

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária



Márcia Pietroluongo

**Estudo de uma Inequivalência Terapêutica entre Duas
Suspensões de Carbamazepina e Desenvolvimento de
Método de Dissolução Biorrelevante**

**Orientação: Dr. Marcio Labastie
Laboratório de Dissolução – Setor de Medicamentos**

**Rio de Janeiro
Outubro - 2005**

Estudo de uma Inequivalência Terapêutica entre Duas Suspensões de Carbamazepina e Desenvolvimento de Método de Dissolução Biorrelevante.

Por

Márcia Pietroluongo

Dissertação de mestrado apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ, como requisito para a obtenção do grau de mestre em Ciências na área de Vigilância Sanitária.

Orientação: Dr. Marcio Labastie

Laboratório de Dissolução – Setor de Medicamentos – INCQS/FIOCRUZ

Rio de Janeiro
Outubro - 2005

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária

Esta Dissertação de Mestrado, intitulada:

**Estudo de uma Inequivalência Terapêutica entre Duas
Suspensões de Carbamazepina e Desenvolvimento de
Método de Dissolução Biorrelevante.**

Apresentada por

Márcia Pietroluongo

Foi avaliada e aprovada em ___ / ___ / 2005, pela banca examinadora, da qual fizeram parte:

Dr. Márcio Labastie (orientador) _____
FIOCRUZ - INCQS

Dra. Nádia Maria Volpato (examinadora) _____
UFRJ

Dr. Josino Costa Moreira (examinador) _____
FIOCRUZ

Dr. Leonardo Lucchetti Caetano da Silva (Suplente) _____
FIOCRUZ

Rio de Janeiro

Outubro - 2005

Ficha Catalográfica

Pietroluongo, Márcia

Estudo de uma inequivalência terapêutica entre duas suspensões de carbamazepina e desenvolvimento de método de dissolução biorrelevante.
/ Márcia Pietroluongo. Rio de Janeiro: INCQS / FIOCRUZ, 2005.

xviii, 79p, il.color. tab. fot. gráf.

Dissertação em Vigilância Sanitária, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária / INCQS, 2005. Orientador: Marcio Labastie.

1. Carbamazepina 2. Suspensão 3. Dissolução 4. Weibull 5. Regressão não linear 6. COMSTAT.

I. Título.

“Não basta conquistar a sabedoria, é preciso saber usá-la”.

(Cícero)

Agradecimentos

De alguma forma, direta ou indiretamente, foram muitas as pessoas responsáveis pela realização deste trabalho. Algumas, porém, eu não poderia deixar de citar e fazer um especial agradecimento:

- Ao Prof. Dr. Márcio Labastie, por aceitar orientar-me repentinamente, mesmo sem referência alguma, e pelo tempo a isto dedicado, sempre com interesse e dedicação.
- A Solange Maria Coutinho Brandão, do laboratório de dissolução do I.N.C.Q.S., pelo enorme conhecimento a mim doado, pacientemente, e pelas várias preciosas horas dedicadas a este trabalho.
- A todos os colegas do laboratório de dissolução, particularmente ao Euclides Quintino da Silva Filho, pelas orientações técnicas necessárias; sem as quais as dificuldades teriam se multiplicado e pela amizade e disposição em ajudar-me.
- A toda direção do departamento de química do I.N.C.Q.S., pelo apoio necessário a realização desta dissertação, em particular a Mariete Lemos, e a todos que ali trabalham, pelo carinho com o qual me receberam.
- A todos os colegas da Pós-graduação pelo companheirismo e amizade.
- Ao especialista de pesquisa Altivo Pitaluga Jr. (Farmanguinhos).
- Ao Laboratório de sistemas Particulados da COPPE (UFRJ) pelo emprego do aparelho Malvern Mastersizer Micro “Plus”, MAF 5001.
- Ao Laboratório de Interfaces da COPPE (UFRJ), na pessoa do Prof. Dr. José Farias de Oliveira, pelas medidas de tensão superficial.
- Ao Prof. Dr. Jean Cumps da Universidade Católica de Louvain Bruxelas - Bélgica pelo emprego do programa Comstat.

- A Profa. Nádia Maria Volpato (UFRJ) e Dr. Josino Costa Moreira (FIOCRUZ) pela orientação recebida no julgamento deste trabalho.
- A minha mãe, que mesmo sem conhecimento técnico, apoiou-me e foi responsável por decisões importantes que me fizeram prosseguir. Pelo incentivo e ajuda que me levaram a concluir este desafio.
- Ao meu pai, a quem também devo, por ter alcançado mais um dos muitos degraus ainda a percorrer.
- A minha madrinha Liette, pelo exemplo, carinho, gestos e palavras amigas que me ajudaram a não desistir.
- Ao Marcelo, meu companheiro de muitos anos, pela compreensão e enorme paciência, diante das dificuldades surgidas, durante a realização deste trabalho.
- A FAPERJ pelo apoio financeiro.

Muito Obrigada!!!

Este trabalho foi realizado no departamento de medicamentos do Instituto de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro, sob a orientação do Dr. Márcio Labastie e apoio financeiro da FAPERJ.

RESUMO

Um caso de inequivalência terapêutica entre duas suspensões de carbamazepina foi estudado com o objetivo de explicar sua ocorrência com base em diferenças prováveis das matérias-primas e da velocidade de dissolução “in vitro”, cujo método não se encontra nas farmacopéias. Não se encontraram diferenças significativas na tensão superficial dos dois produtos ou no coeficiente de dissolução intrínseca das duas substâncias, embora os espectros de calorimetria diferencial de varredura tenham revelado uma fração ligeiramente aumentada do polimorfo beta, o mais solúvel, na carbamazepina utilizada no produto referência. A análise de tamanho de partícula revelou uma área superficial significativamente aumentada para o produto referência, o que explica sua maior velocidade de dissolução. Um método de dissolução farmacopéico foi proposto, com base em resultados encontrados utilizando-se 900 mL de água como meio de dissolução, com o método nº 2 a 50 rpm e 1 ml de amostra de suspensão a 2%. O ensaio realizado nessas condições mostrou poder discriminador satisfatório, aumentado ainda mais pela utilização de solução de NaCl 15% como meio de dissolução, o que permite bloquear o efeito solubilizador do tensoativo presente nas formulações dos dois produtos. Outrossim, a aplicação de um modelo de Weibull aos resultados, por meio do programa de regressão não linear COMSTAT (UCL, Bruxelas) permitiu determinar parâmetros de forma e escala da curva que se mostraram muito úteis para extrapolação de valores de tempo dissolvido, particularmente no caso de cinéticas de dissolução ultra-rápidas, como no caso estudado, de suspensões farmacêuticas.

Abstract

A therapeutical non-equivalence case between two carbamazepine pediatric suspensions was investigated for suspected differences either in carbamazepine raw materials used or in vitro dissolution rate, for which compendia methods do not exist. There were not significant differences in surface tension between the products neither in intrinsic dissolution coefficients between the correspondent carbamazepine substances, while DSC results show a slightly increased fraction of the more soluble beta polymorph carbamazepine used in the reference product. The increased dissolution rate for the last one may be more realistically explained by a higher surface area, from Malvern Size particle distribution result. A dissolution procedure using paddle method 50 rpm and 900 mL of water is suggested, for the minimum possible sample 1 mL of 2% carbamazepine suspension normally collectable. Though not yet totally performed in sink conditions, the method showed a good discriminating power, still more if NaCl 15% in water as medium is used, to block the effect of surfactant present in both the formulations. Moreover, dissolution results fitted by Weibull function with the aid of a non linear program Comstat (Sidec, Brussels), based on a Steepest Descent algorithm, allowed to calculate β (form of the curve) and Td (time) parameters that are very useful in the general case of ultra fast dissolution kinetics, like suspension-formulated drug products, not only to compare several curves but mainly to extrapolate percent dissolved times not obtained in experimental data, making easier the establishment of compendia specifications.

Lista de Abreviaturas

ANOVA – análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância sanitária

CGS – sistema centímetro, grama e segundo

DCB – denominação comum brasileira

DCI – denominação comum internacional

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DTA – análise térmica diferencial

FFSOLI – formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata

MKS – sistema metro, quilograma e segundo

Referência – produto Tegretol®

SSA- área superficial específica

TA – análise térmica

Teste – produto Vate®

Tg – análise termogravimétrica

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO -----	01
1. Um Breve Histórico da Vigilância Sanitária no Brasil -----	01
2. ENSAIO DE DISSOLUÇÃO -----	06
2.1 Origem e Desenvolvimento-----	06
2.2 Bases Teóricas do Ensaio de Dissolução-----	11
2.3 Físico-Química do Processo de Dissolução -----	13
2.3.1 Agitação (convecção natural vs convecção forçada)-----	13
2.3.2 Temperatura-----	13
2.3.3 pH-----	13
2.3.4 Viscosidade-----	14
2.3.5. Tensão Superficial-----	14
2.3.6 Concentração em sais-----	14
2.4 O Ensaio Farmacopéico de Dissolução-----	15
2.5 Fatores que Afetam a Dissolução e Absorção de Fármacos-----	16
2.5.1 Polimorfismo-----	16
2.5.2 Comportamento estereoquímico das moléculas-----	16
2.5.3 Tamanho das partículas-----	17
2.5.4 Higroscopicidade-----	17
2.5.5 Solubilidade-----	17
2.5.6 Natureza dos excipientes que compõem a formulação-----	17
3. CARBAMAZEPINA -----	18
3.1 Carbamazepina como Agente Terapêutico-----	18
3.2 Suspensões de Suspensões-----	19
3.3 Ensaio de Dissolução para Carbamazepina-----	21

OBJETIVOS	23
4.1 Proposição	23
4.2 Objetivos Gerais	25
4.3 Objetivos Específicos	25
METODOLOGIA	26
1. Material	26
1.1 Produtos	26
1.2 Reagentes e Solventes	26
1.3. Vidraria	26
1.4. Substâncias e Materiais de Referência	26
1.5. Instrumental Analítico e Equipamentos	26
2. Parte Experimental	27
2.1. Fatores que Podem Influenciar o Ensaio de Dissolução	28
2.1.1. Fatores Intrínsecos	28
2.1.1.1. Nível do Aparelho	28
2.1.1.2. Prumo do Aparelho	28
2.1.1.3. Velocidade de Rotação	28
2.1.1.4. Excentricidade de Rotação	29
2.1.1.5. Vibrações	29
2.1.1.6. Posicionamento das hastes	29
2.1.1.7. Verificação da Temperatura	29
2.1.2. Fatores Extrínsecos	30
2.1.2.1. pH	30
2.1.2.2. Presença de Gases Dissolvidos	30
2.1.2.3. Volume / escolha do solvente	31

2.1.2.4. Temperatura-----	31
2.2. Calibração do Aparelho de Dissolução-----	31
2.2.1. Utilização de comprimidos calibradores-----	31
2.2.2. <i>Calibração do Dissolutor Erweka</i> -----	32
2.3. <i>Dissolução Intrínseca</i> -----	32
2.3.1. Procedimento-----	32
2.3.2. Curvas de calibração analítica para determinação da dissolução intrínseca-----	34
2.4. Curva Padrão de carbamazepina para os ensaios de dissolução-----	36
2.5. Análise Térmica (TA)-----	37
2.6. Análise da Distribuição do Tamanho de Partículas-----	38
2.7. <i>Tensão Superficial</i> -----	39
3. TRATAMENTO DOS RESULTADOS DE DISSOLUÇÃO-----	41
RESULTADOS-----	45
1. DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA-----	45
1.1 Resultados para carbamazepina referência-----	45
1.2 Resultados para carbamazepina teste-----	46
2. DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS-----	47
3. PONTO DE FUSÃO-----	47
4. ANÁLISE TÉRMICA-----	47
5. TENSÃO SUPERFICIAL-----	50

6. DISSOLUÇÃO	50
6.1.1.2 Comparação de velocidades de 50 rpm e 25 rpm	
(Tegretol em 900 mL de meio)	51
6.1.2. Volume do meio	51
6.1.2.1 Comparação de volumes de meio	
(Referência, 50 rpm, 900 mL e 500 mL)	51
6.1.2.2 Comparação de volumes de meio	
(Referência, 25 rpm, 900 mL e 500 mL)	52
6.2. Ensaio sobre as amostras	52
6.2.1 Ensaio em 500 mL de água (três diferentes lotes do	
Produto referência e um lote do teste)	52
6.2.2 Referência: meio de dissolução: 900 mL de água	53
6.2.3 Referência: meio de dissolução: 900 mL de solução NaCl 15%	53
6.2.4 Produto Teste em 900 mL de água	54
6.2.5 Produto teste em 900 mL de solução de NaCl 15%	54
6.2.6 Comparação entre o produto referência e o produto teste	55
6.3. Tratamento Estatístico dos resultados da dissolução	56
DISCUSSÃO	57
CONCLUSÕES	66
BIBLIOGRAFIA	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo do trânsito dos medicamentos através do organismo (LADME.) -----	08
Figura 2 - Processos que ocorrem após a administração de formas farmacêuticas sólidas-----	09
Figura 3 - Diagrama de Mohr mostrando o processo de molhagem de um sólido por um líquido-----	14
Figura 4 - Processos que ocorrem após a administração de Suspensões-----	22
Figura 5 - <i>Aparelho de dissolução ERWEKA DT6</i> -----	27
Figura 6 - <i>Pastilhador de aço inoxidável Perkin Elmer</i> -----	34
Figura 7 - <i>Prensa hidráulica Carver</i> -----	34
Figura 8 - <i>Pastilhador conectado à haste do dissolutor</i> -----	34
Figura 9 - Curva de calibração para carbamazepina Referência-----	35
Figura 10 - Curva de calibração para carbamazepina teste -----	36
Figura 11 - Curva padrão de carbamazepina em água-----	36
Figura 12 - Curva padrão de carbamazepina em NaCl -----	37
Figura 13 - Determinador do tamanho de partículas Malvern-----	39
Figura 14 - Tensão superficial-----	40
Figura 15 - tensiômetro do anel de platina-----	40
Figura 16 - Tensiômetro de Nouy-----	41
Figura 17 - Gráfico de distribuição de Weibull-----	44
Figura 18 - Dissolução Intrínseca de carbamazepina referência-----	45
Figura 19 - Cristais da matéria-prima referência -----	45
Figura 20 - Dissolução Intrínseca de carbamazepina teste-----	46
Figura 21 - Cristais da matéria-prima teste-----	46
Figura 22 - Curva de DSC 5 ⁰ C/min.-----	48

Figura 23- Curva de DSC 20 ⁰ C/min.-----	48
Figura 24- Difratoograma de RX-----	49
Figura 25 – Referência em 500 mL de água: 50 e 25 rpm-----	50
Figura 26 - Referência em 900 mL de água: 50 e 25 rpm-----	51
Figura 27 - Referência: 50 rpm -----	51
Figura 28 - Referência: 25 rpm -----	52
Figura 29 – Resultados de ensaios realizados com 500 mL de água-----	52
Figura 30 – Dissolução do produto referência em 900 mL de água -----	53
Figura 31 - Dissolução do produto referência em 900 mL de solução de NaCl 15%-----	53
Figura 32 – Dissolução do produto Teste em 900 mL de água -----	54
Figura 33 – Dissolução do produto Teste em 900 mL de NaCl 15 %-----	54
Figura 34 - Curvas de dissolução comparadas em 900 mL-----	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 01- Classificação Biofarmacêutica dos Fármacos-----	10
Tabela 02 - Dissolução intrínseca para matéria-prima referência-----	45
Tabela 03 - Dissolução intrínseca para matéria-prima teste-----	46
Tabela 04 - Distribuição de partículas para as duas suspensões -----	47
Tabela 05 - Ponto de fusão para as duas matérias-primas -----	47
Tabela 06 - Tensão superficial para as duas suspensões-----	50
Tabela 07 - Resultados do Programa Comstat-----	56
Tabela 08 - Tempos de dissolução extrapolados-----	56

INTRODUÇÃO

Desde muitas épocas as sociedades vêm tentando exercer controle sobre os elementos essenciais à vida em coletividade e que geram ameaças à saúde. O reconhecimento da vulnerabilidade do consumidor no mercado farmacêutico, potencializada pela assimetria de informação, justifica e sustenta a obrigatoriedade de sua regulação no interesse da saúde humana e ambiental.

A Vigilância Sanitária, como mediadora das relações entre produtores e consumidores, permite às duas partes a realização de transações comerciais com um mínimo de segurança quanto à qualidade do produto que se vende e a saúde de quem o compra. Nesse sentido, suas ações constituem simultaneamente uma ação de saúde e um instrumento de organização econômica da sociedade. Trata-se de garantir a eficácia e a segurança do produto farmacêutico durante sua utilização.

O setor de medicamentos se caracteriza pela “demanda inelástica”, o que significa que, dada a essencialidade da mercadoria, o consumo mudará muito pouco mesmo que o preço se eleve substancialmente. É isso que caracteriza a falta de resposta à lei da oferta e procura da economia clássica (VICECONTI e NEVES, 1999).

1. UM BREVE HISTÓRICO DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA NO BRASIL

Já o Código de Hamurábi e o Antigo Testamento faziam referências a algumas normas sobre higiene e saúde, inclusive prevendo sanções legais ao seu não cumprimento. Desde as primeiras décadas do século XX, os sanitaristas e administradores afirmaram a necessidade da criação de leis que regulamentassem esses assuntos (LUCHESE, 2000).

O trágico episódio da talidomida, na década de 1960, reforçou a necessidade de fortalecimento dos órgãos nacionais de controle, ampliando-se a legislação com o objetivo de garantir a segurança dos produtos.

No Brasil as atividades da Vigilância Sanitária e Vigilância Epidemiológica tiveram início na época do Brasil Império, com a atuação do Poder Público marcada pela improvisação. Vários órgãos diferentes atuavam simultaneamente normatizando ou controlando atividades de interesse da Saúde Pública, criando-se uma sobreposição de atribuições não raro conflituosa.

No ano de 1903, foram criados o serviço do Porto do Rio de Janeiro e os Distritos Sanitários Marítimos nos Estados, por Oswaldo Cruz. Em 1920, o serviço e distritos supracitados foram transformados, por Carlos Chagas, em Diretorias de Defesa Marítima e Fluvial. Os serviços de Portos, juntamente com o Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina - SNFM, foram criados duas décadas depois.

A legislação da década de 70 dividiu entre os níveis federal e estadual, as competências necessárias à intervenção estatal nessa área. Essa legislação centrava-se na vigilância de produtos, com ações distribuídas entre a esfera estadual e a federal. As competências dos municípios não estavam definidas. Tal situação, definida na Lei nº 6.360/76 avoca, ainda que implicitamente, a necessidade de uma ação articulada entre aquelas esferas de governo, apesar da divisão de atribuições, que deixava às secretarias estaduais o pesado encargo das fiscalizações, sem que a legislação definisse fontes de recursos para sua realização.

A União cobrava taxas das empresas peticionárias e os Estados cobravam pelos alvarás de licenciamento, mas os valores erodidos pela escalada inflacionária não suportavam o orçamento necessário. Esperava-se que os orçamentos da União e dos Estados contemplassem esses recursos.

A falta de uma estrutura levou a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SNVS/MS), também criada no ano de 1976, a trabalhar com as secretarias estaduais de forma assistemática, repassando esporadicamente recursos do Ministério da Saúde, por meio de convênios, às secretarias estaduais. Tanto a estrutura federal quanto a dos órgãos estaduais de vigilância sanitária não acompanharam o crescimento do parque produtivo nacional e foram se tornando defasadas, face à magnitude do setor regulado e às tarefas que a lei lhes outorgava. Sem capacidade fiscalizatória suficiente, esse modelo de vigilância adquiriu características marcadamente cartoriais.

Em 19 de setembro de 1990, foi criada a Lei nº 8080, conhecida como Lei Orgânica da Saúde. Esta lei define um novo conceito para a Vigilância Sanitária:

“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, abrangendo o controle de bens de consumo que direta ou indiretamente, se relacionam com a saúde, compreendidas todas as etapas e processos da produção ao consumo, e o controle da prestação de serviços que se relacionem direta ou indiretamente com a saúde”.

A Lei nº 8.142, de 28 de dezembro de 1990, dispõe sobre a participação da comunidade na gestão do Sistema Único de Saúde - SUS e as transferências intergovernamentais de recursos financeiros na área de saúde.

Em 26 de janeiro de 1999, através da Lei nº 9.782, foi definido o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, em substituição à antiga Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária foi criada no modelo de autarquia especial, com autonomia em relação à Administração direta, caracterizando-se pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes e autonomia financeira. Segundo a Lei que a criou, a finalidade institucional da Agência Nacional de Vigilância Sanitária é:

(...) 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.

É relevante notar que nenhum documento jurídico precedente mostrou tão claramente que a proteção da saúde é a finalidade última da tarefa institucional, deixando espaço para a compreensão da noção de Vigilância Sanitária para além da concepção repressiva e penalizadora (COSTA, 1999, em ROZENFELD, 2000).

Nesse período, impulsionado pelo Mercado Comum do Cone Sul – MERCOSUL – criaram-se instrumentos de aprimoramento da qualidade de produtos, como por exemplo, as Guias de Boas Práticas de Fabricação e os roteiros para inspeção de indústrias de medicamentos. Foi criado também o Programa Nacional de Inspeção em Indústrias Farmacêuticas e Farmoquímicas -PNIFF, vigente, mas pouco ativo.

A Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, estabeleceu o medicamento genérico no País, ressaltando a necessidade de assegurar a qualidade, segurança e

eficácia do medicamento genérico e garantir sua intercambialidade com o respectivo produto de referência.

O conceito de intercambialidade está ligado aos níveis de equivalência reconhecidos na literatura, a saber:

- Equivalência Química: mesma composição da droga ativa.
- Equivalência Galênica ou Farmacêutica: mesma forma farmacêutica e idênticas propriedades físico-químicas.
- Equivalência Biológica: O medicamento produz idênticas concentrações plasmáticas em determinado tempo com as mesmas doses.
- Equivalência Clínica: mesma resposta terapêutica com as mesmas doses e posologia (DELFINA, e OJEDA, 1974)

A equivalência biológica era estreitamente relacionada à equivalência clínica ou terapêutica, de acordo com a hipótese de que o efeito farmacológico é estreitamente ligado à concentração do fármaco no sangue (TEORELL, 1937).

A Lei nº 9.787 foi regulamentada pela Resolução nº 391, de agosto de 1999, que define:

Alternativas Farmacêuticas: são medicamentos que contém a mesma molécula terapeuticamente ativa, ou seu precursor, mas não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica, sal ou éster (...).

Equivalentes Farmacêuticos: são medicamentos que contém o mesmo fármaco, isto é, mesmo sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos (...).

Medicamento genérico: medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCI. Segundo a Organização Mundial de Saúde, medicamento intercambiável é aquele terapeuticamente equivalente ao medicamento referência.

Medicamentos Bioequivalentes: equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam

diferenças estatisticamente significativas em relação a biodisponibilidade.

Pelo que está escrito, compreende-se que o instrumento de comparação de intercambialidade é o resultado da bioequivalência produzido pelo teste realizado nas condições ali descritas.

A instituição do medicamento genérico no Brasil seguiu quase exatamente a experiência americana. O medicamento é um sistema de liberação do fármaco; pode ser bom ou deficiente no seu papel de liberar o fármaco eficientemente para a absorção na circulação sistêmica ou biofase. Daí porque ensaios de biodisponibilidade são necessários. Tais ensaios não são feitos somente por testes clínicos de eficácia, já que não é o fármaco que está em questão, mas o medicamento. É o processo de absorção ou fatores ligados ao sistema de liberação que são objeto de estudo para garantir a biodisponibilidade do fármaco e a bioequivalência do medicamento de um ou outro produtor e de lote a lote de um mesmo produto (STAVCHANSKY e MCGINITY, 1990).

Desde suas primeiras regulamentações, o FDA isentava de demonstração de bioequivalência a produtos que satisfizessem certos critérios: mesmo medicamento em duas ou mais dosagens; reformulações de produtos que implicassem somente componentes tais como corante, conservante ou flavorizante; mesmo ingrediente ativo ou fração terapêutica na mesma dose que outro medicamento cujos resultados de biodisponibilidade fossem conhecidos e que se correlacionassem com os resultados “in vitro”, etc. É nesse contexto que surge a noção de equivalência farmacêutica, tal como definida acima. A Resolução nº 310, editada pela Anvisa em setembro de 2004, determinou a publicação do “Guia para realização do estudo e relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução”, exigindo para os estudos de equivalência farmacêutica a apresentação do estudo comparativo dos perfis de dissolução dos dois produtos (teste e referência). O instrumento para isso é o ensaio de dissolução, cuja origem e metodologia serão enfocados a seguir.

2. ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

2.1 ORIGEM E DESENVOLVIMENTO

Historicamente, o primeiro aparelho para avaliar a dissolução de um medicamento deve-se a Wruble, que em 1930 desenvolveu um dispositivo para estudar a permeabilidade do revestimento em comprimidos. Ocorrências repetidas de comprimidos sendo recuperados nas fezes levaram no início da década de 1940 o Exército dos EUA a contratar os serviços de um grupo de cientistas que, encabeçado por Bernard Oser, desenvolveu o conceito de “disponibilidade fisiológica” para comprimidos multivitamínicos (LEVY, 1995; OSER, 1945). Em 1946, chegou-se ao teste de desintegração na sua forma atual (GERSHBERG e STOLL, 1946).

Edwards, em 1952, estabeleceu que as drogas são absorvidas quase tão rapidamente quanto se dissolvem, donde a verdadeira condição para a absorção era a dissolução, e não a desintegração que naquela época era o parâmetro para os estudos sobre a liberação de fármacos (EDWARDS, 1952).

Em 1955 registra-se a primeira tentativa de relacionar velocidade de dissolução com velocidade de absorção (PARROTT, WURSTER e HIGUCHI, 1955). Em 1960 foi dada a primeira sugestão de um aparelho de dissolução universal (modelo do becher) (LEVY, 1960).

No ano seguinte, o nome "Biofarmácia" aparece pela primeira vez nos trabalhos de Wagner (WAGNER, 1961). Já em 1963, ocorre a primeira comunicação de bioinequivalência entre dois produtos em consequência de diferenças na velocidade de dissolução de comprimidos (CAMPAGNA *et al*, 1963), quando uma portadora de peritonite que se tratava com prednisona deixou de obter o alívio habitual, ao usar outra marca do mesmo fármaco. Um dia após voltar a usar o medicamento original obteve completa remissão dos sintomas. Os testes demonstraram que ambos os comprimidos tinham o mesmo teor de prednisona e atendiam à especificação oficial da U.S.P. para o teste de desintegração. Os comprimidos que se mostraram inativos desintegravam-se em partículas maiores que se depositavam no fundo dos tubos de teste, tornando a velocidade de dissolução muito variável. Outros casos semelhantes, um com o mesmo fármaco e outro com a tolbutamida, foram relatados, levando Morrison e Campbell a escrever em 1965 "*... É necessário estabelecer-se um teste de dissolução in vitro...*"

(MORRISON e CAMPBELL, 1965) Nesse mesmo ano foi apresentada a primeira correlação entre resultados de dissolução e de absorção (LEVY, 1965).

Brice e Hammer, investigando 16 marcas de comprimidos e cápsulas de tetraciclina, concluíram que todos eles produziam níveis sanguíneos mais baixos que o produzido por um produto considerado padrão: um exemplo clássico de bioinequivalência (BRICE e HAMMER, 1969). O impacto da comunicação levou as autoridades americanas a criar um Grupo de Trabalho, cujo relatório final estimulava o desenvolvimento e estabelecimento de um ensaio “in vitro” com suficiente poder preditivo da absorção “in vivo”.

A conseqüência direta destes eventos foi a introdução, em 1970, do ensaio de dissolução na USP XVIII. Diversas comunicações avaliaram, entre 1970 e 1975, as deficiências e alternativas para este aparelho primitivo: desde dimensões e posicionamentos (SIMIONI e BOTTONI, 1973), passando pelo uso da cesta giratória (PERNAROWSKI *et al*, 1968) até a constatação da insuficiência de conhecimento de todas as variáveis hidrodinâmicas do sistema gastrointestinal (CESCHEL *et al*, 1972). Revisto com todas essas críticas e contribuições e suplementado então pelo uso do balão de fundo hemisférico em estações múltiplas de acionamento simultâneo (POOLE, 1968), o aparelho de dissolução foi apresentado pela primeira vez em sua forma atual (Pharmacopeial Forum, 1977). A primeira edição da Farmacopéia Americana em que o aparelho de dissolução foi apresentado em sua configuração atual é a 20ª edição, de 1980.

A figura 1 ilustra os processos biológicos envolvidos na absorção, distribuição, metabolização e excreção de uma droga veiculada por um medicamento, e o papel do fenômeno de liberação como iniciador de toda essa cadeia de acontecimentos. Após a administração de uma forma farmacêutica sólida, por via oral, as etapas seqüenciais de desintegração, desagregação e dissolução irão culminar no fármaco solubilizado no meio, cuja forma não dissociada alcança a circulação sistêmica (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995). Estas sub-etapas estão bem representadas no esquema ilustrado na figura 2.

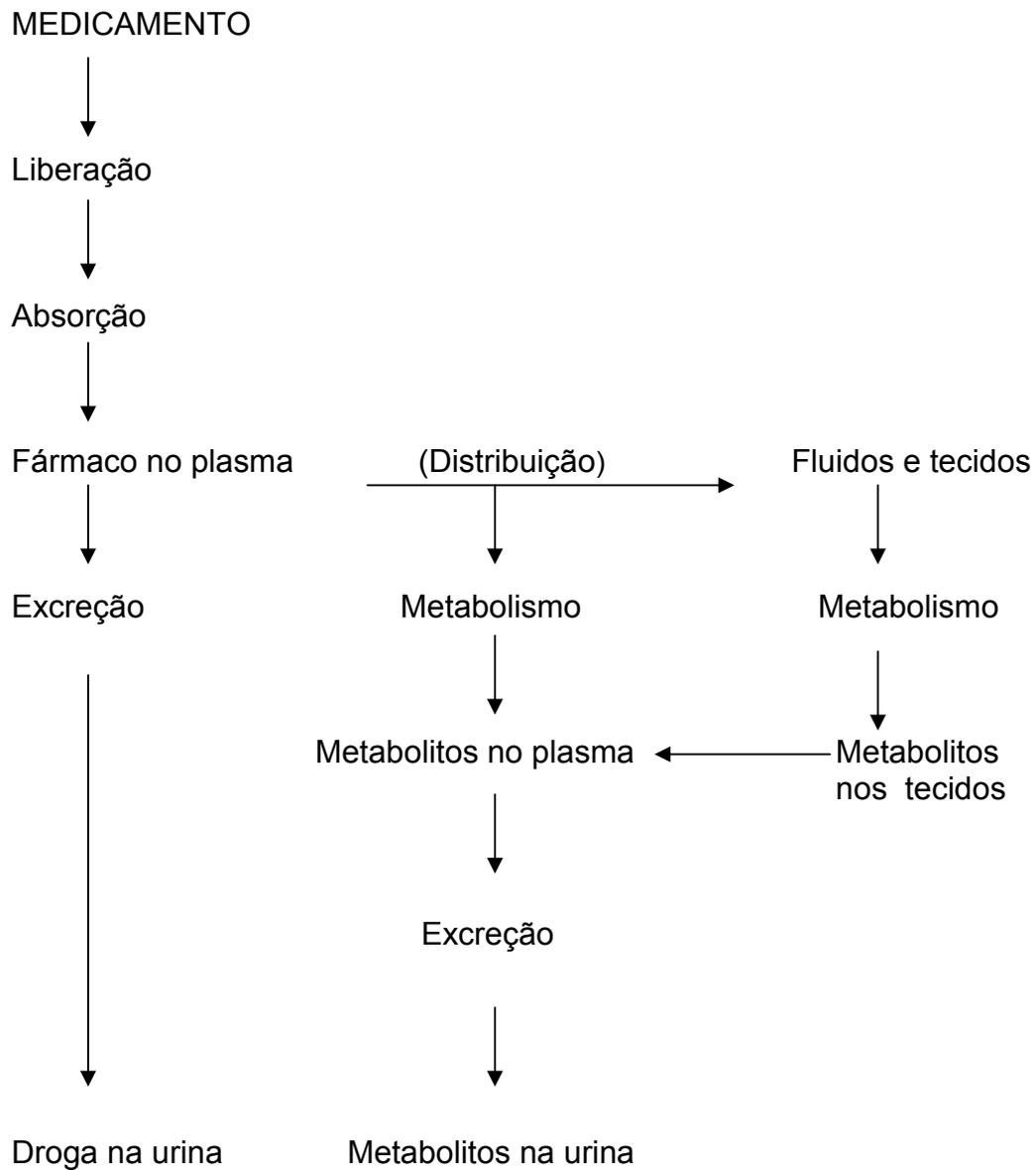


Figura 1

Esquema representativo do trânsito dos medicamentos através do organismo, mostrando as cinco fases principais que são consideradas: liberação, absorção, distribuição, metabolismo e excreção (LADME). Observa-se o papel do plasma como sistema central coordenador de todas as fases.

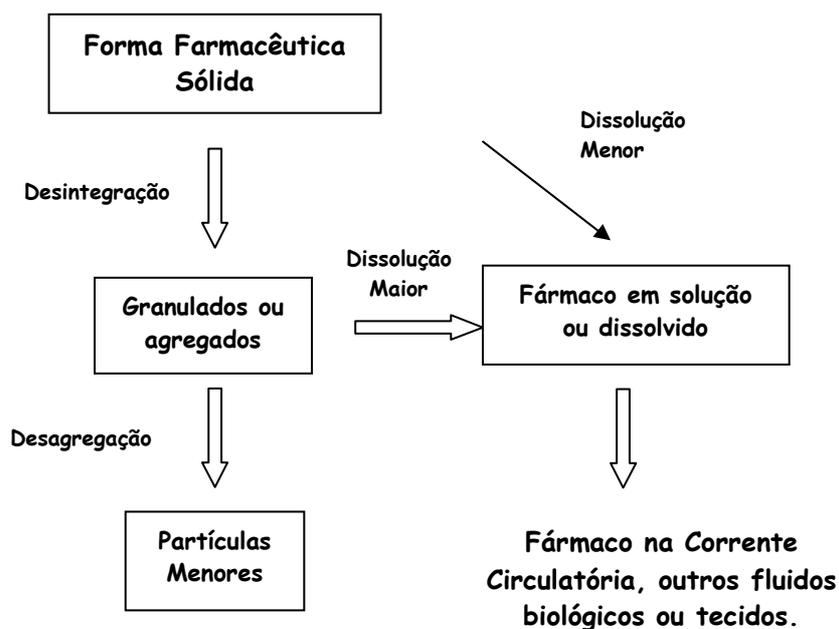


Figura 2

Processos que ocorrem após a administração de formas farmacêuticas sólidas.

Fica claro, então, que a avaliação da eficácia de um medicamento, assim como a comparação entre eficácias de medicamentos que apresentem o mesmo fármaco na mesma quantidade, depende de aferir a presença do fármaco ou de seus metabolitos em cada um dos níveis assinalados na Figura 1. Os testes clínicos de potência de um dado produto, assim como os testes que dosam níveis sanguíneos do fármaco, são demasiadamente complexos e dispendiosos para servirem como ensaio rotineiro. A introdução de testes “in vitro”, suficientemente práticos e reproduzíveis, veio atender a essa necessidade.

A alternativa mais viável para estabelecer um teste que possa ser executado em laboratório de forma rotineira, sem envolver indivíduos, seria avaliar a etapa de liberação.

Para ser absorvido pela membrana gastrointestinal, o fármaco deve primeiro se dissolver no fluido digestivo. Fármacos pouco solúveis serão mais dificilmente absorvidos. Nesse caso, é a velocidade de dissolução o passo limitante da absorção.

Isso está bem ilustrado no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (AMIDON, 1995) que agrupa os fármacos em classes de acordo com sua solubilidade e sua permeabilidade biológica.

Tabela 1
Classificação Biofarmacêutica dos Fármacos

Classe	Solubilidade	permeabilidade
1	Alta	Alta
2	Baixa	Alta
3	Alta	Baixa
4	Baixa	Baixa

- Para os fármacos classificados como classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade), acredita-se que possam ser isentos de estudos de bioequivalência, desde que os produtos apresentem também dissolução rápida;

- Para os fármacos classificados como classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) espera-se uma boa correlação entre as velocidades de dissolução In Vitro – In Vivo;

- Para os fármacos classificados como classe III (alta solubilidade e baixa permeabilidade), o fator limitante é a velocidade de absorção, ou seja, a permeabilidade do fármaco. Sendo assim a correlação In Vitro – In Vivo não pode ser demonstrada;

- Não se espera correlação In Vitro – In Vivo para fármacos classe IV.

Pode-se daí concluir que resultados de dissolução podem predizer a velocidade de absorção “in vivo” para medicamentos compreendidos na classe II, embora para aqueles da classe III possa também se esperar um bom nível de correlação no caso específico de medicamentos de liberação prolongada, onde a dissolução é limitada pela liberação do fármaco a partir do medicamento. Além disso, mesmo para fármacos da Classe I o ensaio de dissolução pode ser de interesse como ferramenta de Controle de Qualidade e reprodutibilidade entre lotes.

2.2 BASES TEÓRICAS DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

Quando uma substância se dissolve, a sua concentração crescente no meio exerce um efeito retardador sobre a velocidade do desenrolar do processo, de acordo com a Equação de Noyes – Whitney (WAGNER, 1961):

$$\frac{dm}{dt} = K \cdot S \cdot (C_s - C) \quad \text{Eq. 1}$$

Sendo:

dm/dt \Rightarrow quantidade de substância dissolvida por tempo;

K \Rightarrow constante de velocidade de dissolução;

S \Rightarrow área superficial do sólido exposto ao meio;

C_s \Rightarrow solubilidade da substância, que corresponde à sua concentração em um filme de solvente envolvendo sua superfície;

C \Rightarrow concentração da substância já existente no solvente.

A velocidade de dissolução é governada pela velocidade de difusão das moléculas de soluto através da camada de saturação na superfície do comprimido, assemelhável a uma membrana, em direção ao seio do solvente.

Pela equação 1, uma vez que a solubilidade de um sólido é constante para cada solvente, a uma determinada temperatura, a velocidade de dissolução de um fármaco pode aumentar seja aumentando-se sua área superficial (através da redução do tamanho da partícula), seja incrementando a constante de velocidade de dissolução K (aumentando a intensidade de agitação do solvente) ou ainda aumentando o gradiente de concentração do sólido entre sua superfície e no seio do solvente. Isso significa que aumentando o valor de C diminui o valor de $(C_s - C)$ e também diminui a velocidade de dissolução. Este efeito retardador da concentração de soluto sobre a velocidade de dissolução, que não se observa “in vivo”, foi objeto de investigação desde as primeiras tentativas de desenvolvimento do teste de dissolução, por afetar fortemente sua correlação biológica. Uma alternativa foi o emprego de grandes volumes de solvente, de maneira a reduzir a um mínimo os efeitos da mudança da concentração, e outra foi repor volumes do solvente,

esgotados de maneira intermitente, ao avizinhar-se de seu limiar de saturação pelo soluto. Desta maneira a variação de C torna-se desprezível e a equação pode ser escrita, simplesmente:

$$\frac{dm}{dt} = K \cdot S \cdot C_s \quad \text{Eq. 2}$$

A técnica de se eliminar o efeito da saturação do solvente sempre dividiu os métodos de dissolução em *sink* (esgotamento) ou *não-sink* (sem esgotamento). Métodos *sink* foram propostos na literatura, em que uma fase de solvente orgânico extraía o soluto da fase aquosa, quando este atingia uma dada concentração (GIBALDI e FELDMAN, 1967). Evidentemente a factibilidade deste método dependia de um adequado coeficiente de partição do fármaco entre os dois solventes. Publicações posteriores sugeriram o uso de uma membrana dializadora. Todavia estes métodos, embora reproduzissem mais exatamente o fenômeno de absorção do fármaco pelo organismo através dos fluidos digestivos, mostraram-se pouco adequados para o uso rotineiro em laboratório. Na prática, se a quantidade do meio de dissolução é suficientemente grande ($\cong 6$ vezes superior) para minimizar o efeito da saturação do solvente, diz-se que estamos em condições de esgotamento., que simulam a ação de um meio extrator externo.

A equação de Noyes-Whitney é análoga à lei de Fick, que caracteriza a velocidade de difusão de um sólido por uma membrana. Nesse caso, essa velocidade é função da:

- Facilidade de partição (t) e de difusão (D)
- superfície de contato com a membrana (S)
- Inversamente à espessura da membrana (e)
- Gradiente de concentração (interna – externa)

$$\frac{d_q}{d_t} = \frac{k \cdot D}{e} \cdot S \cdot (C_1 - C_2) \quad \text{Eq. 3}$$

2.3 FÍSICO-QUÍMICA DO PROCESSO DE DISSOLUÇÃO

2.3.1 Agitação (convecção natural vs convecção forçada)

As condições de agitação devem simular de alguma forma o peristaltismo fisiológico. Alguns autores estabeleceram uma relação entre a intensidade de agitação e a constante de velocidade de dissolução (k , Noyes-Whitney) da ordem de

$$k = a \cdot v^b \quad \text{Eq. 4}$$

Onde v é a velocidade de agitação, a e b são constantes. O regime de fluxo varia entre laminar e turbulento segundo o valor de b (de zero a um). Se $b = 0$, $v = 1$ e a dissolução se faz em convecção natural (CARCAMO, 1981).

2.3.2 Temperatura

A dissolução da maioria das substâncias sólidas é um fenômeno endotérmico, portanto aumentos de temperatura tendem a aumentar a velocidade com que uma substância se dissolve.

2.3.3 pH

A solubilidade C_s de um ácido fraco ou de uma base fraca se exprime em termos de concentração iônica (H^+) e da solubilidade intrínseca C_0 da forma não-dissociada de acordo com as expressões

$$C_s = C_0 (1 + k_a/[H^+]) \text{ (ácido fraco)}$$

$$C_s = C_0 (1 + [H^+]/k_a) \text{ (base fraca)}$$

Sendo k_a a constante de equilíbrio ácido-base

$$\frac{[H^+][A^-]}{HA}$$

$$dm/dt = k \cdot S \cdot C_0 (1 + k_a/[H^+]) \text{ para um ácido fraco}$$

$$dm/dt = k \cdot S \cdot C_0 (1 + [H^+]/k_a) \text{ para uma base fraca}$$

Para uma base fraca como a quinidina a velocidade da dissolução é acelerada em um meio ácido (alta concentração de $[H^+]$). Para um ácido fraco como o ácido valpróico a recíproca é verdadeira

2.3.4 Viscosidade

A velocidade de difusão do soluto a partir da camada de saturação é definida pela equação de Stokes-Einstein

$$D = \frac{R.T}{6.\pi.r.\eta.N}$$

Eq. 5

R: constante dos gases perfeitos

T: temperatura absoluta

h: viscosidade cinemática

r: raio médio das partículas

N: nº de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$)

Portanto, a velocidade de difusão diminui com o aumento da viscosidade, o que implica em diminuição da velocidade de dissolução.

2.3.5 Tensão Superficial

Para que haja dissolução de um sólido em um líquido, é necessário que a molhagem seja completa. A capacidade de molhagem de um sólido por um líquido é expressa pelo ângulo de contato θ indicado no Diagrama de Mohr.

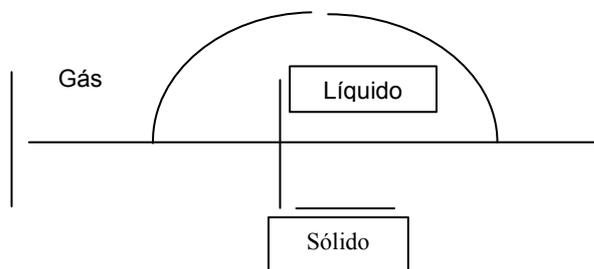


Figura 3

Diagrama de Mohr mostrando a molhagem de um sólido por um líquido

2.3.6 Concentração em sais

A adição de cloreto de sódio desloca a constante de ionização de fármacos sob a forma de cloridrato acarretando uma diminuição de sua solubilidade. Por outro lado, a velocidade de dissolução de uma substância pode ser acelerada por adição de substâncias complexantes, como derivados da uréia e ácido tânico (FELDMAN e GIBALDI, 1967).

2.4 O ENSAIO FARMACOPÉICO DE DISSOLUÇÃO

O ensaio de dissolução determina a porcentagem da quantidade de fármaco, em relação ao declarado no rótulo do produto, liberado no meio de dissolução, dentro de um determinado período de tempo, quando o mesmo é submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais definidas. Testes de dissolução *in vitro* são usados para :

- Avaliar a qualidade de um medicamento lote a lote
- Guiar o desenvolvimento de novas formulações
- Assegurar a qualidade e eficácia do produto depois de certas mudanças, como na formulação, no processo de fabricação, local de fabricação, e transposição de escala no processo produtivo

Os seguintes métodos de dissolução estão especificados:

- ✓ Método nº 1: cesta giratória em aço inoxidável 0.12 mm abertura (40 *mesh*) a 2,5 cm do fundo da cuba. Velocidade de agitação: 50 rpm e 100 rpm.
- ✓ Método nº 2: pá em aço inoxidável ou revestida de teflon, 83 mm de rotação total. Admite-se o uso de *sinkers* (âncoras) para fixar ao fundo da cuba um sólido que flutue. Velocidade de agitação: 50 rpm e 75 rpm.
- ✓ Método nº 3: cilindros recíprocos (para formulações em microgrânulos revestidos encapsulados).
- ✓ Método nº 4: fluxo contínuo (mais adequado para produtos encerrando fármacos pouco solúveis que requerem grande quantidade de meio de dissolução).
- ✓ Métodos nº 5, 6 e 7: para formulações não orais (adesivos transdérmicos) ou não desintegrantes (bombas osmóticas).

As características físico-químicas do fármaco são determinantes na escolha das condições nas quais o ensaio deve ser conduzido. Os fatores que influenciam o ensaio de dissolução, como a temperatura, o meio de dissolução, a velocidade e o tipo de agitação e a verificação do equipamento, devem ser atenciosamente observados, para que seus resultados sirvam como estimativa dos resultados *In Vivo* (SKOUG et al., 1997).

2.5 FATORES QUE AFETAM A DISSOLUÇÃO E ABSORÇÃO DE FÁRMACOS

2.5.1 Polimorfismo

Muitas substâncias podem existir em mais de uma forma cristalina e com diferentes arranjos espaciais. Esta propriedade é chamada polimorfismo e as diferentes formas de cristal são os polimorfos. Pode-se, através de condições e técnicas de cristalização apropriada, obter a forma polimórfica de interesse. Os polimorfos em geral apresentam propriedades físico-químicas diferentes, inclusive ponto de fusão e solubilidade.

A ocorrência de formas polimórficas nos fármacos é relativamente comum: estima-se que pelo menos um terço de todos os compostos orgânicos apresentam polimorfismo. Além das formas polimórficas em que os compostos podem existir, podem ocorrer também em formas não cristalinas ou amorfas. Em geral a forma que apresenta menor energia livre é a mais estável, enquanto a variedade amorfa dissolve-se mais rapidamente. Alguns polimorfos são metaestáveis e podem converter-se para uma forma mais estável com o tempo (SHARGEL & YU, 1999). A avaliação da estrutura do cristal, do polimorfismo e da forma de solvato é um aspecto importante a ser considerada na formulação de um medicamento. As mudanças nas características dos cristais podem influenciar a biodisponibilidade, a estabilidade química e física, e ter implicações significativas na elaboração de uma forma farmacêutica, influenciando propriedades como fluxo e compressibilidade, entre outras, na formulação de um comprimido.

Inúmeras técnicas são utilizadas para determinar uma estrutura cristalina. Os métodos mais usados são microscopia, análise térmica e difração de raios-X.

A não caracterização do polimorfo utilizado pode levar a um produto ineficaz pelo comprometimento da dissolução do fármaco e de sua biodisponibilidade.

2.5.2 Comportamento estereoquímico das moléculas

Outro aspecto a ser considerado, é o comportamento estereoquímico das moléculas. Grande parte das moléculas biológicas é quiral, sendo isoladas normalmente como um único estereoisômero (SHARGEL & YU, 1999).

Quirais são moléculas de composição química idêntica, mas que não são sobreponíveis com sua imagem no espelho. A maior parte das rotas de síntese empregadas atualmente dá origem a racematos, ou seja, uma mistura de

estereoisômeros, pelo fato de serem rotas menos complexas tecnologicamente. Aparentemente, essa diferença é irrelevante, uma vez que a dissolução não sofre influência de características quirais, tampouco a absorção quando não modulada por sistemas enzimáticos, mas a ligação a receptores biológicos pode ser específica a uma das formas quirais. Entretanto, tais compostos podem apresentar atividades biológicas distintas ou diferenças significativas em relação à intensidade da ação farmacológica.

2.5.3 Tamanho das partículas

Com a redução do tamanho das partículas do fármaco obtém-se maior área superficial do sólido em contato com o meio de dissolução, resultando em maior velocidade de dissolução (ANSEL *et al.*, 2000; MARTIN e VILADROSA, 2000).

2.5.4 Higroscopicidade

As formas anidras dos fármacos possuem maior atividade termodinâmica em relação aos seus hidratos correspondentes e, conseqüentemente, maior solubilidade e velocidade de dissolução em relação às formas hidratadas (ABDOU, 1989).

2.5.5 Solubilidade

Somente o fármaco dissolvido nos líquidos do trato gastrointestinal pode ser absorvido, o que requer determinada hidrossolubilidade; entretanto, o fármaco deve apresentar também certa lipossolubilidade para atravessar as membranas biológicas que são de natureza lipo-protéica (SHARGEL & YU, 1999).

2.5.6 Natureza dos excipientes que compõem a formulação

Os excipientes presentes em uma formulação farmacêutica podem afetar a dissolução do fármaco e, conseqüentemente, a velocidade e quantidade pelas quais o mesmo estará disponível para ser absorvido (GIBALDI, 1991). Tal fato ressalta a importância de avaliar o efeito das alterações efetuadas na formulação pós-registro em relação ao perfil de dissolução de uma formulação tomada como referência, o que, muitas vezes, pode requerer a realização de novo teste de bioequivalência. Alguns componentes das formulações, como amido e outros desintegrantes tendem a favorecer a dissolução. Outros como o talco e o estearato de magnésio, que atuam como deslizante e lubrificante, respectivamente, dificultam a dissolução e devem ser adicionados em quantidades mínimas (GIBALDI, 1991).

Também são importantes, no caso de comprimidos revestidos e drágeas, as diferenças no tipo e composição do revestimento. Vários polímeros atualmente disponíveis comercialmente são empregados com essa finalidade, que afeta

diretamente os processos de desagregação do medicamento nos líquidos do trato gastrointestinal, influenciando a dissolução e, conseqüentemente, a absorção do fármaco (STORPIRTIS e RODRIGUES, 1998).

3. CARBAMAZEPINA

3.1 CARBAMAZEPINA COMO AGENTE TERAPÊUTICO

A carbamazepina é um potente anticonvulsivante particularmente eficaz no tratamento das crises parciais complexas, como por exemplo, epilepsia psicomotora. Sua eficácia clínica já foi comprovada em distúrbios afetivos, como, por exemplo, no tratamento da mania aguda, e também na manutenção do tratamento de distúrbios afetivos bipolares (maníaco-depressivo), quando administrado como monoterapia ou em associação com neurolépticos, antidepressivos ou lítio.

Em estudos clínicos, observou-se que a carbamazepina quando administrada em monoterapia a pacientes com epilepsia, em particular crianças e adolescentes, exerce efeito positivo sobre os sintomas de ansiedade e depressão, assim como diminuição na irritabilidade e agressividade.

O mecanismo de ação da carbamazepina só foi parcialmente elucidado. A carbamazepina estabiliza a membrana do nervo hiperexcitado, inibe a descarga neuronal repetitiva e reduz a propagação sináptica dos impulsos excitatórios. Considera-se que a prevenção de estímulos repetitivos dos potenciais de ação sódio-dependentes na despolarização dos neurônios via bloqueio do canal de sódio voltagem-dependente pode ser o principal mecanismo de ação. A redução da liberação de glutamato e a estabilização das membranas neuronais podem ser consideradas as principais responsáveis pelo efeito antiepilético, enquanto que suas propriedades antimaniacas podem ser atribuídas a uma interferência na metabolização de dopamina e noradrenalina.

Atualmente, é um dos antiepiléticos mais amplamente utilizados. É muito bem absorvido e possui meia-vida plasmática de aproximadamente trinta horas, quando administrada em dose única. Porém, trata-se de um poderoso agente indutor das enzimas microssomais hepáticas, tendo sua meia-vida plasmática reduzida para cerca de quinze horas, quando é administrada repetidamente. Está ligada às proteínas séricas em 70% a 80%. Trata-se de um fármaco capaz de atravessar a barreira placentária.

Do ponto de vista farmacológico e clínico, suas ações são muito semelhantes às da fenitoína (antiepilético bastante consagrado), porém com menos efeitos indesejáveis, tais como sedação, distúrbios mentais e retenção de água (GOODMAN E GILMAN, 1987).

3.2 SUSPENSÕES DE CARBAMAZEPINA

Suspensões são formas farmacêuticas que contém partículas finas da substância ativa em dispersão relativamente uniforme num veículo no qual esse fármaco apresenta uma solubilidade mínima. A formulação em suspensões se justifica em casos de substâncias quimicamente instáveis quando em solução e pela maior facilidade de administração em crianças e idosos, já que diminui o sabor desagradável, além de mais fácil deglutição.

Do ponto de vista galênico, é importante que as suspensões não decantem rapidamente, que possam ser facilmente homogeneizadas por agitação, e que não se observe presença de quaisquer aglomerados de partículas. Tais características dependem da natureza da fase dispersa, do meio dispersante e dos excipientes.

Os fatores que governam a velocidade de sedimentação das partículas de uma suspensão estão representados na equação de Stokes.

$$\frac{dx}{dt} = \frac{d^2 (\rho_s - \rho_l) g}{18\eta}$$

Eq. 6

Onde,

dx/dt é a velocidade de sedimentação

d é o diâmetro das partículas

ρ_s é a densidade do sólido particulado

ρ_l é a densidade do fluido suspensor

g é a constante gravitacional

η é a viscosidade do fluido

De acordo com a equação 6, a velocidade de sedimentação de uma partícula em suspensão é maior quanto maior for a partícula, mantendo-se todos os outros fatores constantes. De maneira inversa, reduzindo-se o tamanho das partículas da fase dispersa, a velocidade de sedimentação diminuirá. A velocidade de sedimentação também pode ser reduzida, aumentando-se a viscosidade do meio

dispersante. Na maioria das suspensões farmacêuticas, o diâmetro das partículas se situa entre 10 e 50 μm , caso em que são qualificadas como dispersões grosseiras. Dispersões cujas partículas se distribuam em diâmetros entre 0,5 e 10 μm são chamadas dispersões finas. Diâmetros menores originam dispersões chamadas coloidais. O veículo suspensor na maioria dos casos sendo a água, a diferença de densidades favorece a decantação do sólido.

As propriedades coligativas das partículas podem induzir à formação de aglomerados, que são agregados menos rígidos das partículas (floculação). Para evitar sua ocorrência, é comum a adição de agentes suspensores ao meio dispersante, para espessá-lo e favorecer a suspensão da fase dispersa.

Em se tratando de emulsões, a interface entre dois líquidos pode ser calculada diretamente pela geometria de uma esfera porque um líquido emulsionado em outro sempre assume a forma esférica. No caso de suspensões, em que a fase interna é constituída de sólidos, possuindo forma definida, esse cálculo dependerá da geometria particular dos cristais. A área mássica SSA de um sólido é a área ocupada por uma determinada massa da substância e se calcula por

$$SSA = \frac{S_p}{d \cdot V_p} \quad \text{Eq. 7}$$

onde S_p e V_p são a superfície e o volume (médio) de um cristal, e d a densidade verdadeira do sólido. É um valor constante para cada substância a um determinado grau de tenuidade, e pode ser expresso em cm^2 por grama ou, no sistema MKS, em m^2 por quilo. Se desejarmos saber a SSA total de uma certa quantidade de sólido, basta multiplicar o valor tal como calculado acima pela massa em gramas ou em quilos, conforme o valor de SSA for expresso (CHILTO e PERRY, 1980)

Para um sólido que se apresenta sob a forma de cristais cúbicos, por exemplo, o valor de SSA é calculado a partir das fórmulas geométricas onde área de um cubo = $6L^2$ e volume = L^3 : a relação entre os dois será igual a $6/L$. Como a relação entre massa e densidade de um sólido é igual a seu volume total, a interface total S_{total} será igual a $6V/L$.

Para cristais em agulhas (cilíndricos): área = $2\pi r (r + L)$ e volume = $2\pi r^2 \cdot L$, então:

$$S_{\text{total}} = V \cdot \frac{2(r + L)}{r \cdot L} \quad \text{Eq. 8}$$

Na formulação de suspensões, esse conhecimento é de grande importância, já que sua homogeneidade será ajustada pela tensão superficial do líquido (geralmente água) onde o sólido deve ser suspenso. Com isso podem evitar-se os fenômenos de precipitação (sólido se deposita) ou floculação (sólido se aglomera à superfície). Como uma molécula de tensoativo cobre aproximadamente uma seção molecular de 20 Å (angströms), e 1 Å = 10⁻¹⁶ cm², e um mol de tensoativo contém 6,02 x 10²³ moléculas, a quantidade total Q de tensoativo necessária para suspender m gramas de um sólido será calculada por:

$$Q = \frac{S_{\text{total}} \cdot \text{mol}}{20 \cdot 10^{-16} \cdot 6,02 \cdot 10^{23}} \quad \text{Eq. 9}$$

A carbamazepina é encontrada comercialmente em comprimidos de 200 mg e 400 mg. Sob forma de suspensão pediátrica encontra-se um único produto comercializado no varejo (Tegretol, Novartis) em que a dose é ajustada para 20 mg em 1 ml de suspensão. Outras formulações são disponíveis para venda direta a hospitais (VATE, Igefarma, UNICARBAMAZ, União Química).

3.3 ENSAIO DE DISSOLUÇÃO PARA CARBAMAZEPINA

A carbamazepina possui baixa solubilidade em água e alta permeabilidade (classificação biofarmacêutica classe II) (AMIDON et al, 1995). Nesse caso espera-se que a velocidade de dissolução in vitro seja preditiva da velocidade de dissolução in vivo.

O teste de dissolução de comprimidos de carbamazepina, segundo monografia oficial (U.S.P. 26), é realizado em dois pontos, com a seguinte especificação: percentual dissolvido entre 45% a 75% em 15 minutos e não menos que 75% em 60 minutos. Na Farmacopéia Brasileira, como em outras farmacopéias, a monografia para suspensão de carbamazepina não inclui um teste de dissolução.

Quando se trata de ensaio de dissolução para suspensões, a grande dificuldade é a amostragem. Esta deve ser a mais homogênea possível e equivalente a uma dose. A introdução da amostra na cuba contendo o meio de dissolução também é um aspecto crítico, pela turbulência que pode provocar. O ponto de inserção da amostra deve ser criteriosamente escolhido, para uma dispersão rápida e homogênea das partículas da suspensão no meio de dissolução.

Poucas monografias oficiais de teste de dissolução para suspensões encontram-se descritas até o momento.

Considerando que a etapa de liberação do fármaco a partir de sua forma farmacêutica sólida depende necessariamente de sua dissolução, torna-se fácil imaginar a importância desse ensaio na avaliação da performance do produto. Estas etapas que antecedem o ingresso do fármaco na corrente sanguínea são dependentes de múltiplos fatores, cuja alteração pode modificar a cinética global do processo. Esses fatores podem ser fisiológicos (hidrodinâmica, tempo de residência e conteúdo gastrointestinal), formulativos (propriedades físico-químicas do fármaco, tipo e quantidade de excipiente) e tecnológicos (processo produtivo) (GAETE, 1992).

A figura 4 mostra esquematicamente os processos envolvidos na dissolução de uma suspensão, que podem ser comparados com o esquema mostrado na figura 2 para dissolução de comprimidos ou cápsulas. Observa-se que a inexistência de uma etapa de desintegração (e quase sempre igualmente de desagregação, uma vez que o sólido suspenso encontra-se finamente dividido) é um fator que acelera fortemente a dissolução da substância ativa. Inevitavelmente, no caso de suspensões, pode-se esperar que a dissolução seja, por conseguinte, muito mais rápida.

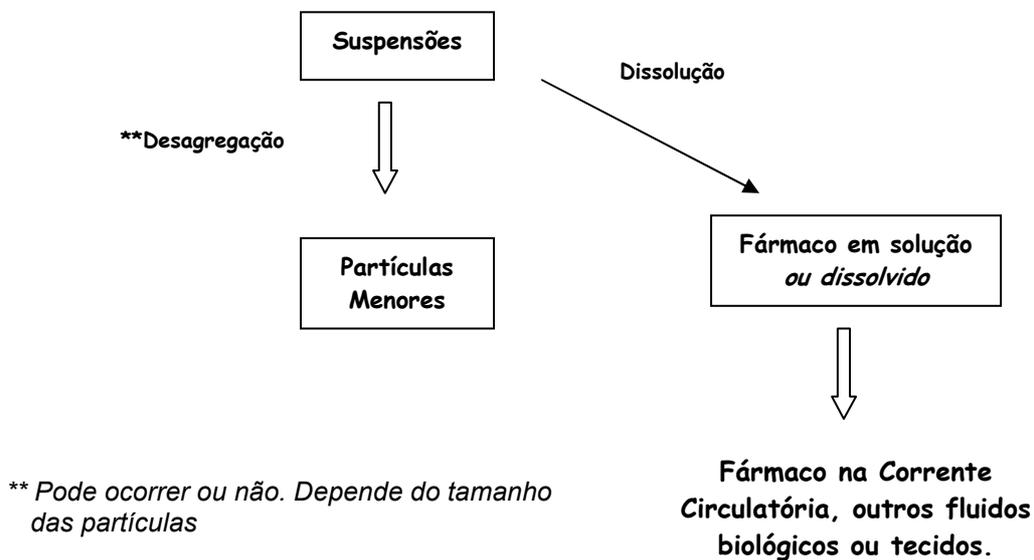


Figura 4
Processos que ocorrem após a administração de Suspensões

4. OBJETIVOS

4.1 Proposição

Casos de ineficácia terapêutica – caracterizada pela recorrência de episódios convulsivos – com o uso de suspensões de carbamazepina disponibilizadas como similares ao produto referência (Tegretol) foram relatados e levaram à apreensão do produto, cuja análise foi solicitada ao INCQS. O produto teste relatado como ineficaz (VATE, Igefarma), embora não disponível no varejo farmacêutico, era suprido à Rede Pública Hospitalar, em consequência de processo licitatório de compra, o que deixa claro o critério de menor preço.

O INCQS recebeu no ano de 2000 amostras do produto. O ensaio farmacopéico realizado no produto não o mostrou como insatisfatório. Dados da literatura reportam que a irregularidade de níveis plasmáticos de carbamazepina é freqüentemente atribuída a diferentes velocidades de dissolução originada por fenômenos de transição polimórfica, induzidos no curso da própria tecnologia de fabricação. Casos de inequivalência terapêutica são não raro encontrados para a carbamazepina, devido à sua capacidade de se apresentar sob diversas estruturas cristalinas. A bibliografia levantada identifica essencialmente três variedades polimórficas: alfa, beta (identificáveis pela forma e tamanho dos cristais) e o dihidrato, (identificável pelos resultados de calorimetria diferencial de varredura e teor de água de hidratação), todos apresentando diferentes graus de solubilidade (LEFEBVRE e GUYOT-HERMANN, 1986), levando a diferentes velocidades de dissolução para os produtos.

Como já referido, embora um ensaio de dissolução esteja inscrito na monografia de comprimidos de carbamazepina, os compêndios oficiais não o incluem para suspensões. As especificações para comprimidos são estabelecidas em dois pontos: percentual dissolvido entre 45% a 75% em 15 minutos e não menos que 75% em 60 minutos, o que indica uma absorção sítio-dependente. As dificuldades para estabelecimento de especificações de dissolução no caso de suspensões são bem conhecidas e decorrem primeiramente da maneira de medir e adicionar a amostra. A rapidez do processo de dissolução, devida não só à circunstância da substância ativa já se encontrar finamente desagregada, como também pela presença na formulação de tensoativos, que são agentes fortemente solubilizantes, é um outro fator de dificuldade. Processos de dissolução ultra-rápidos

são difíceis de caracterizar, porque as diferenças entre perfis de dissolução a partir de diferentes produtos (mesmo em caso de inequivalência terapêutica constatada) são medidas em escala de tempo suficientemente pequena para reduzir sua significância, além de aumentar enormemente o erro de tempo de amostragem, já que em uma dissolução de alguns minutos mesmo uma diferença de amostragem de segundos ao se comparar um ponto em dois perfis pode se tornar um fator de erro.

O interesse para este trabalho foi despertado pela necessidade de se estabelecer um método de dissolução para suspensões em geral, particularmente no caso da carbamazepina em estudo, motivado por um relato de ineficácia terapêutica, e pela intenção de se estabelecer uma metodologia genericamente viável para comparação de perfis de dissolução ultra-rápida. Os métodos para comparação de perfis de dissolução estão agrupados em: semelhança entre pares de pontos (tempos de amostragem) e comparação do perfil global, feita por métodos estatísticos multivariados (modelo independentes) ou por aplicação de um modelo matemático ou físico. Estes métodos requerem base matemática e utilização de programas computacionais mais especializados, motivo pelo qual não são de utilização difundida.

Segundo a RE nº 310 da Anvisa, que estabeleceu o Guia para Realização do Estudo e Elaboração do Relatório de Equivalência Farmacêutica e Perfil de Dissolução, as curvas devem ser avaliadas “como um todo empregando Método Modelo Independente”, citando como exemplo aquele que emprega o fator de diferença F1 e o fator de semelhança F2. Não se menciona nenhuma outra alternativa, o que pressupõe que qualquer comparação deva ser feita exclusivamente por esses fatores. À parte a impropriedade de se considerar que nesses casos as curvas são comparadas como um todo – comparam-se apenas pares de pontos – a impossibilidade de empregar modelos matemáticos implica em uma séria restrição, sobretudo tratando-se de cinéticas ultra-rápidas, como as que são produzidas por suspensões, porque nesses casos o erro deve ser expurgado por algum tipo de regressão.

1. MATERIAL

1.1. Produtos

- *Vate® Carbamazepina 20mg/ml suspensão*
- *Tegretol® Carbamazepina suspensão 2%*

1.2. Reagentes e Solventes

- *Água destilada*
- *Cloreto de Sódio Merck P. A.*
- *Etanol 96^o Merck P. A.*

1.3. Vidraria

- *Proveta de 1 litro, calibrada para 900 mililitros;*
- *Balões Volumétricos de várias capacidades;*
- *Bechers em várias capacidades;*
- *Pipetas Volumétricas de várias capacidades;*
- *Pipeta Eppendorf capacidade 5000 µl;*
- *Seringas de vidro de 20 mililitros para coleta de amostras;*
- *Cilindros de 1 litro;*
- *Filtros adaptáveis de 1,0 µ*

1.4. Substâncias e Materiais de Referência

- *Carbamazepina substância química de referência, Farm. Brás. Lote 1038;*
- *Comprimidos calibradores de Prednisona lote N;*
- *Comprimidos Calibradores de Ácido Salicílico Lote O;*

1.5. Instrumental Analítico e Equipamentos

- *Balança de Precisão AG 285*
- *Balança Analítica SCIENTECH SP1500*
- *Potenciômetro Micronal B474*
- *Espectrofotômetro Shimadzu U 1601*
- *Prensa Hidráulica Carver modelo 3912;*
- *Pastilhador de aço inoxidável Perkin-Elmer;*
- *Dissolutor Erweka DT6*
- *Dissolutor Hanson;*
- *Calorímetro diferencial de varredura METTLER TOLEDO 822^e*

- Contador de Partículas Malvern Mastersizer Micro “Plus”, MAF 5001;
- Tensiômetro de Nouy Sigma modelo 70;
- Analisador de imagens Image Pro Plus, Media Cybernetics Maryland, USA

2. PARTE EXPERIMENTAL

O ensaio de dissolução realizado neste trabalho, para suspensões de carbamazepina, foi conduzido pelo Método nº 2 (pá). Esse método é particularmente sensível a fatores de turbulência no meio de dissolução no curso de sua execução, devido ao grande raio de rotação, correspondente à largura da pá (cerca de 7,5 cm). Para assegurar a reprodutibilidade dos resultados, é fundamental a precisão e constância da geometria.



Figura 5
Aparelho de dissolução ERWEKA DT6

A condição estabelecida desde 1969 por Poole, para uma razoável correlação de resultados “in Vivo – In vitro” é a equidistância entre a pá e todos os pontos do fundo do recipiente, o que depende da exata centralização da haste (POOLE, 1969). Turbulência, aumento de viscosidade do fluido ou de sua tensão superficial, gases dissolvidos, vibrações indesejáveis ou mudanças na geometria do aparelho são variáveis que podem influenciar o teste e devem ser rigorosamente controladas para uma análise segura e confiável.

2.1. FATORES QUE PODEM INFLUENCIAR O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

2.1.1. Fatores Intrínsecos (relacionados com o funcionamento do aparelho)

- ✓ Nível do aparelho;
- ✓ Prumo do aparelho;
- ✓ Velocidade de rotação;
- ✓ Excentricidade de rotação;
- ✓ Ausência de vibrações;
- ✓ Posicionamento das hastes;
- ✓ Constância da temperatura

2.1.1.1. Nível do Aparelho

Foi verificado em três pontos: sobre a caixa de acionamento, sobre a tampa do banho-maria e sobre a base.

2.1.1.2. Prumo do Aparelho

Foi verificado sobre cada cuba e em cada um dos eixos das hastes. De acordo com a U.S.P. 26, o eixo de agitação deve girar sem excentricidade significativa, tolerando-se um desvio de até ± 2 mm entre o eixo do agitador e o centro do recipiente de dissolução. Nessas condições o ângulo máximo de inclinação da haste deve ser $1,5^{\circ}$. Segundo Hanson, inclinações acima deste valor podem provocar aumentos de velocidade de dissolução entre 2% e 25%. O mau alinhamento das hastes é o mais importante fator de erro sobre os resultados do teste (HANSON, 1979).

2.1.1.3. Velocidade de Rotação

A dissolução dos sólidos varia consideravelmente com o tipo e velocidade de agitação empregada. A manutenção de um fluxo pseudolaminar, em detrimento de um regime de fluxo turbulento, favorece a reprodutibilidade do ensaio (ABDOU, 1995). A velocidade de rotação foi verificada marcando-se cada uma das pás com fita e contando-se visualmente o número de rotações por minuto. O valor coincidiu com o mostrador digital.

2.1.1.4. Excentricidade de Rotação

Trata-se de um fator crítico e freqüentemente despercebido. As especificações da U.S.P. 26 fixam um limite para um desvio do eixo de rotação de ± 2 mm em relação ao eixo central da cuba. Segundo Hanson, um desvio de tal ordem implicaria em uma diferença de $3,8^0$ no raio de rotação da pá dentro do fluido, o que seria excessivo, tendo-se observado incrementos de 2% a 23% na velocidade de dissolução entre 2^0 a 5^0 de desvio, conforme o procedimento e a substância em estudo. O limite ideal por ele sugerido seria de 0,5 mm total dentro de um círculo de rotação de 360^0 .

Neste estudo, todas as hastes verificadas apresentaram valores de desvio no eixo de rotação de no máximo 0,5 mm (rigorosamente dentro da especificação sugerida) (HANSON, 1979).

2.1.1.5. Vibrações

A interferência das vibrações foi primeiramente abordada por Beyuer e Smith, da Upjohn Company, que observaram bruscas inflexões nas curvas de dissolução de vários produtos por efeito de pequenos estremecimentos sobre equipamento, que eram tanto maiores quanto menores fossem as velocidades de dissolução com que se trabalhava (BEYER e SMITH, 1972).

No caso do Método de dissolução nº 2 a principal fonte de vibração é a falta de alinhamento vertical dos eixos de agitação, o que pode aumentar em até 10% os resultados de velocidade de dissolução. Os aparelhos de dissolução modernos são montados de forma a minimizar tais interferências, e ao longo deste estudo o equipamento de trabalho esteve rigorosamente isolado de qualquer vibração externa.

2.1.1.6. Posicionamento das hastes

O calibrador de posição utilizado nesse trabalho permitiu o perfeito posicionamento da pá a uma distância vertical de 2,5 cm do fundo da cuba, tal como estabelecido pela U.S.P 26, após o que foi fixada.

2.1.1.7. Verificação da Temperatura

Deficiências no sistema de circulação no banho térmico do dissolutor podem eventualmente produzir diferentes temperaturas nas diversas cubas.

2.1.2. Fatores Extrínsecos (relacionados com a técnica)

Inerentes ao Solvente

- ✓ pH;
- ✓ Gases dissolvidos;
- ✓ Volume;
- ✓ Temperatura;

2.1.2.1. pH

Variações no pH do solvente podem influenciar nos resultados de dissolução. Segundo as recomendações da U.S.P. o pH do teste deve situar-se em uma faixa fisiologicamente relevante, entre 1,0 e 6,8. No caso deste estudo, sendo água destilada o meio de dissolução empregado, esse fator perde relevância.

2.1.2.2. Presença de Gases Dissolvidos

Gases dissolvidos no meio podem produzir bolhas que impedem o contato na interface sólido líquido e são fatores de turbulência. A importância desse efeito foi constatada para formas sólidas de pequena área superficial, como comprimidos. No caso de partículas sólidas finamente divididas, como suspensões, que foram objeto de nosso estudo, a influência do desprendimento de gases no meio de dissolução ainda não foi comunicada e é previsivelmente de pouca importância.

Há vários recursos para expulsar os gases dissolvidos no meio de dissolução: fervura prévia, sonicação a um tempo pré-estabelecido; borbulhamento de gases mais leves (hélio, nitrogênio, etc). A eficiência relativa de cada um destes métodos foi avaliada em estudo colaborativo (QURESHI e MCGILVERAY, 1995)

Um método de degaseificação empregado neste trabalho é aquele pelo qual se transfere o meio de dissolução de um recipiente para outro, sob vácuo, por meio de um tubo em U. A extremidade adaptada ao recipiente sob vácuo é feita em placa de vidro poroso, expulsando o líquido em aerosol. A dispersão em gotículas aumenta enormemente a área superficial exposta ao ar em baixa pressão. Menores volumes de meio eram degaseificados por sonicação. A experiência ao longo deste trabalho demonstrou a pouca relevância da degaseificação para dissolução de suspensões, que não permitem a formação de bolhas devido à sua grande área superficial.

2.1.2.3. Volume / escolha do solvente

A escolha do meio de dissolução depende da solubilidade do fármaco, assim como de aspectos econômicos e práticos (ABDOU, 1995).

O volume do meio de dissolução depende, em grande parte da solubilidade do fármaco no meio selecionado para o ensaio. Fármacos pouco solúveis e em alta concentração na forma farmacêutica estudada requerem um volume maior de meio, de modo a assegurar que o teste seja executado em condições de esgotamento (CÁRCAMO, 1981; SHARGEL e YU, 1999).

O volume empregado em cada cuba foi medido por meio de proveta de um litro de capacidade, calibrada para 900 ml. Volumes de 500 ml eram medidos em balão volumétrico. De modo a evitar qualquer efeito de evaporação, atentou-se para não deixar o aparelho ligado por muito tempo com as cubas já cheias. Os meios de dissolução testados neste trabalho foram água destilada, HCl 0,1 N e soluções de cloreto de sódio a diversas concentrações.

2.1.2.4. Temperatura

A solubilidade de um fármaco varia linearmente com a temperatura. Os efeitos das variações de temperatura estão relacionados com as curvas de solubilidade versus temperatura do fármaco e de seus excipientes (HANSON, 1991; ABDOU, 1995). Assim, um cuidadoso controle da temperatura durante o processo de dissolução é muito importante e deve ser mantido dentro de limites de variação muito estreitos ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) (CÁRCAMO, 1981).

A temperatura do meio foi cuidadosamente controlada durante o ensaio de dissolução por meio de termômetros acoplados nas cubas. O controle de variação foi mantido em no máximo $0,5^{\circ}\text{C}$.

2.2. CALIBRAÇÃO DO APARELHO DE DISSOLUÇÃO

2.2.1. Utilização de comprimidos calibradores

O emprego de comprimidos calibradores para a validação de aparelhos de dissolução foi investigado em dois estudos colaborativos realizados em 1978 e 1980. Escolheram-se comprimidos de prednisona a 50 mg com lactose como calibradores desintegrantes e de ácido salicílico a 300 mg com calibradores não desintegrantes. Lotes desses comprimidos são distribuídos correntemente pela Farmacopéia Americana.

O segundo estudo colaborativo, que envolveu vinte e um laboratórios, confirmou a boa estabilidade dos comprimidos calibradores (SARAPU, 1980). Desde então, os resultados analíticos de cada novo lote de comprimidos calibradores

determinados por um estudo colaborativo são recomendados pela U.S.P. para a validação do equipamento de trabalho. Os resultados de dissolução por ele produzidos devem situar-se dentro dos limites do intervalo de confiança (calculados por uma distribuição de Student) que o estudo colaborativo indicou. A partir do lote M, os comprimidos calibradores de prednisona passaram a ser fornecidos em teor de 10 mg por comprimido.

2.2.2. Calibração do Dissolutor Erweka

Após verificação da geometria do aparelho avaliada segundo os fatores acima, foi feito um ensaio de dissolução empregando-se comprimidos calibradores a 10 mg de prednisona, segundo a técnica descrita na U. S. P. 27: 500 ml de água como meio de dissolução, e 50 rpm como velocidade de agitação. Após 30 minutos, amostras foram retiradas por meio de coletores imersos no meio de dissolução, em cujas extremidades eram adaptados filtros de 1,0 μm . O ponto de coleta de amostra situava-se a meia distância entre o fundo do frasco e a superfície do solvente e a não menos que 1,0 cm da parede do frasco. A determinação espectrofotométrica foi feita em UV, a 242 nm nas amostras após diluídas. Os resultados apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos: 24 – 54%.

Um aparelho pode fornecer resultados em conformidade apenas para um dos dois Métodos (pá ou cesta). Por conveniência de rotina analítica, o aparelho foi calibrado para ambos os Métodos, utilizando comprimidos calibradores desintegrantes (prednisona 10 mg em lactose) e não-desintegrantes (ácido salicílico 300 mg). Os resultados apresentados referem-se à calibração realizada para o Método nº 2 (pá), utilizado neste trabalho.

2.3. DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

2.3.1. Procedimento

A velocidade de dissolução intrínseca, definida como velocidade com que substâncias puras se dissolvem numa área superficial constante, é uma técnica que permite caracterizar a solubilidade de uma substância ativa ou excipiente em um determinado meio. A medida da dissolução intrínseca depende em grande parte de propriedades das partículas: cristalinidade, polimorfismo, hidratação ou solvatação, tamanho de partícula e área superficial da partícula. Pode também ser influenciada por outros fatores, como hidrodinâmica (condições de agitação do meio solvente) e condições de teste (temperatura, viscosidade do fluido, pH e força iônica em caso de

compostos ionizáveis). Mantendo-se todas essas condições estáveis, um material sólido reduzido a um aglomerado pode ser exposto à ação de um meio solvente por unicamente uma superfície constante, exprimindo-se o resultado em miligramas por minuto por centímetro quadrado ($\text{mg}/\text{min}\cdot\text{cm}^2$). Propriedades de dissolução intrínseca proporcionam valiosa informação sobre a influência de fatores como pH e tensão superficial, além de diferentes formas cristalinas de uma mesma substância, sobre a velocidade de dissolução (U. S. P. 27).

O coeficiente de dissolução intrínseca foi determinado de acordo com uma aparelhagem similar à descrita na U.S.P. 27. O material foi compactado sob pressão, por meio de prensa hidráulica, no interior de um pastilhador de aço inoxidável Perkin-Elmer, constituído de matriz e punção. A parte superior do pastilhador foi rosqueada para permitir sua adaptação a um suporte de aço inoxidável e esse conjunto, contendo o sólido compactado, era então preso a uma haste de aparelho de dissolução (do tipo utilizado no Método nº 1, provido de garras metálicas). Dessa forma o material é colocado em contato com um meio de dissolução apropriado, unicamente pela face inferior, que fica exposta. A haste é posicionada a 3,8 cm do fundo da cuba, observando a não formação de bolhas sobre a superfície do material em contato com o líquido. O procedimento de dissolução era então executado tal como especificado na monografia da substância (carbamazepina). Amostras de meio foram coletadas em tempos determinados. Em condições de área superficial constante, os valores de concentração dissolvida devem situar-se sobre uma reta. A inclinação da reta produzida exprime o valor do coeficiente de dissolução intrínseca, determinado para a matéria-prima (carbamazepina) fornecida pelos dois produtores, Novartis (Tegretol[®], referência) e Igefarma (VATE[®], produto similar).

Para o preparo das pastilhas, aproximadamente 500 mg de cada matéria prima eram pesados, diretamente na matriz do pastilhador, em balança de precisão, recoberta em seguida pelo punção. Ao pastilhador era então aplicada uma força de compressão de 1,5 tonelada. Após a formação do compacto, este era nivelado à superfície metálica por uma ligeira pressão em sentido contrário. O pastilhador foi, então, conectado à haste do dissolutor e o ensaio de dissolução iniciado. Utilizaram-se 900 mL de água destilada, devidamente desaerada, como meio de dissolução. A velocidade de rotação utilizada foi de 50 rpm e temperatura de 37⁰ C. A coleta das amostras foi feita de 20 em 20 minutos e o volume de amostra coletado foi de 10

mL. Para uma pastilha feita em punção de 12,9 mm a área de um círculo é de $\pi r^2 = 1,31\text{cm}^2$.

2.3.2. Curvas de calibração analítica para determinação da dissolução intrínseca

Duas curvas de calibração analítica foram construídas, utilizando-se cada uma das duas matérias-primas de carbamazepina fornecidas: pelo laboratório Igefarma e pelo laboratório Novartis.



Figura 6
Pastilhador de aço inoxidável Perkin Elmer



Figura 7
Prensa hidráulica Carver



Figura 8
Pastilhador conectado à haste do dissolutor

Carbamazepina referência: 20,0 mg foram dissolvidos em 20 ml de etanol e levados a 200 mL com água em balão volumétrico. Alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5 mL foram retiradas e diluídas com água em balão de 50 mL, correspondendo a concentrações de 0,99 a 7,92 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados da curva são mostrados à figuras 9. A equação da reta teve seus parâmetros validados por uma ANOVA sobre a regressão onde o intercepto apresentou um valor $p = 0,12$ dentro da hipótese nula para a origem. O desvio padrão residual $< 0,01$ confirma a precisão das estimações.

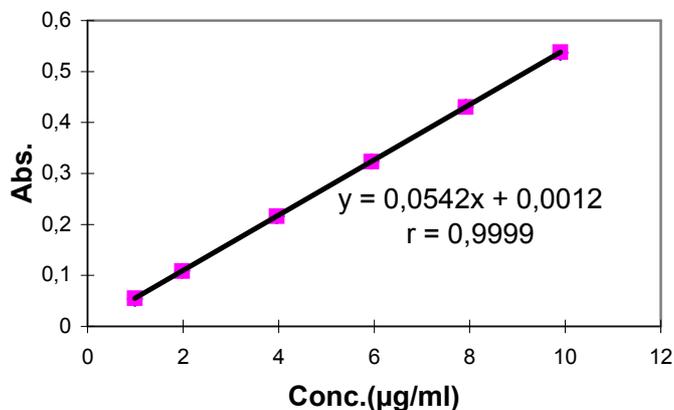


Figura 9

Curva de calibração para Carbamazepina Referência

Carmazepina Teste: 20,1 mg foram dissolvidos em 20 mL de etanol e levados a 200 mL em balão volumétrico. Alíquota de 1 mL foi diluída com água para 100 mL e demais alíquotas de 2, 3, 4, 5 e 6 mL diluídas para 50 mL, correspondendo a concentrações de 1,005 a 10,05 µg/mL.

Os resultados da curva são mostrados à figura 10. A equação da reta teve seus parâmetros validados por um ANOVA sobre a regressão onde o intercepto apresentou um valor $p = 0,15$ dentro da hipótese nula para a origem. O desvio padrão residual $< 0,01$ confirma a precisão das estimações.

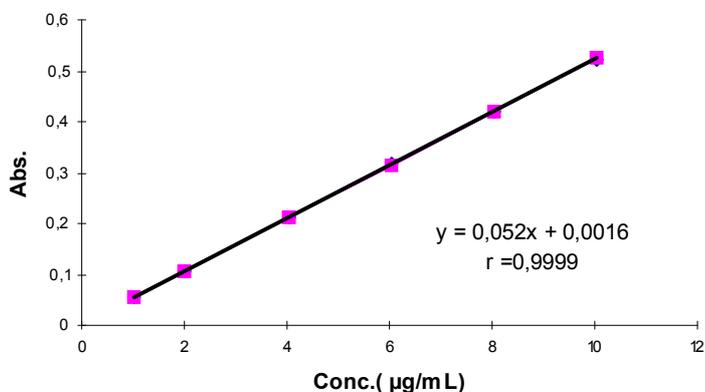


Figura 10

Curva de calibração para Carbamazepina teste

2.4. curva padrão de carbamazepina para os ensaios de dissolução

Foram construídas duas curvas utilizando-se SQR carbamazepina Farm. Brás.

⇒ Curva padrão utilizando água: 25,0 mg foram dissolvidos em 20 mL de etanol e levados a 200 mL em balão volumétrico. Alíquota de 1 mL, 2mL, 3mL, 4mL e 5mL foi diluída com água para 50 mL correspondendo a concentrações de 4,968 a 24,84 µg/mL. Os resultados da curva são mostrados à figura 11. A equação da reta teve seus parâmetros validados por um ANOVA sobre a regressão onde o intercepto apresentou um valor $p = 0,17$ dentro da hipótese nula para a origem. O desvio padrão residual $< 0,01$ confirma a precisão das estimações.

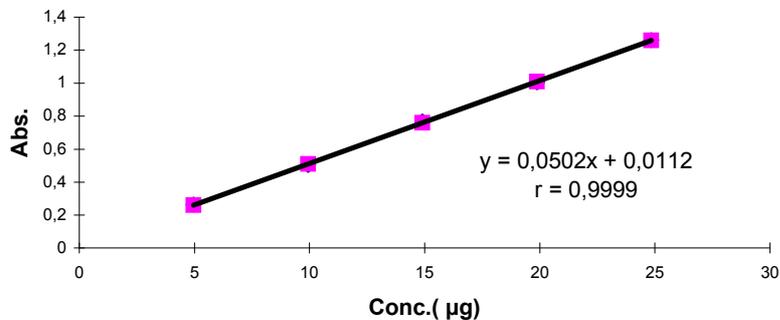


Figura 11

Carbamazepina feita em água

⇒ Curva padrão utilizando solução de NaCl 5%: 25,20 mg foram dissolvidos em 20 mL de etanol e levados a 200 mL em balão volumétrico. Alíquota de 1 mL, 2mL, 3mL, 4mL e 5mL foi diluída com água para 50 mL correspondendo a concentrações de 5,018 a 25,09 µg/mL. Os resultados da curva são mostrados à figura 12. A equação da reta teve seus parâmetros validados por um ANOVA sobre a regressão onde o intercepto apresentou um valor $p = 0,25$ dentro da hipótese nula para a origem. O desvio padrão residual $< 0,01$ confirma a precisão das estimações.

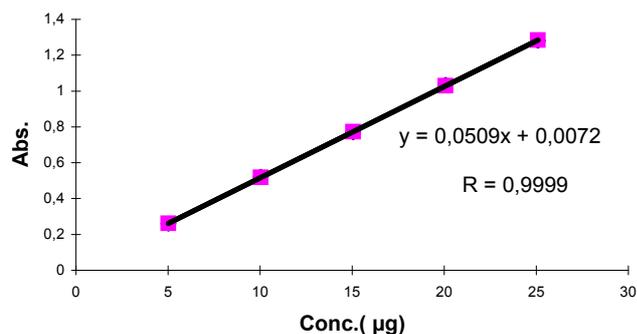


Figura 12

Curva de calibração feita em NaCl 5%

2.5. Análise Térmica (TA)

Em sentido amplo, análise térmica designa a medida de propriedades físico-químicas de uma substância em função da temperatura. Pode-se medir seja a absorção de calor por um material (DSC ou calorimetria exploratória diferencial) ou alternativamente a diferença de temperatura resultante entre dois materiais que absorveram a mesma quantidade de calor (DTA ou análise térmica diferencial). Ambas as técnicas registram a temperatura em que ocorreram mudanças de fase, reações químicas ou transições vítreas (mudanças de estado cristalino para um estado em que as cadeias moleculares preservam apenas uma organização primária, semelhante à do vidro). A temperatura de fusão, por exemplo, pode ser determinada por estes métodos com sensibilidade de décimos de grau.

A análise termogravimétrica (Tg) determina a massa de uma substância em função da temperatura ou do tempo de aquecimento, ou ambos, e permite distinguir entre perdas de solvente à superfície e de cristalização, ambos podendo distinguir-se também de perda por degradação.

Um equipamento de análise térmica tipicamente constitui-se de balança registradora e uma fonte de calor programável. A atmosfera em que se realiza o teste é um fator crítico.

O método se baseia na relação entre nível de impurezas e a fusão (pico) ou congelamento (depressão) registrados num termograma. A quantidade de calor absorvido numa mudança de fase é definida, no caso da fusão de uma substância, pelo valor ΔH ou calor latente de fusão, a uma dada temperatura T_0 . Teoricamente, uma transição de fusão de um cristal puro ocorre em uma faixa infinitamente

estreita. O alargamento da faixa de fusão, devido à presença de impurezas, fornece um critério significativo de pureza. Compostos que se apresentam sob diversas variedades polimórficas não podem ser usados para determinação de pureza a menos que toda a substância seja convertida a uma única forma. Como essa transição requer também a absorção ou liberação de uma determinada quantidade de calor (calor latente de transição), DSC e DTA são inerentemente úteis para detectar e monitorar a ocorrência de polimorfismo.

As análises térmicas foram gentilmente realizadas no Calorímetro diferencial de varredura METTLER TOLEDO 822^e da central analítica de Farmanguinhos pelo especialista de pesquisa Altivo Pitaluga Jr.

2.6. Análise da Distribuição do Tamanho de Partículas

A determinação do tamanho das partículas foi feita através da análise no equipamento Malvern Mastersizer Micro “Plus”, MAF 5001, do Laboratório de Sistemas Particulados COPPE (UFRJ). Este equipamento utiliza como princípio a difração luminosa causada por partículas na faixa de diâmetro entre 0,05 – 550 μm .

Um feixe de radiação laser, ao incidir sobre partículas sólidas, sofrerá uma difração a um ângulo inversamente proporcional ao seu tamanho (grandes ângulos são produzidos por pequenas partículas e vice-versa). É, portanto possível determinar distribuições de tamanho de partícula medindo-se a intensidade da luz difratada por uma amostra em função do ângulo de difração. Essa informação angular é comparada a um valor teórico de difração (teoria de Mie) de maneira a calcular a distribuição de tamanho das partículas. A técnica possui uma larga faixa de aplicação, desde 3,5 mm até menos de 100 nm, dependendo da faixa de ângulos sobre os quais se coleta o padrão de difração e da configuração ótica do instrumento.

O método tem suficiente flexibilidade para medir uma ampla gama de amostras: partículas dispersas em um meio líquido (difração a laser úmida) ou partículas sólidas em uma corrente de ar (difração a laser seca). Pode-se também fazer medidas em dispositivos de aerosol tais como atomizadores líquidos e inalantes farmacêuticos. Amostras de análise úmida precisam ser previamente diluídas. A concentração das amostras a serem medidas deve situar-se entre 50 a

1000 ppm. O resultado é fornecido sob forma de uma curva de distribuição, com resultados cumulativos. Como esse resultados irão variar muito pouco, em função de grande quantidade de amostra em que são realizados, torna-se menos importante a realização de replicatas; o que, de resto, seria impossível pelo limitado número de amostra do produto.



Figura 13

Aparelho Malvern para determinação de tamanho de partículas

2.7. Tensão Superficial

Moléculas à superfície de um líquido estão submetidas a dois tipos de atração: das moléculas de gás acima e das moléculas de líquido abaixo.

Como a atração exercida por um líquido é sempre mais forte que aquela exercida por um gás, essas moléculas são atraídas continuamente para baixo. Tal processo é extremamente dinâmico. As moléculas que ficam à superfície, e que são em número menor, assumem a forma de uma membrana tensionada, submetidas a uma força chamada de tensão superficial, expressa em unidades de energia por superfície.

A tensão superficial λ é expressa em:

- ergs/cm² (interfaces binárias) (ou dyn/cm)
- ergs/cm (interfaces ternárias)

Os métodos mais exatos para determinação da tensão superficial são aqueles que empregam um anel de platina de cerca de 20 mm de diâmetro e 1 mm de espessura, acoplado a uma balança e o qual é deixado tocar a superfície do líquido que se deseja medir.

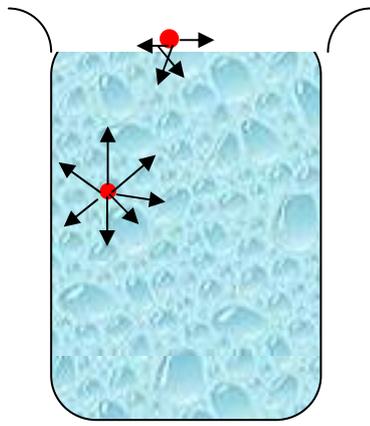


Figura 14
Tensão superficial

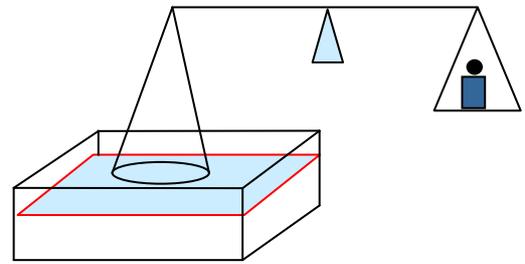


Figura 15
Tensiômetro do anel de platina

Sendo m a massa do anel e g a força gravitacional, a força a ser aplicada para vencer a tensão interfacial (força de arranque) será

$$P = m \cdot g = 4 \cdot \pi \cdot r' \cdot \lambda \quad \therefore$$

$$\lambda = \frac{m \cdot g}{4 \cdot \pi \cdot r'} \quad \text{Eq. 10}$$

onde r' é o raio médio (interno / externo) do anel.

O tensiômetro de Nouy é um aparelho onde o fiel da balança, em vez de repousar sobre um cutelo, é mantido suspenso por um fio, cuja torção assinalará em um mostrador a intensidade da força em dynas.

Para as medidas de tensão superficial, usou-se nesse trabalho um Tensiômetro de Nouy Sigma 70, acoplado a um microcomputador.



Figura 16
Tensiômetro de Nouy

3. TRATAMENTO DOS RESULTADOS DE DISSOLUÇÃO

Comparações de perfis de dissolução podem ser feitas seja por similaridade de pares de pontos sobre a curva (métodos F1 e F2 descritos na Resolução nº 310 da ANVISA), seja por similaridade do perfil global. Esta última técnica por sua vez tem duas variantes, uma estatística, independente de modelo (análise multivariada) e outra matemática, onde um modelo matemático ou físico é empregado para ajustar os resultados da curva, transformando-os de acordo com uma determinada função teórica.

O método F1 é a medida do desvio relativo entre as duas curvas calculada em porcentagem sobre o desvio acumulado, de acordo com a equação 11:

$$f_1 = \left[\frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{i=1}^n R_t} \right] * 100$$

Eq. 11

O método F2 é a medida da similaridade calculada como a recíproca da raiz quadrada dos desvios em escala logarítmica (equação 12):

$${}_t f_2 = 50 * \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2}{n}}} \right]$$

Eq. 12

onde n é o número total de pontos de amostragem, R_t et T_t os valores de percentual dissolvido achados em cada tempo para os produtos (lotes) referência e teste. A escala logarítmica é empregada para normalizar a distribuição, e o fator 50 é um recurso para fazer os resultados convergirem a 1 (100%). Para dois produtos similares, f_1 deve ser < 15 e f_2 deve ser > 50 . São condições de validade do procedimento que os dois produtos sejam testados nas mesmas condições (meio, velocidade de agitação, volume, etc) e os tempos de amostragem sejam idênticos. Como a sensibilidade do teste diminui fortemente caso vários resultados sejam comparados na zona de convergência (situação equivalente à de medidas repetidas), é essencial que as amostragens sejam feitas entre 30% a 65% de percentual

dissolvido, com uma única medida além de 80% de percentual dissolvido, embora esse valor limite seja sempre mais ou menos empírico. Além disso, como o procedimento envolve a comparação de médias de resultados, o desvio padrão relativo entre os valores individuais não deve exceder a 20% (no caso do primeiro ponto da curva) e a 15% para os demais (MOORE e FLANNER, 1996).

Para casos de dissolução ultra-rápida, em que o erro de tempos de amostragem aumenta enormemente, a incerteza sobre qualquer conclusão tirada sobre esses métodos crescerá na mesma dimensão. A análise multivariada, onde se estima uma distância estatística média DEM sobre pontos representados em duas dimensões, será afetada pelo mesmo risco, embora este método leve em conta a dispersão dos valores individuais a cada tempo sobre uma matriz de covariância. Além disso, o procedimento requer o uso de programas estatísticos mais avançados e suficiente base matemática.

A utilização de modelos matemáticos para comparação de curvas de dissolução têm sido pouco reconhecida nas regulamentações oficiais por envolver transformação dos dados brutos, o que de hábito levanta suspeitas de manipulação. Vários desses modelos foram extensamente investigados nas duas últimas décadas e se encontram repertoriados em boa literatura (COSTA e LOBO, 2001), sendo que alguns deles são mencionados nas regulamentações oriundas do FDA e no Guia para Ensaio de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata (FFSOLI) anexo à RE 897 da Anvisa, de 29/05/2003. Entretanto, a RE 310 de 1/09/2004 limitou a comparação de curvas de dissolução exclusivamente aos procedimentos modelo independentes, exemplificados nos testes F1 e F2. Esses testes, supostos equivocadamente avaliar a curva como um todo, são impraticáveis em casos de alta variância de resultados, como no caso de formulações de suspensão que seguem uma cinética ultra-rápida, além de se prestarem a manipulações de resultados, caso os pontos comparados tenham sido deliberadamente selecionados próximos à convergência das duas curvas comparadas.

A utilização de um modelo permite o ajuste dos dados e a influência do erro residual pode então ser quantificada por uma estatística ANOVA sobre a regressão. Os modelos mencionados pelo FDA incluem o linear, quadrático, logístico e probitos, os dois últimos métodos muito difundidos para a linearização de curvas. A regressão linear era a única alternativa possível até um passado bem recente, dado o primitivismo dos recursos computacionais. Como todo processo de dissolução tem a

forma de uma curva assintótica, seu ajuste a uma reta produz resultados fortemente distorcidos, o que acentuou o descrédito pela utilização de modelos. Além disso, uma reta só pode ser caracterizada por parâmetros de origem (tempo zero) e inclinação (velocidade de dissolução), perdendo-se informação referente ao tempo de latência (tempo inicial decorrido sem dissolução do fármaco a partir do comprimido), que seria um terceiro parâmetro a determinar.

Pela complexidade crescente dos cálculos necessários, a regulamentação do FDA limitou os modelos utilizáveis para tratamento de curvas de dissolução ao número máximo de três parâmetros, citando entre eles o de Weibull, descrito na equação 13:

$$Q_t = Q_{\max} \cdot (1 - e^{-x^\beta}) \quad \text{Eq. 13}$$

onde

Q_t é a quantidade dissolvida a um dado tempo

Q_{\max} é a quantidade máxima a dissolver (100%)

$x = (t - t_{lag})/Td$, onde t é o tempo amostrado, t_{lag} é o tempo de latência e Td o parâmetro de escala (tempo necessário para dissolução de 63,2% de substância ativa).

β é o parâmetro forma da curva (< 1 para forte inflexão, > 1 para sigmóides), segundo a figura 17:

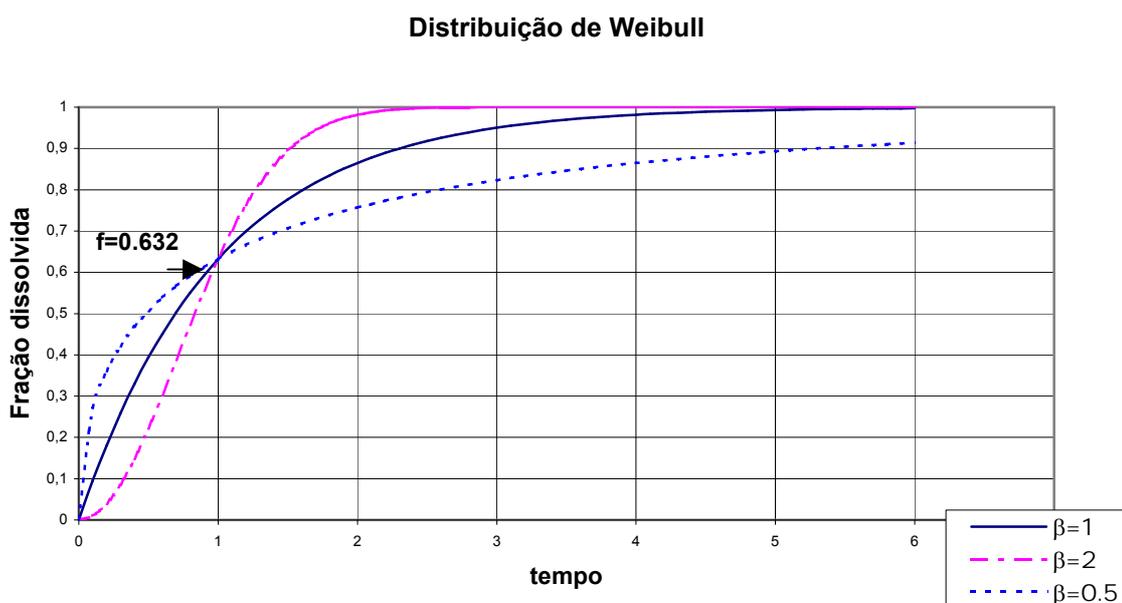


Figura 17

Gráfico de distribuição de Weibull

Os parâmetros de regressão não linear para o modelo de Weibull neste trabalho foram calculados mediante o uso do programa COMSTAT, desenvolvido pelo professor Jean Cumps na Universidade Católica de Louvain, Bruxelas, Bélgica. Este programa, baseado em algoritmo de gradientes, é mais robusto para estimações de modelos em dois expoentes e já foi demonstrado como eficiente no tratamento de curvas de dissolução (LABASTIE e CUMPS, 1992).

RESULTADOS

1. DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA

1.1 Resultados para carbamazepina referência:

Tabela 2
Dissolução intrínseca para matéria-prima referência

Tempo (min)	Quantidade dissolvida (mg)	Quantidade dissolvida normalizada pela área (mg/ cm ²)
20	0,9594	0,730
40	1,6055	1,222
60	2,1560	1,641
80	2,6135	1,989
100	3,1063	2,364
120	3,5725	2,719

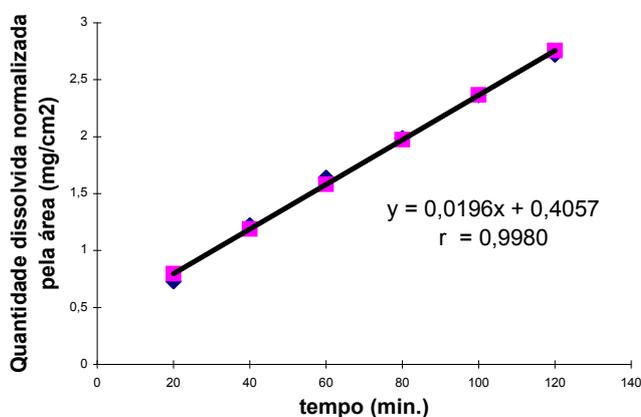


Figura 18

Dissolução intrínseca de carbamazepina Referência



Figura 19

Cristais da matéria-prima Referência

1.2 Resultados para carbamazepina teste:

Tabela 3

Dissolução intrínseca para matéria-prima teste

Tempo (min)	Quantidade dissolvida (mg)	Quantidade dissolvida normalizada pela área (mg/ cm ²)
20	1,1683	0,889
40	2,2335	1,699
60	3,2069	2,440
80	4,1241	3,138
100	5,0029	3,807
120	5,8764	4,472

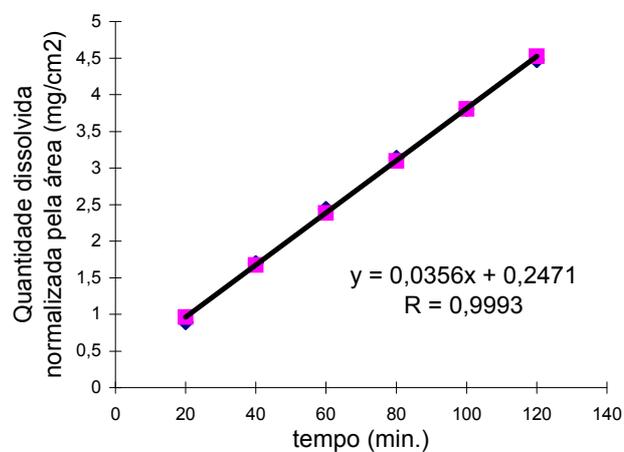


Figura 20

Dissolução intrínseca de carbamazepina teste



Figura 21

Cristais da matéria-prima teste

2. DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULAS

A análise da distribuição do tamanho de partícula nos forneceu os seguintes resultados:

Tabela 4

Distribuição de partículas para as duas suspensões

Produto	Faixa	10 % das partículas	50% das partículas	90% das partículas	Área Superficial S.S.A
referência	0,91 – 48,27 μm	3,88 μm	13,41 μm	32,76 μm	0,7562 m^2/g
teste	0,91 – 140,58 μm	4,20 μm	16,65 μm	49,83 μm	0,6511 m^2/g

3. PONTO DE FUSÃO

Tabela 5

Ponto de fusão para as duas matérias-primas

Produto	Ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$)
Referência	190,9
Teste	191

4. ANÁLISE TÉRMICA

As curvas de DSC para as duas matérias primas de carbamazepina (referência e teste) estão mostradas na figura 22 e 23 juntamente com os espectros de difração de raios X para cada uma delas. A curva superior foi realizada entre 25° C a 250° C a um gradiente de 5° C / min; a curva inferior foi realizada na mesma faixa de temperatura a um gradiente de 20° C / min, em cápsula de alumínio de 40 µl. A massa de amostra de carbamazepina teste foi de 3,78 mg (para o termograma a 5° C / min) e de 4,00 mg (para o termograma a 20° C / min) e de carbamazepina referência foi de 3,70 mg (para o termograma a 5° C / min) e 3,67 mg (para o termograma a 20° C / min).

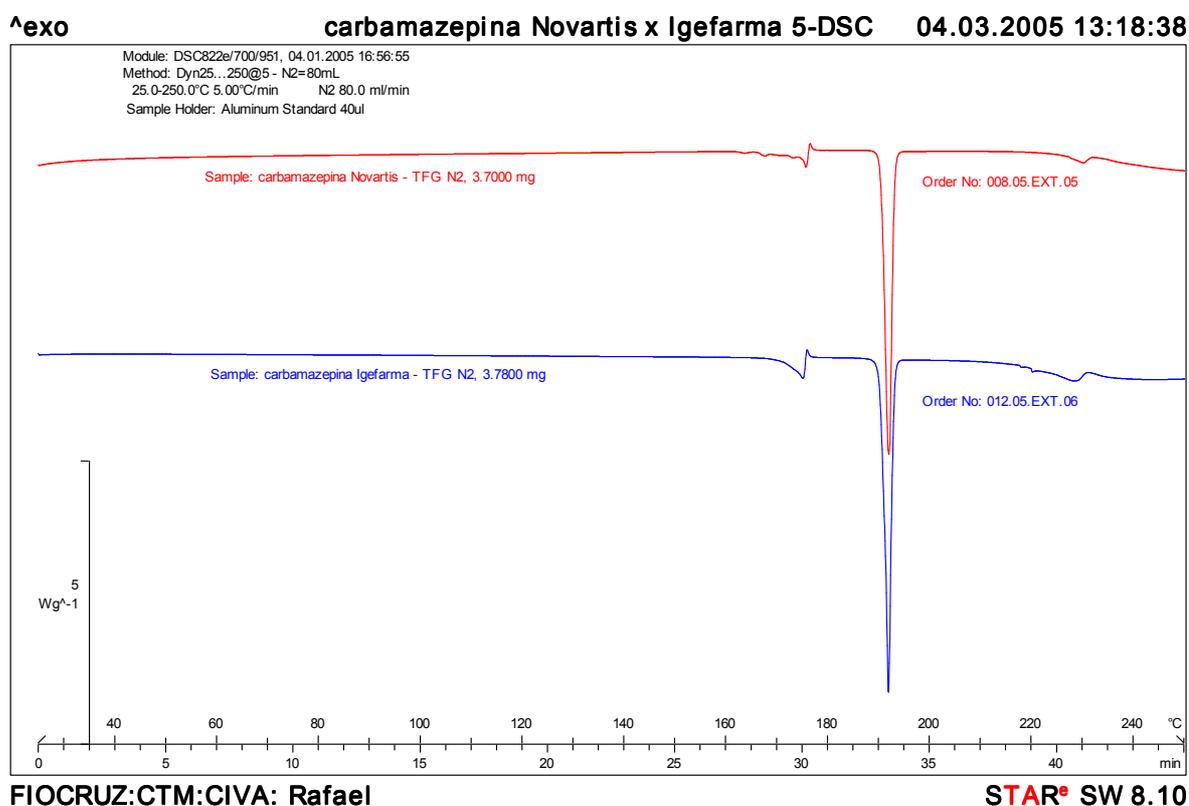


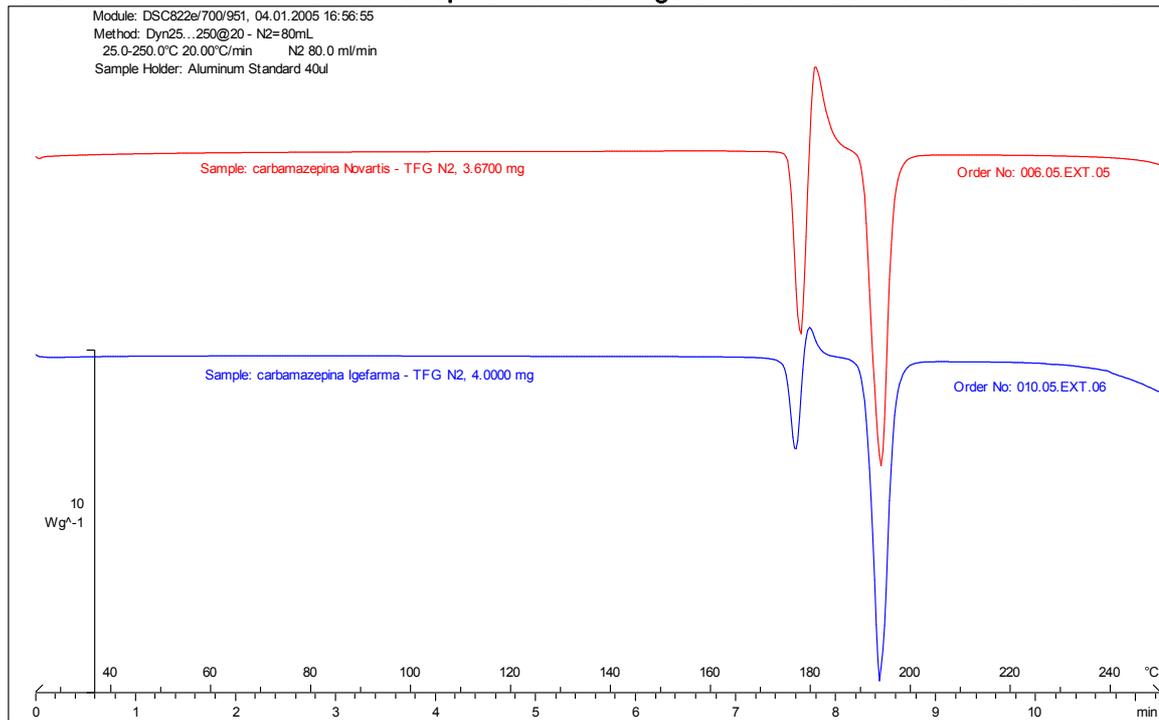
Figura 22

Curvas de DSC (5° C/min.)
carbamazepina referência e carbamazepina teste

^exo

carbamazepina Novartis x Igefarma 20-DSC

04.03.2005 13:13:21



FIOCRUZ:CTM:CIVA: Rafael

STAR[®] SW 8.10

Figura 23

Curvas de DSC (20^oC/min.)
carbamazepina referência e carbamazepina teste

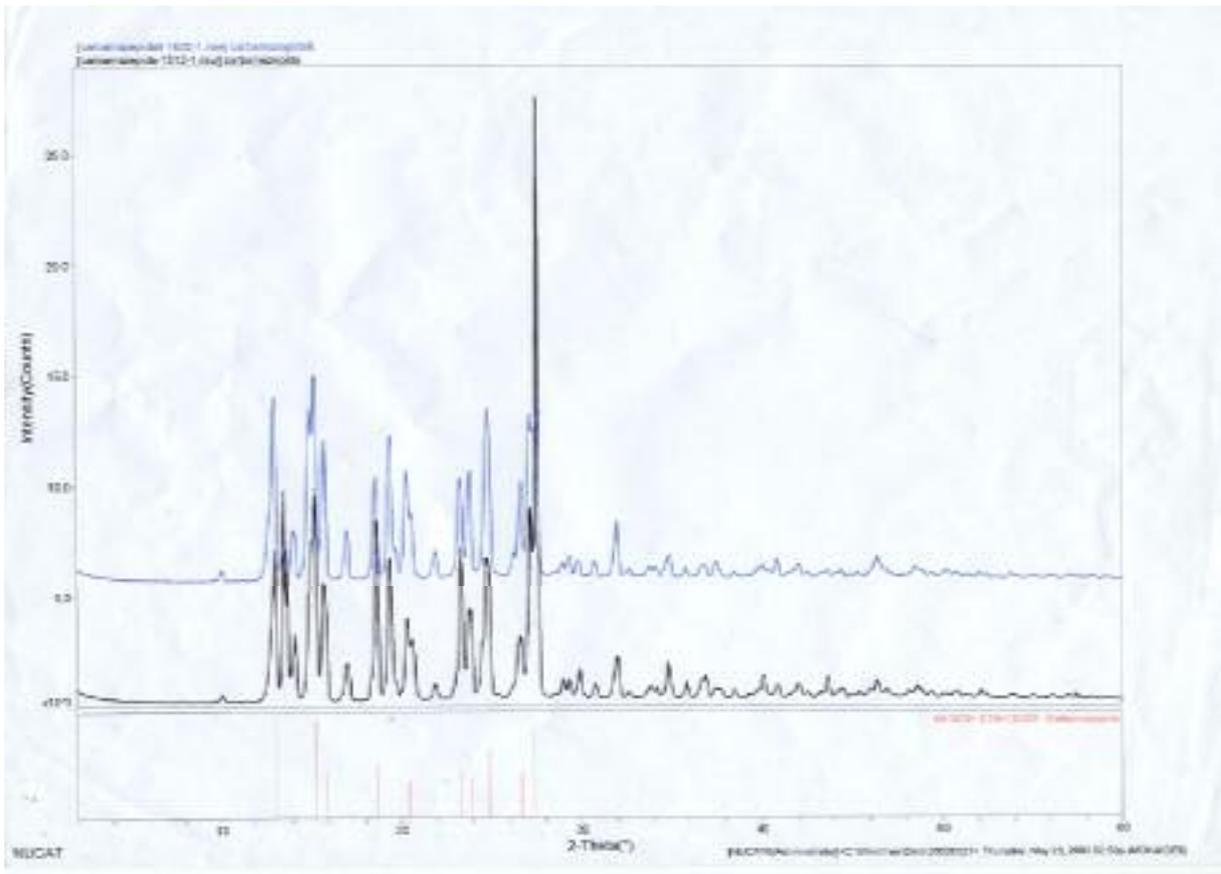


Figura 24
Difratograma de RX da carbamazepina teste (superior) e referência (inferior).

5. TENSÃO SUPERFICIAL

Tabela 6

Tensão superficial (dyn/cm) para as duas suspensões

	Referência	Teste
λ médio	31,48	28,07
DP	0,91	0,03

6. DISSOLUÇÃO

6.1. Verificação das condições de análise

6.1.1. Velocidade de rotação

6.1.1.1 Comparação de velocidades de 50 rpm e 25 rpm (Referência em 500 mL de meio):

Tempo (min)	Q ₅₀ (%)	Q ₂₅ (%)
0	0	0
3	85,2	78,8
6	90,6	86
9	92,3	88,7
12	92,4	89,5
15	92,8	85,4
18	92,2	86,5

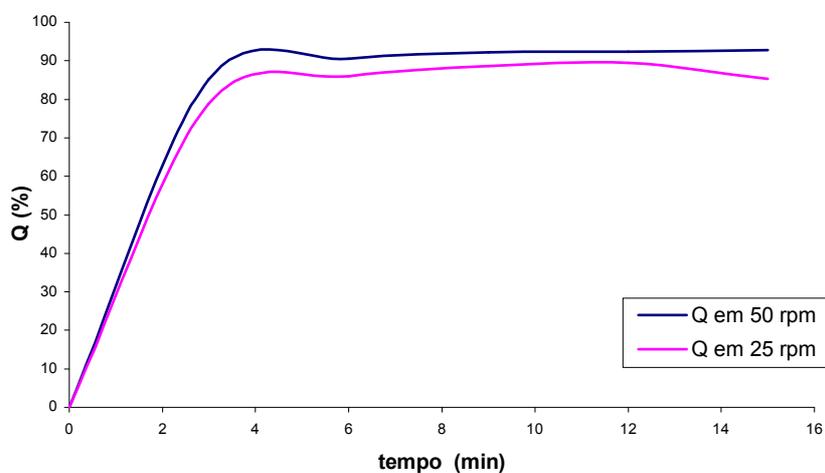


Figura 25

Comparação entre 50 e 25 rpm
(Referência em 500 mL de água)

6.1.1.2 Comparação de velocidades de 50 rpm e 25 rpm (Referência em 900 mL de meio):

Tempo (min)	Q ₅₀ (%)	Q ₂₅ (%)
0	0	0
3	92,3	86,8
6	95,7	92,4
9	94,5	92,1
12	93,9	91,1
15	92,6	89,6
18	91,5	89,3

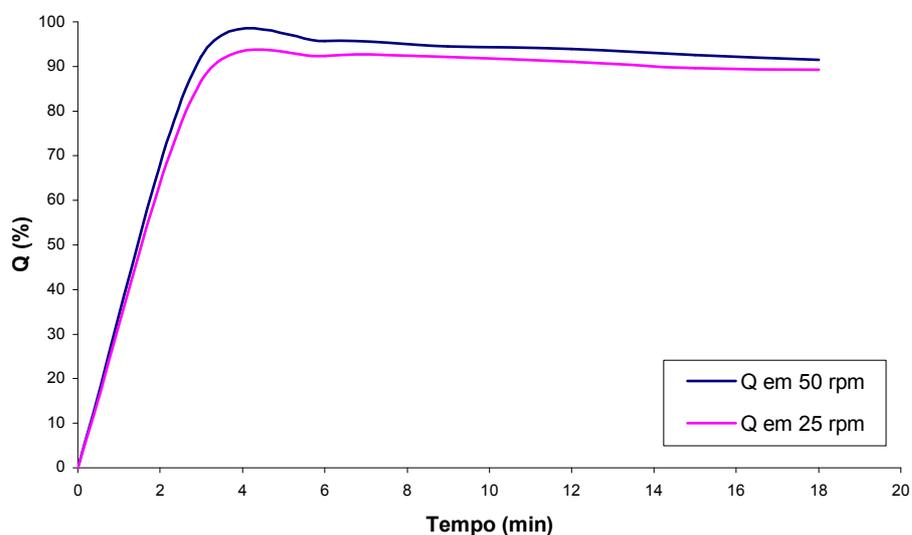


Figura 26
Comparação entre 50 e 25 rpm
(Referência em 900 mL de água)

6.1.2. Volume do meio

6.1.2.1 Comparação de volumes de meio (Referência, 50 rpm, 900 mL e 500 mL):

Tempo (min)	Q ₅₀₀ (%)	Q ₉₀₀ (%)
0	0	0
3	85,2	92,3
6	90,6	95,7
9	92,3	94,5
12	92,4	93,9
15	92,8	92,6
18	92,2	91,5

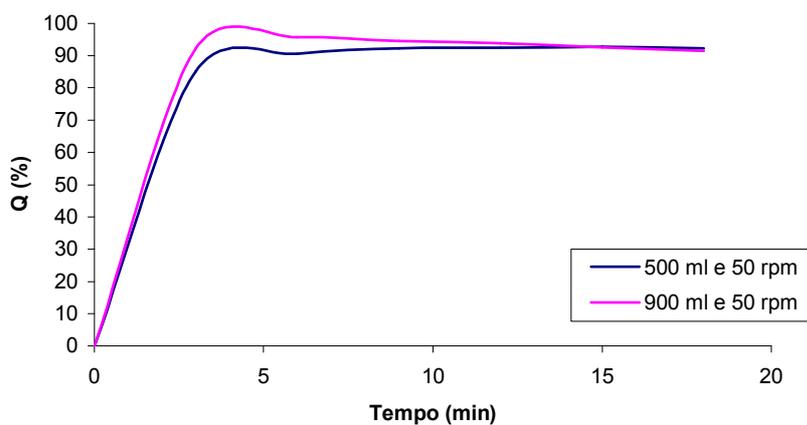


Figura 27
Comparação entre 500 e 900 mL de água
(Referência em 50 rpm)

6.1.2.2 Comparação de volumes de meio (Referência, 25 rpm, 900 mL e 500 mL):

tempo (min)	Q ₅₀₀ (%)	Q ₉₀₀ (%)
0	0	0
3	78,8	86,8
6	86	92,4
9	88,7	92,1
12	89,5	91,1
15	85,4	89,6
18	86,5	89,3

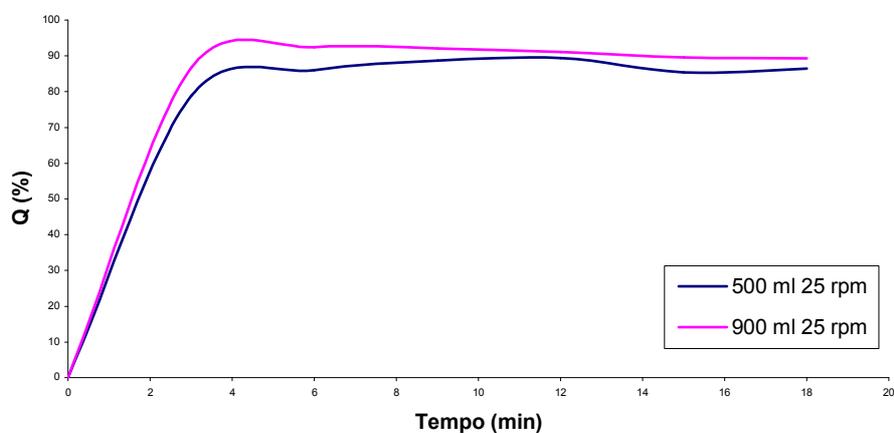


Figura 28
Comparação entre 500 e 900 mL de água
(Referência em 25 rpm)

6.2. Ensaios sobre as amostras

6.2.1 Ensaios em 500 mL de água (três diferentes lotes do produto referência e um lote do teste)

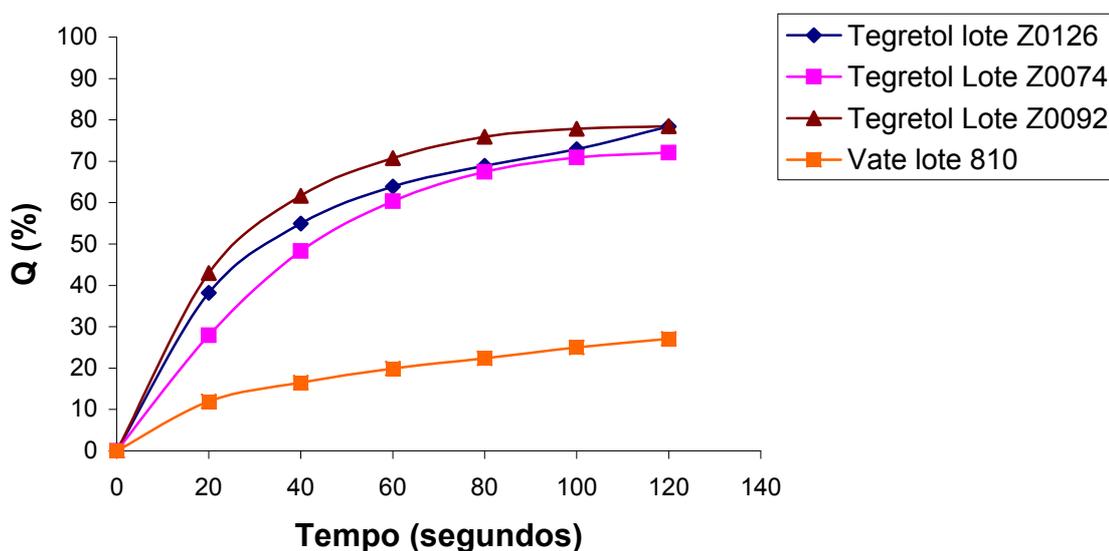


Figura 29
Resultados de ensaios realizados em 500 mL de água

6.2.2 Referência: meio de dissolução: 900 mL de água

Tempo (min)	Q (%)
1	74,9
2	86,2
3	87,1

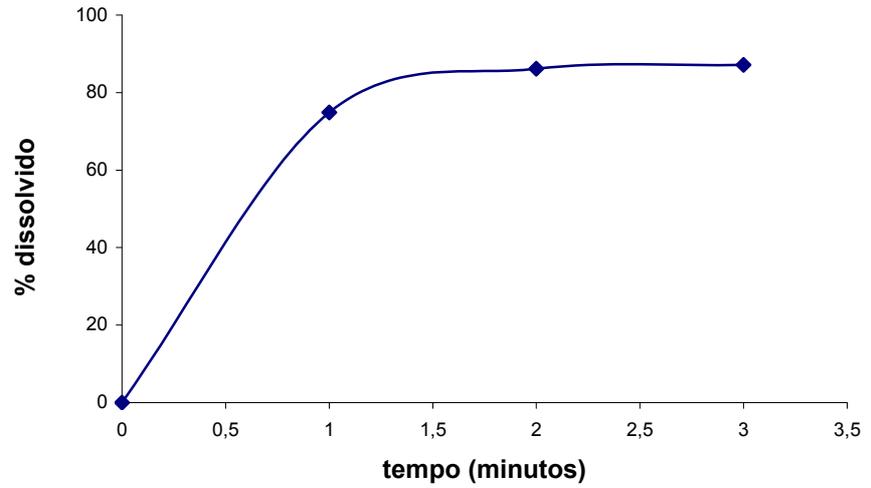


Figura 30

Dissolução do produto Referência em 900 mL de água

6.2.3 Referência: meio de dissolução: 900 mL de solução NaCl 15%

Tempo (min)	Q (%)
1	30,41
2	34,43
3	67,77
5	78,11
10	86,37
15	87,17
25	86,28
30	85,66

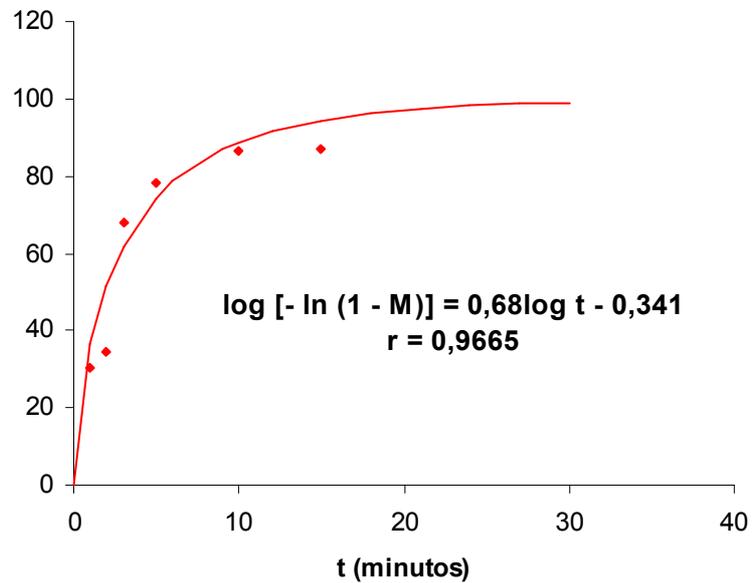


Figura 31

Dissolução do produto Referência em 900 mL de solução NaCl 15%

6.2.4 Teste em 900 mL de água

Tempo (min)	Q (%)
1	16,2
2	25,8
3	34,4
5	47,2
10	64,8
15	72,0
25	77,9
30	77,2

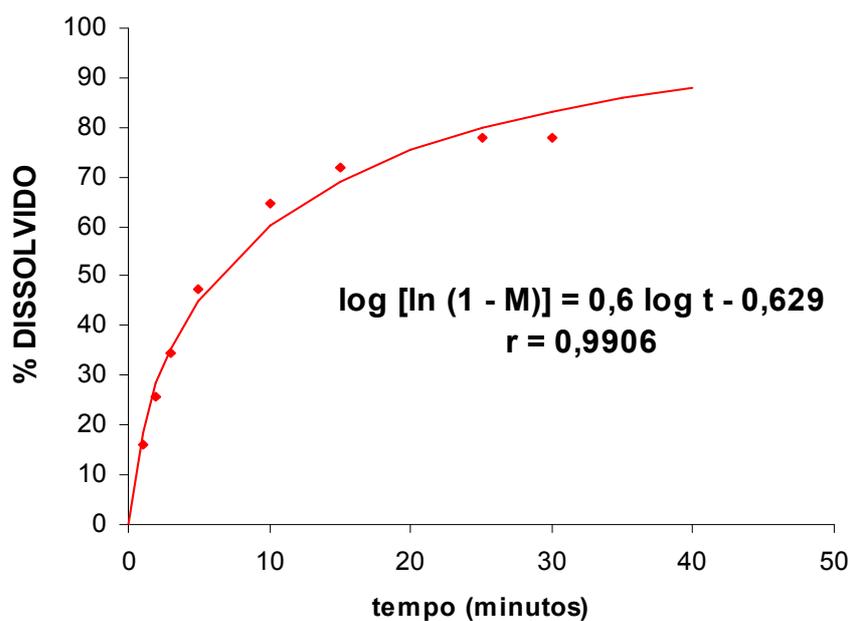


Figura 32

Dissolução do produto teste em 900 mL de água

6.2.5 Teste em 900 mL de solução de NaCl 15%

Tempo (min)	Q (%)
1	12,6
2	13,7
3	16,5
5	21,3
10	31,0
15	38,5
25	49,7
30	54,5

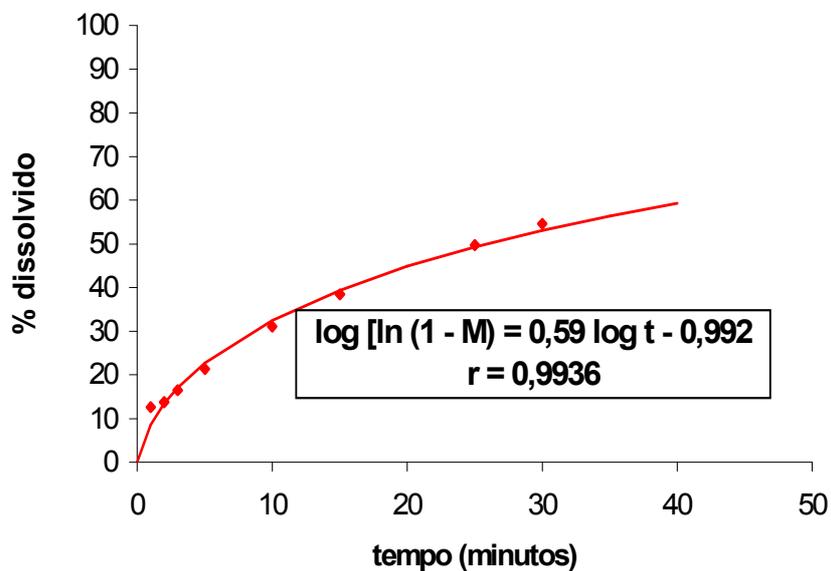


Figura 33

Dissolução do produto teste em 900 mL de solução NaCl 15%

6.2.6 Comparação entre o produto referência e o produto teste

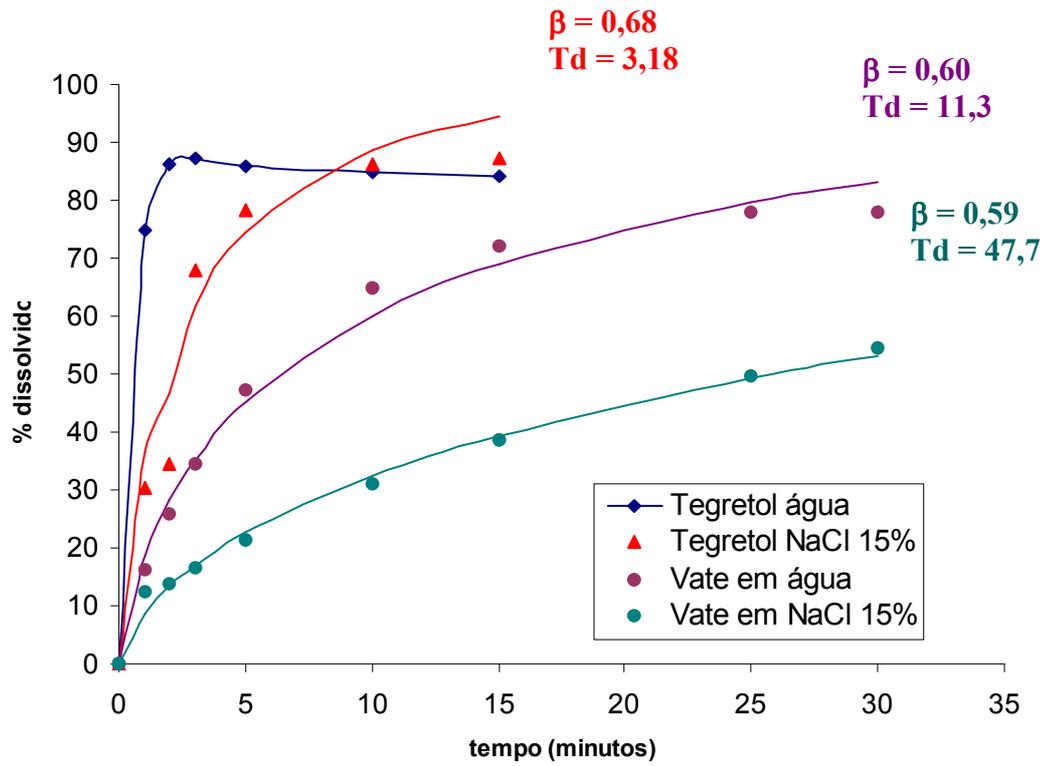


Figura 34

Curvas de dissolução comparadas em 900 ml

6.3. Tratamento Estatístico dos resultados da dissolução

Tabela 7
Resultados do Programa Comstat

Experiência	Análise sobre o modelo		Análise sobre os parâmetros				Regressão
	F =	r =	Td (min)	p =	β	p =	
Referência em água	-	-	-	-	***	-	-
Referência em NaCl 15%	44,6 $p < 0,001$	0,9664	3,18	0,008**	0,68	0,0146*	0,04 segundos 36 iterações SQ = 145,2
Teste em água	313,25 $p < 0,001$	0,9906	11,3	0,00**	0,60	0,00**	0,05 segundos 49 iterações SQ = 78,7
Teste em NaCl 15%	490,72 $p < 0,001$	0,9936	47,7	0,00**	0,59	0,00**	0,03 segundos 58 iterações SQ = 23,9

* Significativo

** Muito Significativo

Tabela 8
Tempos de dissolução extrapolados

Tempos dissolvidos	Referência em água	Teste em água	Referência em NaCl 15%	Teste em NaCl 15%
T 80%	< 2 min.	24,7 min.	6,4 min.	107 min.
T 70%	< 1 min.	15,2 min.	4,2 min.	65,8 min.
T 60%	< 1 min.	9,7 min.	2,8 min.	41,4 min.

DISCUSSÃO

Os coeficientes de dissolução intrínseca das duas matérias-primas estão expressos pelos valores de inclinação das retas produzidas pelas duas amostras de carbamazepina: 0,0356 mg/cm²/min no caso da matéria-prima Igefarma (produto teste), com um intercepto de 0,2471 mg; e 0,0196 mg/cm²/min para a matéria-prima Novartis (produto referência), com intercepto de 0,4057 mg. Embora visivelmente diferentes entre si, os valores são consistentes com aqueles encontrados por YU e colaboradores (2004), da ordem de 0,025 mg/cm²/min.

Os interceptos correspondem à fração de substância dissolvida instantaneamente em contato com o meio de dissolução, cujo resultado se mostra superior para a carbamazepina referência. A inclinação corresponde ao gradiente de concentração dissolvida por tempo, que exprime a velocidade de dissolução intrínseca. Inesperadamente, esse resultado se mostrou superior no caso da carbamazepina usada para o produto teste. Uma discrepância entre valores de dissolução intrínseca e de biodisponibilidade calculados para diferentes polimorfos de carbamazepina já fora identificada por KOBAYASHI e colaboradores (2000), explicável por uma transição das variedades anidras, muito rápida no caso da forma III (triclínica), para a forma hidratada. A mudança em área superficial daí resultante introduz uma variação nos resultados, visível nos minutos iniciais.

No nosso caso, como a experiência foi conduzida até duas horas com resultados colhidos em períodos de vinte minutos, se tal variação ocorreu não pôde ser evidenciada. A observação da estrutura dos cristais de cada uma das matérias-primas demonstrou diferenças que parecem ter sido mais responsáveis pelos diferentes valores de dissolução intrínseca. Os cristais encontrados na matéria-prima do produto teste apresentaram-se mais particulados, sugerindo terem sido submetidos a uma prévia trituração. Em contraste, a carbamazepina do produto referência (Novartis) apresentou cristais maiores, porém mais íntegros. A incerteza sobre a aplicabilidade dos resultados de dissolução intrínseca aos resultados de dissolução obtidos com as duas suspensões não estimula uma discussão sobre esses achados, porque não se pode assegurar que as amostras de carbamazepina testadas correspondam às utilizadas na produção das suspensões.

Segundo YU e colaboradores (2004), valores de dissolução intrínseca exprimem antes um fenômeno de velocidade do que de equilíbrio de fase, portanto é de se esperar que eles reflitam mais estreitamente a dissolução in vivo de uma substância

do que sua solubilidade. Foi sugerido que eles refletiriam melhor o conceito de “baixa solubilidade” do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Substâncias como furosemida, p. ex., apresentam um coeficiente de dissolução intrínseca muito mais alto em meios de dissolução de pH neutro. Um valor crítico de $0,1 \text{ mg/cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ foi indicado como diferenciador de substâncias muito e pouco solúveis. Em ambos os casos das matérias-primas estudadas o valor encontrado foi menor que esse, o que confirmaria a sua baixa solubilidade.

A cinética linear na dissolução intrínseca é explicada pela superfície constante do sólido, de vez que o contato entre solvente e soluto só se dá pela face inferior da pastilha. Segundo os mesmos autores, a relação entre o coeficiente de dissolução intrínseca j e o coeficiente D de difusão é expresso pela equação de Levich

$$j = 0,62 \left(\frac{D^{2/3} \omega^{1/2}}{\nu^{1/6}} \right) c_s$$

Onde ω é a velocidade de rotação e ν a viscosidade cinemática do meio de dissolução, c_s sendo a solubilidade do fármaco a dissolver nesse meio. Nas conclusões dos autores, variáveis como força de compressão utilizada na preparação da pastilha, altura da haste e volume de meio não influíram significativamente nos resultados obtidos. Nesse caso, para uma dada velocidade de rotação e um meio de viscosidade similar, o coeficiente de dissolução intrínseca é proporcional ao coeficiente de difusão de Fick (expresso em área por tempo, ou cm^2 / seg no sistema CGS). Esse valor pode ser utilizado para extrapolações a partir da equação de Noyes-Whitney, desde que o valor de área superficial seja conhecido, para valores de gradiente de concentração, massa e tempo pré-definidos.

Não obstante a pouca influência das condições de realização do teste, como mencionado acima, os ensaios foram conduzidos nas mesmas condições para as duas matérias-primas e os resultados obtidos para ambas foram compatíveis com os valores encontrados na bibliografia levantada.

A análise térmica das amostras forneceu resultados relevantes, porém não conclusivos para a inequivalência terapêutica apresentada. A calorimetria diferencial de varredura foi feita em gradientes de aquecimento de 5°C/min (figura 22) e 20°C/min (figura 23) para demonstrar a velocidade de transição dos polimorfos envolvidos. Na figura 22, o primeiro sinal observado na curva de DSC é a fusão da forma cristalina β ou monoclinica, o segundo sinal é sua recristalização em forma α

ou triclinica, a menos solúvel, que em seguida se funde registrando o terceiro sinal. A maior intensidade deste último sugere que a forma triclinica é a predominante nas matérias-primas utilizadas em ambos os produtos. A forma β ou monoclinica é o polimorfo mais solúvel, susceptível de converter-se naquela outra.

Na figura 23 os eventos são os mesmos, porém com sinais mais intensos. Isso ocorre porque em aquecimento mais rápido ($20^{\circ}\text{C}/\text{min}$), não há tempo suficiente para a recristalização da fração β da carbamazepina, e os sinais se somam, tornando a banda mais intensa e fazendo mais evidente a transição da forma polimórfica monoclinica (β) para a forma triclinica (α). Nessas condições, a diferença em intensidade dos sinais correspondentes à forma cristalina β , que apresenta a maior solubilidade, torna-se bem visível: a carbamazepina teste apresentou sinal menos intenso da do que a carbamazepina referência. Trata-se de uma observação meramente qualitativa, sendo impossível quantificar as diferenças de intensidade dos sinais.

Tampouco a difratometria em raios X forneceu resultados discriminatórios: os espectros mostrados na figura 24 não permitem visualizar nenhuma diferença significativa entre as duas matérias-primas. Segundo PHADNIS e colaboradores (1997), a forma triclinica (α) apresenta sinal abaixo de 10θ , porém o método não possui sensibilidade para traços do polimorfo (abaixo de 2%). Isso permite supor que a diferença de quantidade da fração β entre carbamazepina das duas procedências, conforme observado pelas duas curvas de DSC, esteja dentro desse limite: diferença pouco relevante para explicar a diferença dos resultados de dissolução ou a inequivalência terapêutica de um dos dois produtos, tal como no caso anterior (diferença entre velocidades de dissolução intrínseca).

Como já foi dito anteriormente, suspensões são formas farmacêuticas em que o sólido se encontra suspenso em pequenas partículas, portanto na seqüência de eventos necessários à dissolução de um sólido tal como esquematizado na figura 2, a etapa de desintegração já foi realizada (figura 4). Nessas condições, a velocidade de dissolução dependerá em grande parte da solubilidade do sólido suspenso, que por sua vez é função de sua capacidade de molhagem. Substâncias muito hidrofóbicas apresentando elevado valor de ângulo de contato (figura 3) são muito pouco solúveis em água. Como já foi visto, a adição de um tensoativo aumenta a molhabilidade de um sólido, portanto potencializará sua velocidade de dissolução. Esse aumento de molhabilidade é conseqüência da diminuição da tensão interfacial,

calculada como a diferença entre as tensões superficiais das duas fases, entre o sólido e o meio de dissolução.

A adição de tensoativos a meios de dissolução é um recurso que vem sendo empregado há vários anos para acelerar a velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis, como alternativa à utilização de grandes volumes de meio, métodos de esgotamento de pouca reprodutibilidade ou meios sem relevância fisiológica (SHAH *et al*, 1989). Esses autores conseguiram acelerar a velocidade de dissolução de comprimidos de carbamazepina, entre outros, mediante a adição de quantidades crescentes de lauril sulfato de sódio no meio de dissolução, o que teria maior bio-relevância, dada a presença de tensoativos naturais nos fluidos digestivos (sais de bile ou ácidos biliares, p. ex.). SOLVANG e FINHOLT (1968) mediram a tensão superficial do suco gástrico a um valor de 45 dyn/cm, portanto inferior à da água, que é de 72 dyn/cm. Contudo, o emprego indiscriminado de tensoativos para acentuar a velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis mereceu atenção recente do FDA, pela possibilidade de mascarar eventos bio-relevantes. Foi sugerido que sejam utilizados como última opção, na menor concentração possível e em tipo e concentração justificados. Deve-se ressaltar que o uso de tensoativos pode produzir certas interações indesejáveis entre o sólido e o meio de solvente. (BØNLØKKE *et al*, 1999) constataram que o uso de tensoativo não iônico Poloxamer 184 tem um efeito retardador sobre a transição polimórfica da carbamazepina, da forma anidra para o dihidrato.

A presença de polioxietileno na formulação do produto referência supõe que ele exerça o papel do tensoativo na suspensão de Tegretol®, contudo não há informações no caso do produto teste (Vate®), nem de sua quantidade em nenhum dos dois casos. A determinação da tensão superficial de ambos os produtos foi necessária para verificar a influência dessa variável sobre os resultados de dissolução. Como se pode observar na tabela 6, não houve diferença significativa entre os valores observados, o que descarta a possibilidade de que as diferentes velocidades de dissolução entre os dois produtos sejam atribuíveis a esse fator.

Como pode ser visto na tabela 4, o produto referência apresentou área superficial 16% maior do que a área superficial do produto teste, com 90% das partículas situando-se até 32,76 µm, para o produto referência (Tegretol®) e 49,83 µm para o produto teste (Vate®). A área superficial, tal como assinalada na equação de Noyes-Whitney, é apontada em diversos livros-texto como sendo fator determinante na velocidade de dissolução de um sólido, permitindo-nos supor que a

diferença encontrada nos resultados entre o produto referência e o produto teste possa ser principalmente explicada por ele.

O estabelecimento das condições operacionais foi feito usando-se o produto referência, pela maior facilidade de obtenção. De início foi estudada a influência do volume do meio e da velocidade de rotação sobre uma quantidade de amostra de 10 ml \cong 200 mg de carbamazepina. As figuras 25, 26, 27 e 28 mostram não ter havido diferença nos resultados alterando-se o volume do meio de 500 ml para 900 ml ou a velocidade de agitação de 25 rpm para 50 rpm. O volume de 500 ml foi então escolhido como preferencial, na expectativa de que volumes menores retardassem o processo de dissolução de maneira a aumentar o poder discriminador do teste, tentando contrabalançar o efeito do tensoativo. Uma comparação entre diversos lotes do produto referência Tegretol® e o lote testado do produto similar Vate® feita nessas condições revelou uma forte diferença entre os dois produtos e grande semelhança entre os lotes do produto referência (figura 29). A quantidade de amostra usada foi àquela equivalente à dose terapêutica (5 ml = 100 mg). Porém, observa-se um efeito de saturação do meio, de tal forma que não se alcançavam percentuais dissolvidos superiores a 70-80% (para o referência) e 30% (para o teste). Isso se explica pela fraca solubilidade da carbamazepina. (0,11mg/ml, em <http://cyclodextrin.is/dwl/TL's%20New%20CD%20Presentation%20FOR%20WEB—POLYMER%20TECHNOLOGY.ppt>). Respeitado o limite para obtenção de condições de esgotamento indicados na literatura (STAVCHANSKY e MCGNITY, 1999), isso exigiria um volume de solvente superior a seis vezes este limiar de saturação, o que daria um valor de 0,0183 mg/ml ou 16,5 mg para 900 ml de meio, correspondendo a cerca de 1 mL de amostra (= 20 mg carbamazepina), volume mínimo normalmente coletável.

Nessas novas condições, o ensaio feito com o produto referência resultou em percentual dissolvido de 87,1% com apenas 3 minutos de análise (figura 30). A extrema velocidade do processo torna impossível a regressão dos valores experimentais. O produto teste nas mesmas condições (figura 32) mostrou 77,2 % dissolvidos ao final de 30 minutos, aumentando grandemente o poder discriminatório do teste.

Como o volume do meio não influenciou sobre a velocidade de dissolução em nenhum dos casos, tentou-se então minimizar o efeito do tensoativo presente no produto já que, como já descrito na literatura, ele exerce um efeito fortemente acelerador sobre a velocidade de dissolução, pelo seu efeito solubilizante sobre a

carbamazepina. Está registrado na literatura que a adição de eletrólitos fortes como sacarose ou sais de sódio produz um bloqueio de ação do tensoativo. O mecanismo por que esse bloqueio se processa ainda é controverso (MAYERS, 1997), mas admite-se que seja consequência do aumento de número de moléculas de tensoativo associadas numa micela, acarretando um aumento do valor da concentração micelar crítica e simultaneamente aumentando o valor da tensão superficial do solvente. As moléculas do tensoativo, tendo maior afinidade por moléculas altamente polarizadas como aqueles eletrólitos, ficam rodeadas por elas e não conseguem associar-se às moléculas do solvente.

Nas figuras 31 e 33 pode-se observar que a adição de NaCl em 15% ao meio de dissolução, como esperado, produziu um forte retardamento da velocidade de dissolução, aumentando ainda mais o poder discriminatório do teste: foi possível obter percentuais dissolvidos de 85,66% para o produto referência e 54,5 % para o produto teste em um tempo de ensaio de 30 minutos, permitindo a aplicação de um modelo para regressão não linear dos resultados para o produto referência. Contudo, a confiabilidade das estimações foi afetada pelo baixo nº de resultados inferiores a 65%. Como já mencionado, um dos parâmetros estimados pelo modelo de Weibull é o tempo T_d necessário para dissolução de 63,2% de substância ativa, o que exige um número suficiente de resultados abaixo desse valor. O baixo nº de graus de liberdade introduz um viés na estimação, como se pode observar na tabela 7, onde estão reunidas as estimações realizadas pelo programa COMSTAT para os resultados de dissolução obtidos.

A primeira análise desses resultados relaciona-se ao ajuste do modelo aos dados experimentais. As duas primeiras colunas da tabela 7 exprimem o grau de afinamento desse ajuste, tal como refletido pelos valores de F de Snedecor obtidos por uma análise de variância sobre os valores da regressão. Nesse caso comparam-se somas de quadrados provenientes da variação devida ao modelo (no caso, diferenças de percentuais dissolvidos a diferentes pontos de tempo) com as somas de quadrados não atribuíveis a uma causa específica, considerados como provenientes do erro aleatório. O quadrado médio obtido a partir da relação entre essas duas fontes de variação exprime a variância representada por um valor F calculado, que será tanto superior quanto maior a variação proveniente do modelo. Como se pode observar nos valores de F tabulados, em todos os casos essa variação foi altamente significativa, o que comprova o bom ajuste do modelo aos resultados experimentais.

A evolução dos valores de F permite também acompanhar o gradual ganho em eficiência à medida em que se aumentava o número de graus de liberdade: o pior ajuste foi aquele obtido com os dados do produto referência usando-se meio de dissolução NaCl 15%. Como se pode observar pela figura 31, apenas dois resultados menores de 63% foram obtidos. O valor de coeficiente r de correlação foi também o mais baixo, embora estatisticamente não tenha afetado a significância do ajuste do modelo. Em ambos os casos do produto teste, seja usando-se água ou solução de NaCl 15%, o ajuste foi bem superior, sobretudo no caso deste último.

Validado o ajuste do modelo, a análise seguinte é a validação dos parâmetros obtidos pelo uso do modelo. Em nenhum dos casos, assinalou-se a presença de um tempo de latência T_0 significativo, como era de se esperar para uma forma farmacêutica em suspensão. Os demais parâmetros T_d e β (forma da curva) foram estimados para os três casos em que o modelo pôde ser aplicado. Somente a estimação de β para o produto referência em NaCl 15% teve sua significância estatística ligeiramente afetada ($p = 0,146$), o que confirma que nesse caso, o baixo número de graus de liberdade teve uma influência negativa.

Os parâmetros estimados tendo sido validados pode-se observar que a velocidade de dissolução para os dois produtos nos dois meios utilizados está fielmente representada pelos valores de T_d determinados pela análise de regressão. Utilizando-se água como meio de dissolução, salta aos olhos a diferença entre um T_d (não calculado, mas abaixo de 2 minutos pelos dados experimentais) para o produto referência e 11,3 minutos para o produto teste. Utilizando-se NaCl 15% como meio, a diferença é ainda mais acentuada: de 3,18 minutos para o produto referência torna-se 47,7 minutos para o produto teste. Em todos os casos $\beta < 1$, refletindo a forma da curva achatada que se obtém nas cinéticas de dissolução, devido ao efeito de saturação do meio sempre presente pela baixa solubilidade da carbamazepina. A alta velocidade de dissolução causada pela ação do tensoativo no estágio inicial do processo sofre uma brusca inflexão ao se atingir a zona de saturação do meio, o que de resto pode ser uma característica de todo processo de dissolução obtido com suspensões. Esses resultados mostram que a aplicação do modelo de Weibull aos resultados de cinéticas de dissolução ultra-rápidas foi de grande utilidade para a comparação de curvas obtidas com diferentes produtos a diferentes condições, permitindo retirar um grande número de informações.

A última coluna da tabela 7 mostra que a análise efetuada pelo programa COMSTAT foi extremamente rápida e o algoritmo se mostrou robusto, como

indicado pelo número de iterações efetuadas em um tempo extremamente curto. Os valores de SQ (soma de quadrados) indicados descrevem o grau de otimização das estimações, correspondendo à diferença mínima encontrada entre valores de partida e valores calculados, ou a melhor estimativa possível.

A boa qualidade da regressão permite extrapolar valores de tempo para percentual dissolvido não encontrados nas experimentações, representados na tabela 8. Esses valores são úteis para se estabelecer especificações farmacopéicas. No caso presente, admitindo-se que o tempo especificado não seja inferior a 10 minutos, o teste apresentaria um alto poder discriminatório se estabelecido para 80%.

CONCLUSÃO

- O ensaio de dissolução realizado em 5 ml da suspensão (= 100 mg) de carbamazepina e 500 ml de água não mostrou poder discriminatório suficiente, a 25 ou 50 rpm de agitação e não permite condições de esgotamento
- A utilização de meio de dissolução em volumes de 900 ml e a redução da quantidade de amostra para 1 ml de suspensão (= 20 mg) de carbamazepina permite operar em condições de semi-esgotamento e aumenta muito o poder discriminatório do ensaio
- A adição de NaCl ao meio de dissolução para bloquear o tensoativo, retardou ainda mais a velocidade de dissolução com maior poder discriminatório
- A diferença entre as áreas superficiais das partículas da suspensão referência e teste pode explicar as diferentes velocidades de dissolução encontradas para os dois produtos e a inequivalência terapêutica previamente constatada;
- Para cinéticas de dissolução ultra-rápidas, como no caso de suspensões orais, o uso de modelos para comparação dos perfis permite que ela se faça sobre valores ajustados, diminuindo o erro experimental;

- A eficiência do ajuste depende não só do modelo utilizado, como do algoritmo em que ele é utilizado;
- O ajuste melhora significativamente quanto maior o número de pontos sobre a curva, sobretudo com percentuais dissolvidos inferiores a 63,2%;
- Se a estimação dos parâmetros é estatisticamente validada, interpolações e extrapolações podem ser suficientemente confiáveis, facilitando o estabelecimento de especificações farmacopéicas
- Uma especificação de 80% em 10 min pode ser estabelecida em meio de dissolução de 900 ml de água, velocidade de rotação de 50 rpm e 1 ml de amostra de suspensão a 2% de carbamazepina

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDON, H. M. Dissolution. In: Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 19 ed. Easton: Marck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1989.
2. AMIDON, G.L., LENNERNAS, H., SHAH, V.P., CRISON, J.R., 1995. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm. Res. 12, 413-420.
3. ANSEL; POPOVICH; ALLEN JR. Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação Controlada. 6 ed., Ed. Premier, São Paulo, 2000.
4. BEYER, W. F.; SMITH, D. L., Unexpcted variables in the USP – NF Rotating basket dissolution test, J. Pharm. Sci., v. 60, p. 469 – 497, 1972.

5. BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe 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, 23 de setembro de 1976.
6. BRASIL. Lei nº 8.080, 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.
7. BRASIL. Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Brasília, DF, 10 de fevereiro de 1999.
8. BRASIL. RE nº 897, de 29 de maio de 2003. Guia para isenção e substituição do estudo de bioequivalência. Brasília, DF.
9. BRASIL. RE nº 310, de 1^o de setembro de 2004. Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência e farmacêutica e perfil de dissolução. Brasília, DF.
10. BRICE, G. W. e HAMMER, H. F. Therapeutic non- equivalence of oxytetracycline capsules. J. Am. Med. Assoc. , v. 208, p. 1189 – 1190, 1969.
11. BØNLØKKE, L.; HOVGAAR, L.; KRISTENSEN, H. G.; KNUSTSON, L.; LINDAHL, A.; LENNERNÅS, H. A comparison between direct determination of in vivo dissolution and the deconvolution technique in humans. Eur. J. Pharm. Sci., v. 8, p. 19-27, 1999.
12. CAMPAGNA, F. A.; CUURETON, G.; MERIGIAN, R. A. e NELSON, E. Inactive prednisone tablets U. S. P. XVI, J. Pharm. Sci., v. 52, p. 605 – 606, 1963.

13. CÁRCAMO, E.C. Cinética de dissolução de medicamentos. Secretaria General de la organización de los Estados Americanos, Washington, 1981.
14. CESCHEL, G. C.; DUCAN, S.; DALL' OLIO, G.; LUPO, C. e GIANI, C. Valutezione " in vitro" della biodisponibilità nelle formulazione solide per os. Boll. Chim. Farm. , v. 112, p. 645 – 664, 1972.
15. COSTA, P. e LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur. J. Pharm. Sci. v. 13, p. 123-133, 2001
16. DELFINA, J. M. P.; OJEDA, A. P. Manual de iniciación à la biofarmácia (Farmacocinética aplicada). Editorial Científico-Médica, Barcelona, 1974.
17. EDWARDS, L. J. The dissolution and diffusion of aspirin aqueous Media. Trans. Faraday Soc., V. 47, p. 1191- 1210, 1951.
18. GAETE, G. Modulaci3n de la solubilidad y velocidad de disoluci3n. In: Arancibia, A., Pezoa, Pezoa, R. Biodisponibilidad de medicamentos. Editorial Universit3ria San Francisco, Santiago do Chile v.1, p. 179-192, 1992.
19. GERSHBERG, S. e STOLL, F. D. J. Pharm. Sci., v. 35, 1946 *apud* MORRISON e CAMPBELL, 1965.
20. GIBALDI, M. Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 2 ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
21. GIBALDI, M. e FELDMAN, S. Establishment of "sink conditions" in dissolutions rate determinations. J. Pharm. Sci., v. 56, p. 1238, 1967.
22. GOODMAN E GILMAN'S. As bases farmacol3gicas da terapêutica. 7ª Ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1987.
23. GRZESIAK, A. L.; LAND, M; KIM, K. E MATZGER, A. J. Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. J. Pharm. Sci. vol. 92, nº 11, 2003.

24. HANSON, W.A. Handbook of dissolution testing. 2 ed. Oreon: Aster Publishing Corporation, p. 159, 1991.
25. HORTER, D. e DRESSMAN, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Delivery Rev.* v. 46, p. 75-87, 2001.
26. KOBAYASHI, Y.; ITO, S.; ITAI, S. e YAMAMOTO, K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *Int. J. Pharm.* v. 193, p. 137-146, 2000.
27. LABASTIE, M.; NACCO, R. E CUMPS, J. Tablets dissolution parameters: a statistical evaluation. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 10, p. 1105-1108, 1992.
28. LEFEBVRE, C. e GUYOT-HERMANN, A. M. Polimorphic transitions of carbamazepine during grinding and compression. *Drug Devel. Ind. Pharm.* v. 12, p. 1913 – 1927, 1986.
29. LEVY, G. E HAYES, B. A. Physicochemical basis of buffered acetylsalicylic acid controversy. *New England J. Med.*, v. 262, p. 1053 – 1058, 1960.
30. LEVY, G.; LEONARDS, J. R. e PROCKNALL, J. A. Development of “in vitro” dissolution tests which correlate quantitatively with dissolution rate-limited absorption in man. *J. Pharm. Sci.*, v. 54, p. 1719, 1965.
31. LUCESSE, P. T. R. A vigilância sanitária segundo as normas operacionais básicas do Ministério da Saúde. In: Rosenfeld, S. (org) *Fundamentos da vigilância sanitária*. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2000.
32. MARTÍN, I.D.; VILADROSA J.L.- Liberación: factores fisicoquímicos. In: BERROZPE, J.D.; LANA O, J.M.; DELFINA, J.M.P. *Biofarmacia y Farmacocinética*. Madrid: Editorial Sintesis, 2000.

33. MCPHILLIPS, H.; CRAIG, D.Q.M; ROYALL, P. G. e HILL, V.L.. Characterisation of the glass transition of HPMC using modulated temperature differential scanning calorimetry. *Int. J. Pharm.*, v. 180(1), p. 83-90, 1999.
34. MOORE, J. W. e FLANNER, H. H. Mathematical comparison of curves with an emphasis on in-vitro dissolution profiles. *Pharm. Tech.*, v. 20, p. 64-76, 1996.
35. MORRISON, A. B. e CAMPBELL, J. A. Tablet desintegration and physiological availability of drugs. *J. Pharm. Sci.*, v. 54, p. 01 – 08, 1965.
36. MYERS, D. Physical properties of surfactants used in cosmetics In: *Surfactants in cosmetics*, 2^a ed., Marcel Dekker, New York, 1997.
37. NAIR, R.; GONEN, S.; HOAG, S. W. Influence of polyethylene glycol and povidone on the polymorphic transformation and solubility of carbamazepine. *Int. J. Pharm.*, v. 240, 2002.
38. OSER, B. L., MELVICK, D. e HOCHBERG, M. Physiological availability of vitamins study of methods for determining availability of vitamins in pharmaceutical products *apud* Levy, G. Bioequivalence assessment: irrationally within a national science. *Int. Conf. of FIP*, Tokyo, Japan, 1996.
39. OTSUKA, M.; HASEGAWA, H. e MATSUDA, Y. Effect of polymorphic forms of bulk powders on pharmaceutical properties of carbamazepine granules. *Chem. Pharm. Bull*, v. 47 (6), p. 852- 856, 1999.
40. PARROT, E. L.; WURSTER, D. E. e HIGUCHI, T. Investigation of drug release from solids: I. some factors influencing the dissolution rate. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 44, p. 269 – 273, 1995.
41. PERNAROWSKI, M.; WOO, W. e SEARL, R. O. Continues flow apparatus for determination of the dissolution characteristics of tablets and capsules. *J. Pharm. Sci.*, v. 57, p. 1419 – 1421, 1968.

42. PHADNIS, N. V.; CAVATUR, R. K. e SURYANARAYANAN, R. Identification of drugs in pharmaceutical dosage forms by X-ray powder diffractometry. J. Pharm Biom. Anal. v. 15, p. 929-943, 1997.
43. POOLE, J. W. Some experiences in the evaluation of formulation variables on a drug availability. Drug Inform. Bull. , v. 3, p. 8 – 16, 1968.
44. QURESH, S. A.; MCGILVERAY, I. J., A critical assesement of de Usp dissolution apparatus suitability test criteria. Drug Dev. Ind. Pharm., NY, v. 21, n. 8, p. 905-924, 1995.
45. ROSENFELD, S. (Org.). Fundamentos da vigilância sanitária. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2000.
46. SARAPU, A. C.; LEWIS, A. R.; GROSTIC, M. F., Analisis of PMA collaborative studies of dissolution test calibrators, Pharmacopeial Forum, v.6 , p. 172 – 176, 1980.
47. SIMIONI, L. e BOTTONI, R. Saggi di dissoluzioni “ in vitro” : influenza delle condizioni di ezecusione. Boll. Chim. Farm. , v. 12, p. 1991 – 201, 1973.
48. SHAH, V. L.; KONECNY, J.J.; EVERETT, R. L.; MCCULLOGH, B.; NOORIZADEH, A. C.; SHELLY, J. P. In vitro dissolution profile of water-insoluble drug dosage form in the presence of surfactants. Pharm. Res. vol.6, n^o 7, 1998.
49. SHARGEL, L., YU, A. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. Stanford, New York, 1999.
50. SKOUG, J.W., HALSTEAD, G. W., THEIS, D. L., FREMAN, J. E., FAGAM, D.T. , ROHRS, B. R. Roteiro para desenvolvimento e validação de testes de

- dissolução em formas farmacêuticas para uso oral. *Pharmaceutical technology*, p. 34-43, 1997.
51. STAVCHANSKY e MCGINYTY. Bioavailability in tablet technology in: *pharmaceutical dosage forms: tablets*, vol. 2, Marcel Dekker, NY, 1999.
52. STORPIRTIS, S., CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S.Paulo*, v. 31, n.2, p. 63-70, 1995.
53. STORPIRTIS, S.; RODRIGEZ, D.; In vitro evaluation of dissolution properties and degradations products of omeprazole in enteric-coated pellet. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, NY, v. 24, n. 11, p. 1101-1107, 1998.
54. TEORELL, T. *Arch. Int. Pharmacodyn. Thérap.* V. 57, p. 205 - 225 e 226 – 240, 1937, apud DELFINA e OJEDA, 1974.
55. VICECONTI, P. E. V. e NEVES, S. *Introdução a economia*, 3^a ed. editora Frase,. São Paulo, 1999.
56. WAGNER, J. G. Biopharmaceutics: absorption aspects. *J. Pharm. Sci.*, v. 50, p. 359–387, 1961.
57. YU, L. X.; CARLIN, A. S.; AMIDON, G. L. e HUSSAIN, A. S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *Int. J. Pharm.*, v. 270, p. 221-227, 2004.