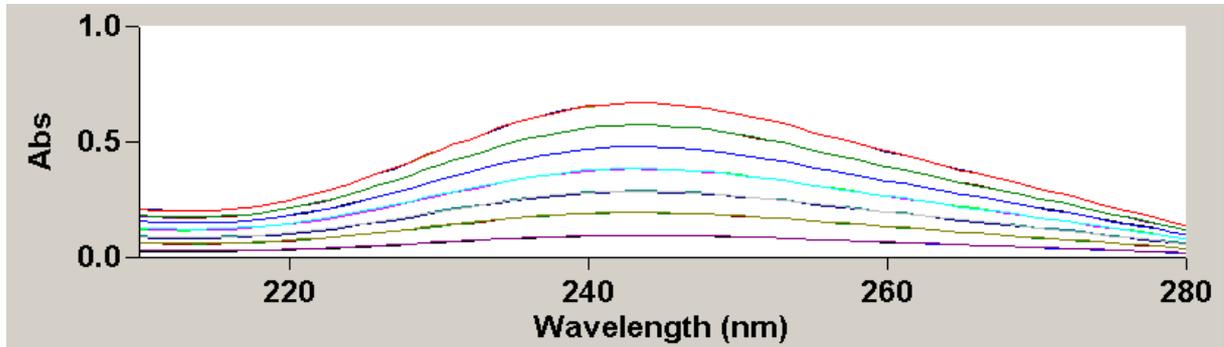
APÊNDICE H - Cromatograma da prednisona na homogeneidade



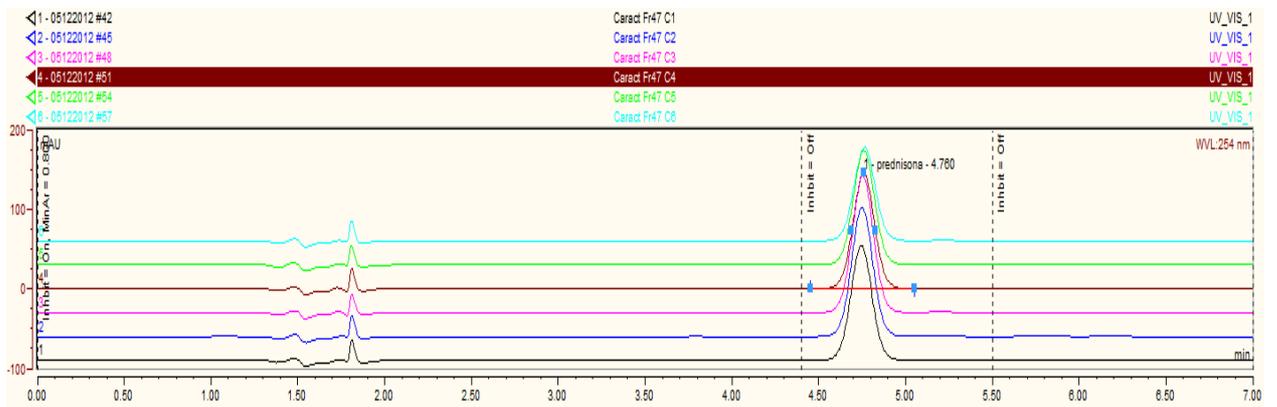
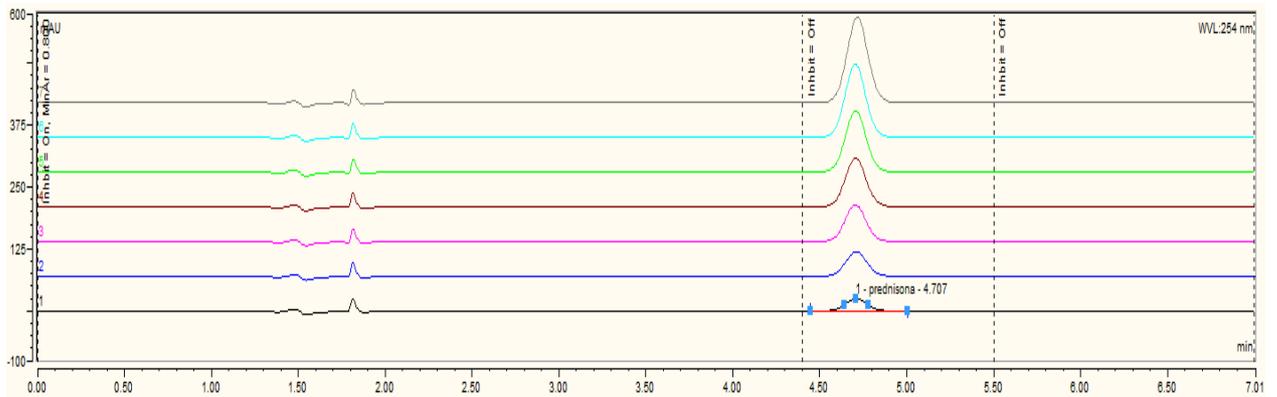
APÊNDICE I - Cromatograma da prednisona na estabilidade



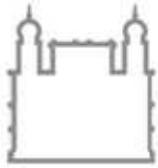
APÊNDICE J - Cromatograma da prednisona na caracterização por espectrofotometria



APÊNDICE L - Cromatograma da prednisona na caracterização por cromatografia líquida de alta eficiência



APÊNDICE M - Protocolo técnico aparato 1 (cesta)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

**PROTOCOLO TÉCNICO**

Comparação Interlaboratorial – Ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg –
Aparato 1 (cesta)

Meio de dissolução: _____

Tempo: _____ minutos Rotação: _____ RPM

Dissolutor calibrado: sim () não()

Marca do dissolutor: _____

Comprimento de onda: _____ nm

Marca do espectrofotômetro: _____

Diluição da amostra: _____

Concentração final da amostra: _____ µg/mL

Padrão FB (X) USP() Outro() Qual? _____

Lote do padrão: 2037 Teor: 99,6%

Massa pesada do padrão: _____

Diluição do padrão: _____

Concentração final do padrão: _____ µg/mL

Número do Item de ensaio utilizado no Estágio 1: _____

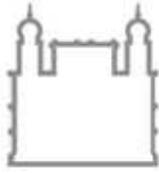
Número do código de participação: _____

Dissolução: Aparato 1 (cesta)

	Estágio 1 - Resultado (%)	Peso dos comprimidos (mg)
Cuba 1		
Cuba 2		
Cuba 3		
Cuba 4		
Cuba 5		
Cuba 6		

Obs: Seguir as condições para o ensaio de dissolução (meio de dissolução, tempo, rotação e comprimento de onda) descritos na monografia para comprimido de prednisona contida na Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.

APÊNDICE M - Protocolo técnico aparato 2 (pá)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

**PROTOCOLO TÉCNICO**
 Comparação Interlaboratorial – Ensaio de Dissolução de Prednisona 10 mg –
 Aparato 2 (pá)

Meio de dissolução: _____

Tempo: _____ minutos Rotação: _____ RPM

Dissolutor calibrado: sim () não()

Marca do dissolutor: _____

Comprimento de onda: _____ nm

Marca do espectrofotômetro: _____

Diluição da amostra: _____

Concentração final da amostra: _____ µg/mL

Padrão FB (X) USP() Outro() Qual? _____

Lote do padrão: 2037 Teor: 99,6%

Massa pesada do padrão: _____

Diluição do padrão: _____

Concentração final do padrão: _____ µg/mL

Número do item de ensaio utilizado no Estágio 1: _____

Número do código de participação: _____

Dissolução: Aparato 2 (pá)

	Estágio 1 - Resultado (%)	Peso dos comprimidos (mg)
Cuba 1		
Cuba 2		
Cuba 3		
Cuba 4		
Cuba 5		
Cuba 6		

Obs: Seguir as condições para o ensaio de dissolução (meio de dissolução, tempo, rotação e comprimento de onda) descritos na monografia para comprimido de prednisona contida na Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.

APÊNDICE N – Teste de Cochran e Grubbs

São testes estatísticos geralmente utilizados para a análise de resultados dispersos, antes de se proceder à interpretação de resultados.

Teste de Cochran

Neste teste, comparam-se variâncias, ou seja, verifica-se se a variância dos resultados obtidos por um grupo é excessiva em relação à dos demais grupos, sendo um teste unilateral, isto é, só verifica o maior valor.

$$C = \frac{s_{max}^2}{\sum_{i=1}^k s_i^2} = \frac{\text{maior variância}}{\text{soma de todas as variâncias}}$$

Onde:

s^2 = estimativa da variância

s_{max}^2 = maior valor encontrado no conjunto como estimativa da variância, no conjunto

n = número de inspetores

Comparar com valor tabelado:

Se $C_{calc} < C_{tab 5\%}$, o valor não é rejeitado

Se $C_{tab 1\%} > C_{calc} > C_{tab 5\%}$, o valor é considerado suspeito ou estranho

Se $C_{calc} > C_{tab 1\%}$, o valor é considerado disperso

Teste de Grubbs

O teste de Grubbs verifica se as médias obtidas pelos vários laboratórios são compatíveis, após efetuado o teste de Cochran.

Dado um conjunto de resultados, os valores devem ser ordenados preferencialmente na ordem crescente. Em seguida, o valor médio e o desvio padrão devem ser calculados.

Neste teste os seguintes parâmetros são calculados:

Para testar o maior valor: $G_1 = \frac{ \bar{x} - x_i }{s}$	Para testar o menor valor: $G_2 = \frac{\bar{x} - x_1}{s}$
Para testar os dois maiores valores: $G_3 = \frac{S_{p-1p}}{S_o^2}$	Para testar os dois menores valores: $G_3 = \frac{S_{1,2}}{S_o^2}$

Onde: \bar{x} é o valor médio calculado dos valores; x_i é o maior valor do conjunto; s é o desvio padrão dos valores; x_1 é o menor valor do conjunto (primeiro valor da série crescente); S_{p-1p} é a diferença quadrática (soma de cada valor menos média ao quadrado) excluindo-se os dois maiores valores do conjunto, tanto na média como na soma; $S_{1,2}$ é a diferença quadrática (soma de cada valor menos média ao quadrado) excluindo-se os dois menores valores do conjunto, tanto na média como na soma e finalmente S_o^2 é a diferença quadrática com todos os valores do conjunto.

A etapa seguinte consiste em localizar na tabela específica os valores de G_1 , G_2 e G_3 considerando nível de confiança igual a 95% e o número de dados existentes (n).

O critério a ser considerado é se G_1 , G_2 e G_3 calculado $\leq G_1$, G_2 e G_3 crítico, o valor testado não é outlier (rejeitado).