

Janaína Alves da Silva

**Dissolução de comprimidos: estudo comparativo de  
apresentações genéricas contendo diazepam**

Rio de Janeiro

2013

Janaína Alves da Silva

**Dissolução de comprimidos: estudo comparativo de  
apresentações genéricas contendo diazepam**

Monografia apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* como requisito para obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas

**Orientador: Professor Olivar  
Silvestre Santos Filho,  
Especialista em Tecnologias  
Industriais Farmacêuticas.**

Rio de Janeiro

2013

Janaína Alves da Silva

**Monografia apresentada junto ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia de Fármacos-Farmanguinhos/FIOCRUZ, como requisito final à obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas**

ORIENTADOR

---

Prof. Olivar Silvestre, Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de Tecnologias em Fármacos-Farmanguinhos/FIOCRUZ.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Eliane dos Santos Machado, Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de Tecnologias em Fármacos-Farmanguinhos/FIOCRUZ.

---

Prof. Marcelo Henrique da Cunha Chaves, Mestre em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, Instituto de Tecnologias em Fármacos-Farmanguinhos/FIOCRUZ.

## RESUMO

O medicamento genérico se tornou uma realidade para o povo brasileiro a partir da implantação e regulamentação da Lei 9.787 de 10 de fevereiro de 1999. O Ministério da Saúde passou a exigir das indústrias a apresentação de provas de realização de ensaios de equivalência e bioequivalência farmacêuticas com o medicamento de referência. Para atender essas exigências as indústrias passaram a realizar estudos de biodisponibilidade e bioequivalência.

Como as formas farmacêuticas sólidas de uso oral são as que apresentam maiores problemas quando se trata de biodisponibilidade, estudos de dissolução se tornaram necessários para o desenvolvimento de novas formulações; tais estudos tem por finalidade assegurar a uniformidade da qualidade e o desempenho do medicamento lote a lote ou após determinadas alterações da formulação, uma vez que a resposta farmacológica depende da dose administrada, da velocidade e da extensão com que ele se libera de sua matriz.

Os benzodiazepínicos representam uma das classes de fármacos mais prescritas e utilizadas em todo o mundo.

O diazepam é um representante desta classe, um fármaco de ação longa, com tempo de meia vida superior a 24 horas, que sofre absorção completa, mas pode não atingir as concentrações ideais no meio biológico se não forem aplicadas as tecnologias de fabricação adequadas durante seu processamento industrial. Nos ensaios de dissolução realizados este fator foi evidenciado, uma vez que obteve - se um resultado bem próximo do mínimo aceitável, levando-se em consideração que o fármaco avaliado se solubiliza bem no meio utilizado.

O problema ocorrido pode ser derivado de uma possível falha no processo tecnológico aplicado na fabricação do fármaco ou mesmo devido a polimorfismos do próprio insumo farmacêutico ativo usado no processo produtivo.

**Palavras-chave:** Medicamento genérico; bioequivalência; biodisponibilidade, dissolução, diazepam.

## ABSTRACT

The generic drug became a reality for Brazilian people by implantation and regulation of law number 9.787, of February, 1999. The Ministry of Health began require industries evidences for pharmaceutical equivalence and bioequivalence testing with reference drug. For comply this demands, the industries became realize bioavailability and bioequivalence studies. As the solid oral dosage forms are classes that present the biggest problems about bioavailability, dissolution testing is necessary for new formulation development; ensure uniformity quality and drug performance batch to batch or after some formulation adjustment, once the pharmacological answer depend of administered dose, velocity and of extension that his form released. Benzodiazepines class has been one of the most drug prescribed and used in all over the world, the diazepam is a representative of this family, is a long-acting drug, with half-life up to 24 hour, complete absorption, but can't reach right concentration in biological medium if do not apply appropriate manufacturing technologies during their industrial processing. In dissolution testing realized, this factor have been evidenced, once the results shown were very close to minimum acceptable, taking into consideration that the drug available have a high solubility in medium used, the problem can be derived from possible fault in technological process used in the product manufacturing or even due own polymorphisms active pharmaceutical ingredient used in the production process.

**Keywords:** Generic drug; bioequivalence; bioavailability; dissolution and diazepam.

## LISTA DE SIGLAS

$C_{m\acute{a}x}$  - Concentração máxima do fármaco atingida no plasma

$T_{m\acute{a}x}$  - Tempo no qual  $C_{m\acute{a}x}$  é alcançada

SCB - Sistema de Classificação Farmacêutica

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CIVIV- Correlação *in vivo x in vitro*

USP - United States Pharmacopeia

FF - Forma Farmacêutica

GABA - Ácido Gama Aminobutírico

SNC - Sistema Nervoso Central

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

DCB - Denominação Comum Brasileira

DCI - Denominação Comum Internacional

IFA - Active Pharmaceutical Ingredient

**LISTA DE FIGURAS**

	Página
Figura 01: Processos que ocorrem após a administração de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata -----	05
Figura 02: Cesta para agitação do meio de dissolução -----	13
Figura 03: Pás para agitação do meio de dissolução -----	14
Figura 04: Acessórios para cilindros alternantes -----	15
Figura 05: Acessórios para células de fluxo contínuo-----	16
Figura 06: Aparelho dissolutor com pás (aparato nº 2) -----	18
Figura 07: Estrutura química do diazepam -----	25
Figura 08: Estrutura química do flumazenil -----	26
Figura 09: Estrutura química do nordazepam -----	27
Figura 08: Estrutura química do oxazepam -----	27

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 01: Objetivos do ensaio de dissolução e suas variações durante o ciclo de vida do medicamento -----	10
Tabela 02: Numeração dos dispositivos para ensaio de dissolução -----	15
Tabela 03: Critérios de aceitação para o ensaio de dissolução -----	18
Tabela 04: Classificação biofarmacêutica e expectativa da CIVIV-----	24
Tabela 05: Resultado em percentual das dissoluções e suas respectivas média para cada amostra analisada -----	30



**LISTA DE GRÁFICOS**

	Página
Gráfico 1: Resultados da dissolução do medicamento Referência -----	31
Gráfico 2: Resultados da dissolução do medicamento Genérico A, estágio E <sub>1</sub> -----	32
Gráfico 3: Resultados da dissolução do medicamento Genérico A, estágio E <sub>2</sub> -----	32
Gráfico 4: Resultados da dissolução do medicamento Genérico B -----	33
Gráfico 5: Resultados da dissolução do medicamento Genérico C -----	33
Gráfico 6: Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico A estágios E <sub>1</sub> X E <sub>2</sub> -----	34
Gráfico 7: Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico B -----	34
Gráfico 8: Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico C -----	35

## SUMÁRIO

	Página
Folha de Aprovação -----	III
Resumo -----	IV
Abstract-----	V
Lista de Siglas -----	VI
Lista de Figuras -----	VII
Lista de Tabelas -----	VIII
Lista de Gráficos-----	IX
1. INTRODUÇÃO -----	1
2. OBJETIVO -----	3
3. REVISÃO DA LITERATURA -----	4
3.1 Dissolução de formas farmacêuticas sólidas -----	4
3.2 Desintegração x Dissolução -----	5
3.3 FATORES QUE INFLUENCIAM A DISSOLUÇÃO E ABSORÇÃO DE FÁRMACOS -----	6
3.3.1 Fatores relacionados ao fármaco -----	6
3.3.1.1 Polimorfismos e amorfismos -----	6
3.3.1.2 Solubilidade -----	7
3.3.1.3 Higroscopicidade -----	7
3.3.1.4 Tamanho de partículas -----	7
3.3.2 Fatores relacionados à formulação -----	8
3.4 ENSAIO DE DISSOLUÇÃO -----	9
3.4.1 Objetivos dos ensaios de dissolução -----	10
3.4.2 Características do ensaio de dissolução -----	11

	Página
3.4.3 Aparelhagem para ensaios de dissolução-----	11
3.4.3.1 Aparelhagem para Método 1 (cesta)-----	12
3.4.3.2 Aparelhagem para Método 2 (pás)-----	13
3.4.3.3 Aparelhagem para Método 3 (cilindros alternantes) -----	15
3.4.3.4 Aparelhagem para Método 4 (célula de fluxo contínuo) -----	16
3.4.3.5 Aparelhagem para Método 5 (pá rotatória sobre disco) -----	16
3.4.3.6 Aparelhagem para Método 6 (cilindro rotatório) -----	16
3.4.3.7 Aparelhagem para Método 7 (discos alternantes) -----	17
3.4.4 Procedimento para realização do ensaio -----	17
3.4.5 Critérios de aceitação -----	18
3.5 FATORES QUE AFETAM O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO -----	19
3.5.1 Meio de dissolução -----	19
3.5.2 Volume -----	19
3.5.3 Presença de ar / gases -----	20
3.5.4 Temperatura -----	20
3.5.5 pH -----	20
3.5.6 Tensoativo -----	21
3.5.7 Viscosidade -----	21
3.5.8 Evaporação do meio -----	21
3.6 FATORES RELACIONADOS À TECNOLOGIA EMPREGADA-----	21
3.7 BIODISPONIBILIDADE -----	22
3.8 CORRELAÇÃO <i>IN VIVO</i> X <i>IN VITRO</i> -----	23
3.9 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA -----	23
3.10 DIAZEPAM -----	24

	Página
3.10.1 Propriedades físico-químicas -----	24
3.10.2 Propriedades farmacológicas e mecanismo de ação -----	25
3.10.3 Propriedades farmacocinéticas -----	26
3.10.4 Formas farmacêuticas e apresentação -----	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS -----	28
4.1 Equipamentos e acessórios -----	28
4.2 Reagentes -----	28
4.3 Substância química de referência -----	28
4.3.1 Produtos farmacêuticos (analito) -----	28
4.4 Análise quantitativa e Controle da qualidade -----	29
4.5 Parâmetros de dissolução -----	29
4.5.1 Solução padrão -----	29
4.5.2 Solução amostra -----	30
4.5.3 Procedimento -----	30
4.5.4 Critérios de avaliação -----	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	31
6. CONCLUSÃO -----	37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	39

## 1. INTRODUÇÃO

Fatores econômicos levam a grande maioria da população à utilização de genéricos e similares como alternativa ao medicamento de referência (MALESUIK *et al.*,2006).

A política de medicamentos genéricos se tornou uma realidade no Brasil a partir da implantação e regulamentação da Lei 9.787 de 10 de fevereiro de 1999 (BRASIL, 1999). Considerou-se como sendo um medicamento genérico, aquele que possui as mesmas concentrações e formas farmacêuticas que as apresentadas por um produto de referência ou inovador, podendo com este ser intercambiável. Estes devem ser designados por seu nome de DCB (Denominação Comum Brasileira) ou na sua ausência, pela DCI (Denominação Comum Internacional). A renúncia ou expiração da proteção patentária do inovador ou referência deve ser observada para sua transformação em genérico (BRASIL, 1999).

O controle e a garantia de que a confiabilidade e segurança do medicamento genérico são equivalentes ao medicamento de referência é exercida pelo Ministério da Saúde, ao exigir das indústrias farmacêuticas a apresentação de provas de realização de ensaios de equivalência e bioequivalência farmacêuticas com aquele inovador, assegurando a população o acesso a um medicamento mais barato com a mesma eficácia e segurança que o medicamento referência (BRASIL, 2000).

As formas farmacêuticas (FF) sólidas (comprimidos, cápsulas e granulados) administradas por via oral são rotineiramente prescritas na prática médica (MALESUIK *et al.*,2006). Isto se deve, principalmente, às facilidades que estas proporcionam inicialmente ao fabricante, nos processos de manipulação, identificação, armazenagem, transporte e, posteriormente ao paciente, facilitando a portabilidade, dosagem precisa por unidade de tomada, administração, apresentação e menor sensação de gosto do que preparações líquidas. Do ponto de vista farmacêutico, as formas sólidas apresentam maior estabilidade que suas contrapartidas líquidas, sendo outro motivo que as tornam preferidas para os fármacos pouco estáveis (BRANDÃO, 2006).

Muitas operações aplicadas em processos para fabricação de medicamentos podem contribuir para a diminuição de seu desempenho biológico, em formulações sólidas orais, especialmente em comprimidos. Neste tipo de formulação, a força de compressão aplicada durante a formação dos comprimidos, pode influenciar no seu tempo de desintegração. Efeito semelhante, que desta vez independe da força de compressão, pode ocorrer pelo exagerado tempo de mistura do produto durante a fase de incorporação do aglutinante. Em função dessas variações, pode-se constatar alterações no tempo de desintegração e de dissolução de comprimidos (VIÇOSA, 2003).

A dissolução pode ser definida como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua FF e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo. A taxa de dissolução pode ser o fator de limitação de sua absorção, principalmente se tiver baixa solubilidade em água (MARCOLONGO, 2003; WILKINSON, 2005).

O teste de dissolução possibilita avaliar a quantidade de fármaco dissolvido, a partir de uma FF sólida, num meio específico e em tempo determinado, fato relevante para prever o desempenho *in vivo* (BRASIL, 2002). Ele determina a porcentagem da quantidade de princípio ativo, declarado no rótulo do produto, liberado no meio de dissolução em função do tempo, quando o mesmo é submetido a condições experimentais, visando demonstrar se o produto atende às exigências constantes da monografia do medicamento em questão (BRASIL, 2010a).

O diazepam é um medicamento que pertence a uma das classes de fármacos mais prescritas e utilizadas em todo o mundo, a dos benzodiazepínicos. É usado como ansiolítico, anticonvulsivante, relaxante muscular e hipnótico. Apesar de sua baixa solubilidade em água, suas características físico-químicas lhe garante uma boa absorção quando administrados por via oral (OGA *et al.*, 2008).

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo realizar revisão bibliográfica sobre os fundamentos teóricos e aplicações do teste de dissolução na indústria farmacêutica, expor os fatores que influenciam neste processo, assim como, avaliar se algumas apresentações genéricas do medicamento diazepam, disponíveis para o uso da população, obedecem às especificações farmacopéicas em relação ao teste de dissolução, através da realização de ensaios de dissolução das apresentações obtidas.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar revisão bibliográfica visando reunir dados de forma clara e concisa sobre os fundamentos teóricos e as aplicações do ensaio de dissolução de fármacos a partir da FF sólida comprimido;
- ✓ Expor os fatores que influenciam na dissolução, assim como na biodisponibilidade de fármacos *in vivo*;
- ✓ Expor fatores que influenciam na realização e obtenção de resultados confiáveis no ensaio *in vitro*;
- ✓ Realizar ensaios de dissolução utilizando apresentações genéricas de comprimidos contendo o princípio ativo diazepam.

### 3. REVISÃO LITERÁRIA

#### 3.1-Dissolução de formas farmacêuticas sólidas

Para que um fármaco possa exercer sua atividade ele depende, dentre outros fatores, da concentração que atingirá no fluido biológico que banha o tecido e seu receptor alvo. Esta concentração depende da dose administrada, da quantidade absorvida, da distribuição no local, da velocidade e quantidade eliminada do corpo. Ela é determinada inicialmente pela desintegração, dissolução e solubilização do ativo veiculado em uma forma farmacêutica qualquer, e posteriormente, pelo seu transporte pelos líquidos corporais através das barreiras das membranas biológicas, fuga à distribuição generalizada para áreas indesejáveis, resistência ao ataque metabólico, penetração em concentração adequada nos locais de ação e interação de modo específico, provocando uma alteração da função celular (ANSEL *et al.*, 2000).

As FF sólidas de uso oral são as que apresentam maiores problemas quando se trata de biodisponibilidade, pois, são oriundas de processos que envolvem etapas diversificadas de produção e geralmente apresentam formulações complexas. Estes fatores muitas vezes afetam a velocidade de dissolução do fármaco prejudicando diretamente sua biodisponibilidade (PEREIRA *et al.*, 2005).

A dissolução pode ser definida como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua FF e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo, logo, para que um fármaco possa atuar quando administrado por via oral, ele terá antes que se dissolver nos sucos gastrintestinais; sendo assim, após a administração por via oral de uma FF sólida ocorre o processo de desintegração, onde o fármaco é liberado da sua FF e passa a se apresentar em partículas menores, seguido por uma etapa de desagregação, onde ocorre a redução das partículas e, por fim, a dissolução, que é a solubilização do fármaco no meio (figura 1). A taxa de dissolução pode ser o fator de limitação de sua absorção, principalmente se tiver baixa solubilidade em água. O ensaio de dissolução *in vitro* mede a velocidade e a extensão de liberação do ativo no meio avaliado (MARCOLONGO, 2003; ROSA, 2005).



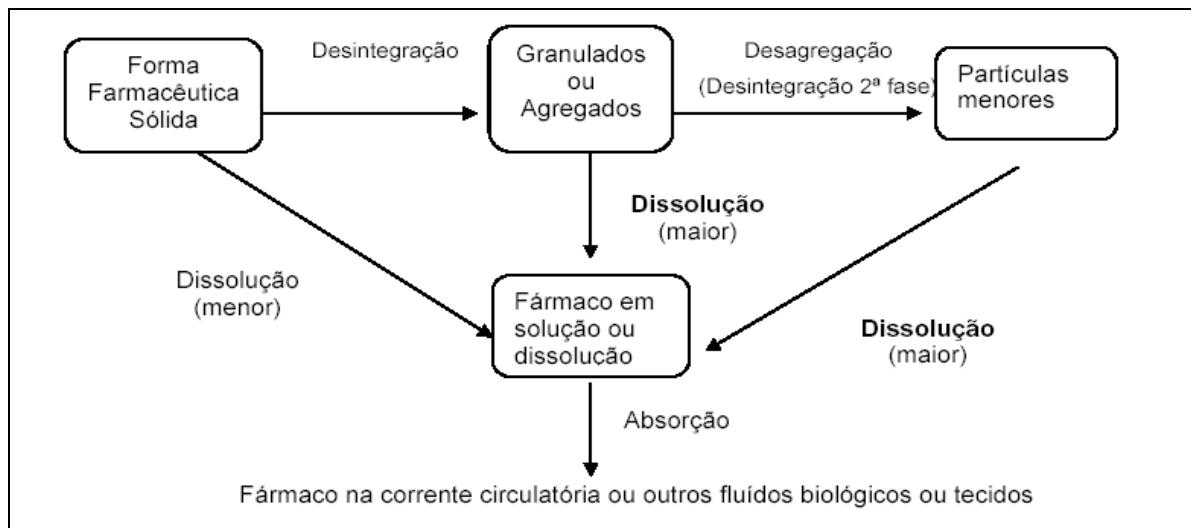


Figura 1-Processos que ocorrem após a administração de FF sólidas de liberação imediata (BAPTISTA, 2005).

Um comprimido pode ser fragmentado rapidamente em partículas menores, porém, estas partículas liberadas podem por sua vez não liberar o fármaco totalmente ou na velocidade adequada para que este fique disponível e exerça seu efeito, assim, o teste de dissolução se mostra mais importante na indicação da efetividade clínica da formulação que o teste de desintegração (MARCOLONGO, 2003).

### 3.2 - Desintegração x dissolução

Desintegração: teste *in vitro* cuja finalidade é determinar se um comprimido ou cápsula se desintegra dentro do limite de tempo determinado em monografia específica do produto medicamentoso. Este ensaio fornece uma medida do tempo necessário sob um determinado conjunto de condições para que um grupo de comprimidos ou cápsulas se desintegrem em partículas (GENNARO, 2004). O teste desintegração para este fim a que se aplica é definido como o estado no qual nenhum resíduo das unidades testadas (cápsulas ou comprimidos) permanece na tela metálica do aparelho de desintegração, exclui-se as seguintes exceções: fragmentos insolúveis de revestimentos de comprimidos ou invólucros de cápsulas obedecendo ao tempo determinado pela monografia de cada produto. São consideradas também, como desintegradas as unidades que no decorrer do teste se transformam em massa pastosa, porém, não devem apresentar núcleo palpável (BRASIL, 2010b).

Dissolução: O teste de dissolução é utilizado para medir o tempo necessário para que uma determinada porcentagem da substância medicamentosa de um FF fique contida numa solução, sob um conjunto determinado de condições, é um teste *in vitro* (PRISTA, 2002). Ele pretende determinar a velocidade de dissolução desta substância ativa, sendo considerado um fator de grande importância por orientar melhor sobre a biodisponibilidade de um medicamento do que o conhecimento da velocidade de desintegração, uma vez que a desintegração, é um mau indicador de biodisponibilidade, e mais, vários fatores, tais como solubilidade, tamanho da partícula e estrutura cristalina, dentre outros afetam a dissolução da substância química, mas não tem relevância frente à desintegração (GENNARO, 2004).

### **3.3 - Fatores que influenciam a dissolução e absorção de fármacos**

#### **3.3.1 - Fatores relacionados ao fármaco**

Vários fatores influenciam a dissolução de ativos, tais como as propriedades físico-químicas do fármaco como solubilidade, forma cristalina, tamanho de partícula, estrutura molecular, grau de ionização, as características de difusão no meio de dissolução e higroscopicidade (FONSECA, 2007).

##### **3.3.1.1 - Polimorfismo e Amorfismo**

A eficácia terapêutica de cada insumo farmacêutico ativo (IFA) está diretamente ligada as suas características no estado sólido, um IFA pode apresentar inúmeras formas no estado sólido e cada forma apresentada pode exibir diferentes propriedades físico-químicas, dentre essas formas destacam-se os polimorfos, que são IFAs com mesma fórmula química, porém, existem em mais de uma forma cristalina, já os IFAs caracterizados como amorfos possuem suas estruturas cristalinas desordenadas no espaço tridimensional. Características como estrutura cristalina (arranjo tridimensional interno das moléculas que compõem um cristal), o seu hábito cristalino (morfologia externa) e o tamanho das partículas devem ser observados durante o processo de desenvolvimento e fabricação de um fármaco, pois, estão diretamente ligadas a propriedades como solubilidade e biodisponibilidade do fármaco (PAULA, 2012).

Diferentes cristais de uma mesma substância tem, em regra, pontos de fusão, coeficientes de solubilidade, densidades e características de compressão diferentes, em consequência da diversa solubilidade que estes apresentam, a velocidade de absorção será influenciada, o que justifica o fato de um mesmo fármaco ser mais ou menos ativo. Substâncias amorfas são mais solúveis do que a respectiva forma cristalina e possuem maior velocidade de dissolução (PRISTA, 2002).

### **3.3.1.2 - Solubilidade**

A solubilidade aquosa de um fármaco é o fator determinante para a taxa de dissolução. Para que um fármaco acesse a circulação sistêmica e exerça efeito terapêutico é preciso que esteja em forma de solução e, a solubilidade, é um parâmetro termodinâmico que pode ser influenciada pelos valores fisiológicos de pH, por exemplo, um fármaco ácido será mais solúvel no intestino, onde o pH é mais elevado, esta relação, solubilidade-pH, pode ser explicada pelo grau de ionização da molécula, que é dependente do pH da solução. (BAPTISTA, 2005).

Sendo as membranas celulares de característica lipídica, essas serão mais permeáveis àquelas substâncias com características lipossolúveis, que nesse caso, são as formas não-ionizadas, além disso, a natureza carregada da membrana celular, pode resultar na repulsão ou atração do fármaco ionizado. Baseando-se na solubilidade e pKa de um fármaco, é possível estimar sua dissolução no trato gastrintestinal e futuros problemas com a biodisponibilidade (BAPTISTA, 2005).

### **3.3.1.3 - Higroscopicidade**

Fármacos em sua forma anidra possuem maior atividade termodinâmica em comparação com seus hidratos correspondentes e, em consequência, possuem maior solubilidade e velocidade de dissolução em relação às formas hidratadas (SILVA, 2007).

### **3.3.1.4 - Tamanho de partículas**

Quando as partículas de um fármaco são submetidas a um processo de redução, conseqüentemente, tem-se uma aceleração na sua velocidade de dissolução; a

explicação está no aumento da área superficial em contato com o solvente. Uma das formas de se observar esse efeito, é aplicando o processo de micronização. Para fármacos pouco solúveis, essa técnica é muito utilizada para alcançar uma biodisponibilidade idealizada (BAPTISTA, 2005).

No caso de fármacos altamente solúveis, o tamanho das partículas não se torna tão importante pois, estes já possuem boa capacidade de solubilização. Outras vezes, a redução deste tamanho pode gerar a potencialização dos efeitos deste fármaco, possibilitando o alcance de níveis tóxicos (BAPTISTA, 2005).

Visto que a granulometria influencia diretamente no processo de dissolução dos fármacos, é de grande importância a qualificação dos fornecedores da matéria-prima, uma vez que existe uma variabilidade no tamanho das partículas dependendo do fabricante, fato que pode influenciar em diferentes graus de resposta terapêutica num mesmo indivíduo (BAPTISTA, 2005).

### **3.3.2 - Fatores relacionados à formulação**

Os excipientes são classificados como constituintes da formulação diferente do ativo (VIÇOSA, 2003); são substâncias adicionadas ao processo de fabricação com a finalidade de promover proteção e favorecer a biodisponibilidade do fármaco, atribuindo segurança e eficácia ao produto durante o período de estocagem e uso (SILVA, 2007). A taxa de dissolução de um fármaco pode ser alterada significativamente quando este é misturado com vários aditivos durante o processo de fabricação de FF sólidas (GENNARO, 2004).

Um excipiente influencia diretamente em uma formulação farmacêutica, especialmente naquelas genéricas, sendo determinante para sua efetividade farmacológica. E considerando-se essa possibilidade, estes não mais são considerados como substâncias inertes, mas sim como substâncias desprovidas de atividade farmacológica (VIÇOSA, 2003).

As reações dos excipientes com o ativo podem resultar tanto em uma forma mais solúvel quanto em uma menos solúvel. Para fármacos com baixa solubilidade, a adição de um agente desintegrante à formulação pode acelerar a desintegração da forma farmacêutica resultando em liberação das partículas (BAPTISTA, 2005). Esses aditivos satisfazem determinadas funções farmacêuticas tais como diluição, corantes,

aglomeração, desintegrantes e lubrificantes, e foi demonstrado que produtos, geralmente idênticos, nas FF de comprimido e cápsula, fabricados por diferentes indústrias farmacêuticas, mostram diferenças importantes nas taxas de dissolução de seus ingredientes ativos. Uma das possíveis causas para estas diferenças pode ser explicada pela má formulação de comprimidos e cápsulas causando uma acentuada diminuição da biodisponibilidade e alteração na resposta clínica, tais problemas foram importantes para que agências reguladoras de medicamentos e autoridades científicas instituísem o teste de dissolução como uma exigência para a maioria das FF sólidas (GENNARO, 2004).

### **3.4 - Ensaio de dissolução**

O estudo de dissolução constitui um dos instrumentos essenciais para avaliação das propriedades biofarmacêuticas das FF sólidas de uso oral, fornecendo informações úteis durante o ciclo de vida do medicamento conforme Tabela 1, tanto para a pesquisa e desenvolvimento quanto para a produção e controle da qualidade (MANADAS *et al*; 2002). Durante a fase de produção e controle da qualidade permite-se detectar desvios de fabricação, uniformidade do produto e reprodutibilidade lote a lote (MARQUES, 2002).

O teste de dissolução avalia a quantidade de fármaco dissolvido, em um determinado volume de meio, mantido à temperatura de  $37^{\circ} \text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , após determinado período de tempo, utilizando-se equipamento com dispositivo para promover agitação do meio de forma constante e suave, a uma dada velocidade de agitação, sendo que qualquer forma de vibração inclusive fontes externas devem ser eliminadas para não causar interferência na hidrodinâmica do sistema (BRASIL, 2010a; USP 35, 2012a). Para formulações de liberação imediata a porcentagem dissolvida de fármaco é determinada, normalmente, após um único tempo de coleta. A avaliação da porcentagem dissolvida em vários tempos de coleta (perfil de dissolução) é, no entanto, mais conclusiva em relação à coleta em um único ponto (MARCOLONGO, 2003).

Atualmente, os estudos de dissolução estão sendo utilizados para demonstrar a equivalência farmacêutica de medicamentos genéricos e similares para fins de registro, bem como, para isentar os estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência para algumas dosagens do mesmo produto. Conforme

legislação específica (BRASIL, 2004) essa isenção pode ser obtida se existir estudo de bioequivalência realizado com produto de referência para uma das dosagens (geralmente a mais alta) e se houver comprovação de que todas as dosagens do produto apresentam perfis semelhantes (STORPIRTIS *et al.*,2004).

Tabela 1- Objetivos do ensaio de dissolução e suas variações durante o ciclo de vida do medicamento.

Fases	Objetivo do ensaio de dissolução
0 e I	Desenvolvimento de um método que claramente estabeleça os mecanismos de liberação <i>in vitro</i> e de solubilização do ativo.
II e III	Identificar um ensaio que possa prover potencial correlação <i>in vivo-in vitro</i> ou outra informação biorrelevante.
Durante e após o registro	Assegurar a consistência lote a lote do produto e do processo de fabricação e avaliar a estabilidade do mesmo durante o prazo de validade.
Mudanças pós-registro	Prever como uma nova formulação agirá <i>in vivo</i> . Submissão às autoridades sanitárias (uso da dissolução para dispensa de estudos <i>in vivo</i> ).

Fonte: ROSA, 2005.

### 3.4.1 – Objetivos dos ensaios dissolução

Na indústria farmacêutica, o teste de dissolução torna-se cada vez mais importante no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas e semi-sólidas, pois, permite prever o comportamento de liberação do princípio ativo, e também é uma ferramenta muito útil no controle de qualidade de produtos, pois, testes como identificação, pureza, teor e estabilidade são insuficientes para assegurar a eficácia clínica do medicamento, dentre outras aplicações (FONSECA, 2007).

Com o crescimento do mercado de medicamentos genéricos, o teste de dissolução ganhou destaque, permitindo estabelecer comparações entre duas ou mais amostras de medicamentos, pois, segundo a legislação brasileira, todo medicamento genérico deve ser o equivalente farmacêutico ao seu respectivo medicamento de referência, ou seja, deve conter o mesmo fármaco, na mesma dosagem e forma farmacêutica, além de possuir uma comparável biodisponibilidade (PEREIRA *et al.*,2005).

### 3.4.2 - Características do ensaio de dissolução

A dissolução de fármacos pode ser definida por 2 etapas: liberação do fármaco, a partir da sua forma farmacêutica, e o transporte do mesmo para o seio do meio de dissolução; para o desenvolvimento de uma metodologia de dissolução deve-se atentar para alguns parâmetros como a característica e volume do meio de dissolução, pH, velocidade de agitação e utilização de equipamento específico, e tanto o método, quanto o aparelho utilizados devem ser validados para se obter uma quantificação confiável (ROSA, 2005). A grande atenção dispensada à cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas deve-se, principalmente, à relação deste fenômeno com a biodisponibilidade de fármacos no organismo, principalmente para aqueles pertencentes à classe II (vide tabela 4) do sistema de classificação biofarmacêutica, ou seja, os que possuem baixa solubilidade em água e alta permeabilidade, de modo que a absorção é limitada pela velocidade de dissolução (FONSECA, 2007).

### 3.4.3 - Aparelhagem para ensaios de dissolução

O dissolutor, aparelho utilizado para realização do ensaio de dissolução, é composto por um sistema contendo as seguintes partes:

1 - Oito recipientes de forma cilíndrica e com fundo hemisférico, sendo a parte superior achatada, e todo ele composto de vidro, plástico ou qualquer outro material transparente e inerte, que não seja capaz de reagir, adsorver ou interferir com o medicamento a ser analisado. Sua capacidade máxima pode variar sendo de um, dois ou quatro litros suas dimensões vão variar junto com a capacidade sendo:  $185 \pm 25$  mm de altura e  $102 \pm 4$  mm de diâmetro interno para uma capacidade nominal de um litro;  $290 \pm 10$  mm de altura e  $102 \pm 4$  mm de diâmetro interno para uma capacidade nominal de dois litros;  $290 \pm 10$  mm de altura e  $150 \pm 5$  mm de diâmetro interno para uma capacidade nominal de quatro litros. Pode ser utilizada tampa de material transparente com furos um centrais para permitir a colocação de agitadores e um outro para permitir a retirada de amostras e inserção do termômetro (BRASIL, 2010a).

2 - Uma haste metálica composta de aço inoxidável para agitar o meio de dissolução, podendo ter dois tipos de agitadores em seus extremos: pás ou cestas (Fig. 2 e 3). A haste deve ficar centralizada em relação ao fundo do recipiente onde o meio de

dissolução está contido, e, ao girar suavemente, seu eixo não deve ser desviado mais que 2 mm em relação ao eixo vertical do recipiente (BRASIL, 2010a).

3 - Um dispositivo com selecionador de velocidade que conduza a haste à velocidade de rotação especificada na monografia do produto e capaz de manter essa velocidade dentro dos limites de  $\pm 4\%$  (BRASIL, 2010a).

Os recipientes ficam submersos em banho de material transparente e com tamanho adequado, este banho deve possuir dispositivo capaz de manter uma temperatura homogênea de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante o período do ensaio. Deve-se ter cuidado especial para eliminar qualquer vibração, agitação ou movimento externo que altere de forma significativa a dinâmica do sistema. A montagem da aparelhagem, de preferência, deve ser feita de forma que permita a visualização das amostras testadas e dos agitadores durante o teste (BRASIL, 2010a).

#### **3.4.3.1 – Aparelhagem para Método 1 (Cesta)**

Utiliza-se como agitador uma haste de aço inoxidável, quando especificado em monografia, que possui em sua extremidade uma cesta de mesmo material, conforme especificações na Figura 2. A tela usada na confecção da cesta deve ter abertura de 0,25 mm, e malha de  $0,40 \pm 0,04$  mm a menos que outra especificação seja solicitada na monografia. A amostra deve ser inserida dentro da cesta seca, antes do início do teste. Durante o teste deve ser mantida distância de  $25 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$  entre a parte inferior da cesta e o fundo interno da cuba (BRASIL, 2010a).



A aparelhagem mais utilizada em indústria farmacêutica para dissolução de comprimidos e cápsulas são as contidas nos Métodos 1 e 2 (Fig. 2 e 3, respectivamente).

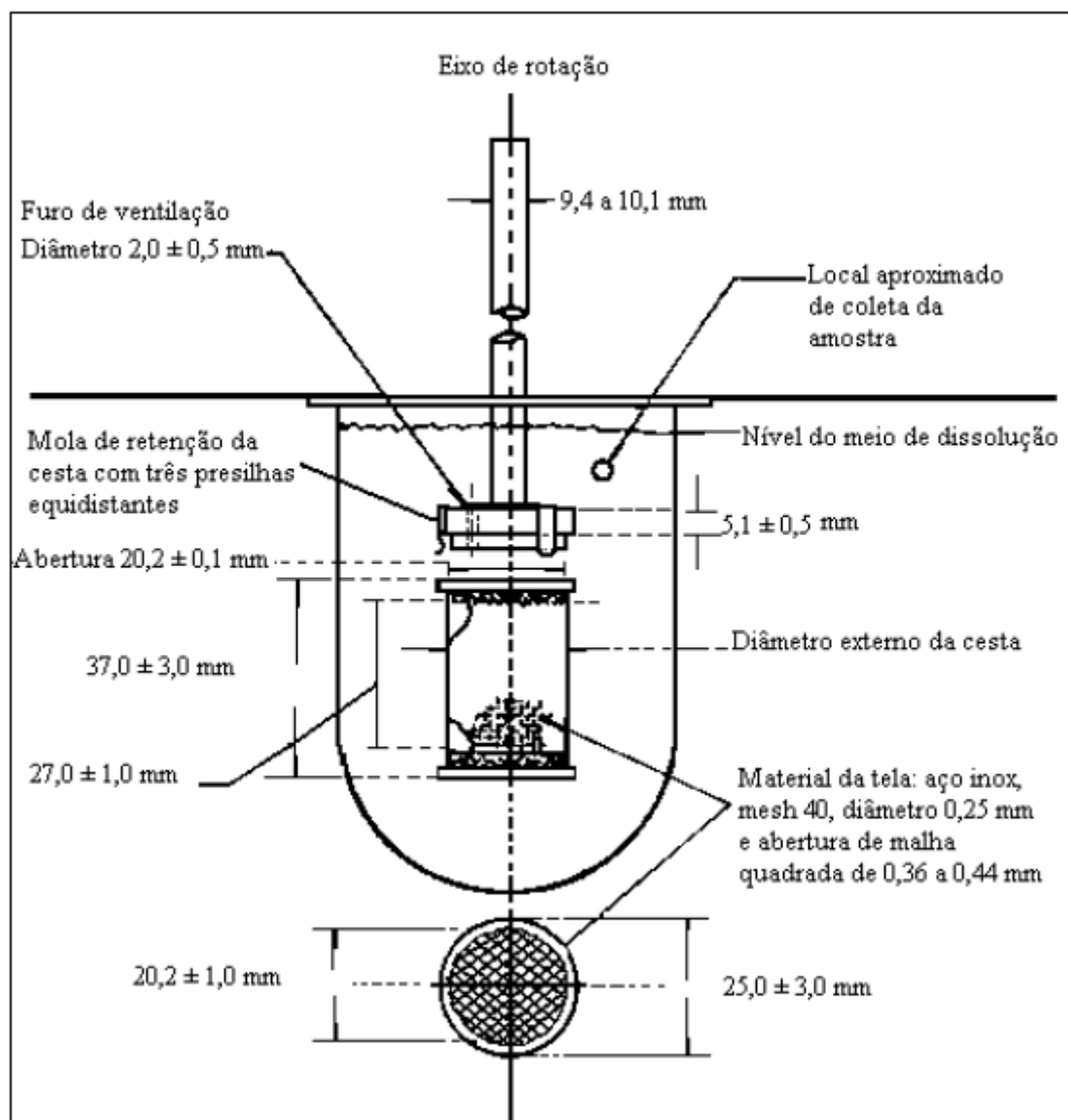


Figura 2 – Cesta para agitação do meio de dissolução (BRASIL, 2010a).

### 3.4.3.2 - Aparelhagem para Método 2 (Pás)

Este dispositivo é utilizado quando especificado na monografia, utiliza-se um agitador de haste de aço inoxidável, em sua extremidade contem uma pá, a haste e a pá compõem um conjunto único, podendo ser revestido de material inerte. As pás devem obedecer às especificações da figura 3. Durante o ensaio, deve-se manter distância de  $25$  mm  $\pm$   $2$  mm entre o extremo inferior da pá e o fundo interno do recipiente que contém o meio de dissolução. Após adição da amostra ao meio de

dissolução, inicia-se a agitação (tempo zero) com velocidade pré-fixada e durante o tempo especificado na monografia correspondente. É importante que as amostras se depositem no centro do fundo do recipiente que contém o meio de dissolução. Caso a amostra em análise flutue, pode-se envolvê-la com um pequeno pedaço de arame em espiral, de material inerte, com poucas voltas, tendo o cuidado para que a mesma fique folgada e que não sofra dano durante a operação (BRASIL, 2010a).

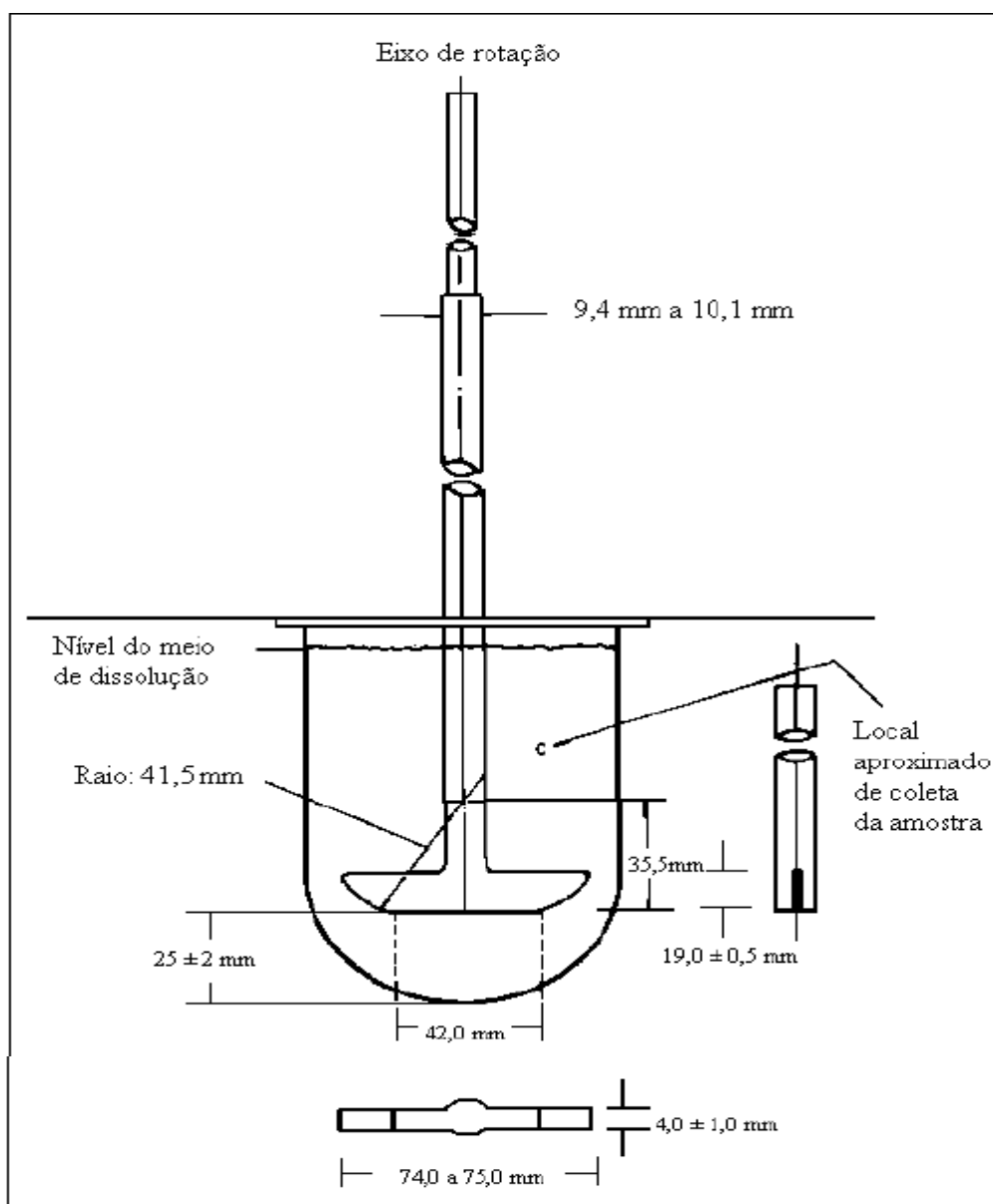


Figura 3 – Pás para agitação do meio de dissolução (BRASIL, 2010a).

Outros dispositivos são utilizados para a realização do ensaio, conforme tabela 2:

Tabela 2 - Numeração dos dispositivos para ensaio de dissolução.

<i>Numeração (Apparatus)</i>	<i>Sinonímia</i>
1	Cesta rotatória
2	Pá rotatória
3	Cilindros alternantes
4	Célula de fluxo
5	Pá rotatória sobre disco
6	Cilindro rotatório
7	Disco alternante

Fonte; USP 35, 2012a.

**3.4.3.3 – Aparelhagem para Método 3 (cilindros alternantes):** é particularmente empregado para formas de liberação lenta e estudos de perfil de dissolução dependentes da variação de pH, vide figura 4 (ROSA, 2005).

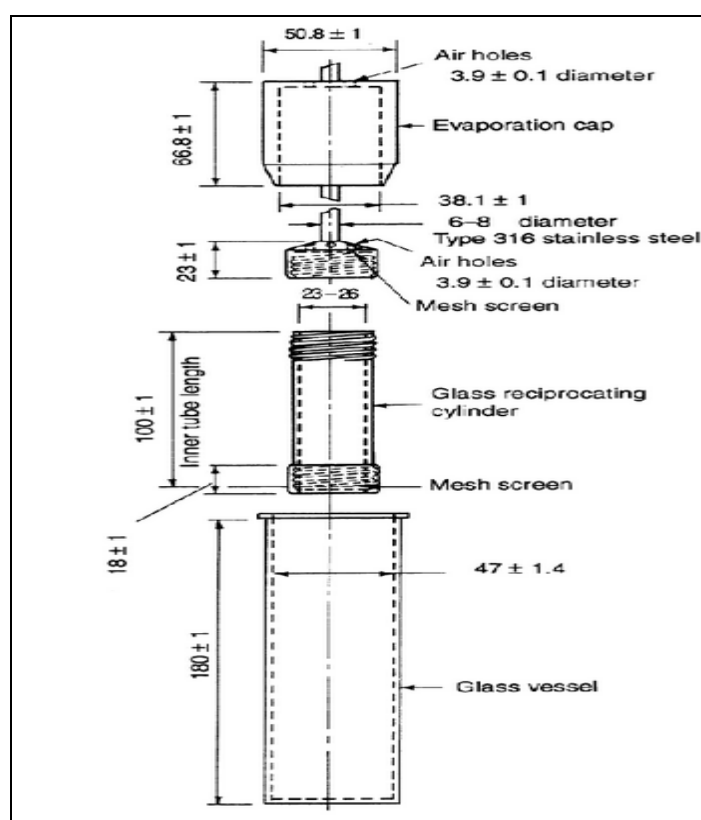


Figura 4 – Acessórios para cilindros alternantes (USP 35, 2012a).

**3.4.3.4 - Aparelhagem para Método 4 (célula de fluxo contínuo):** é mais utilizado para fármacos pouco solúveis em água que requerem grande quantidade de meio de dissolução, assim como para fármacos com rápida degradação e quando há necessidade de alteração do pH do meio, vide figura 5 (ROSA, 2005).

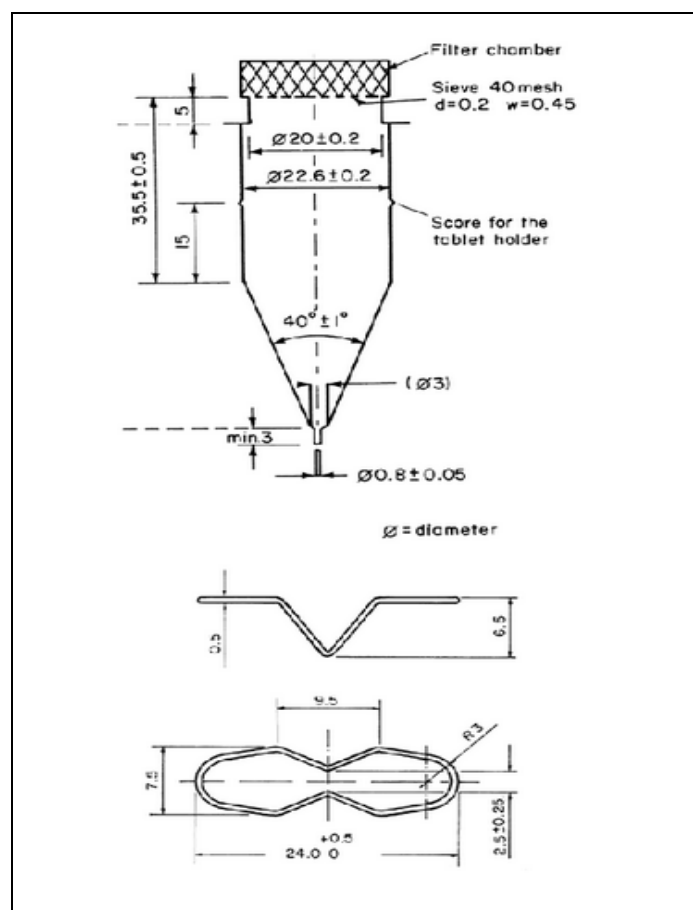


Figura 5 – Acessórios para célula de fluxo contínuo (USP 35, 2012a).

**3.4.3.5 - Aparelhagem para Método nº5 (pá rotatória sobre disco):** este dispositivo pode ser utilizado em ensaios de dissolução de adesivos transdérmicos, pomadas, emulsões e formas farmacêuticas que flutuam, como alguns comprimidos e cápsulas (ROSA, 2005).

**3.4.3.6 - Aparelhagem para Método nº6 (cilindro rotatório):** dispositivo utilizado na análise da dissolução de adesivos transdérmicos (ROSA, 2005).

**3.4.3.7 - Aparelhagem para Método nº7 (disco alternante):** também pode ser usado na dissolução dos últimos, além de formas sólidas, estudos de pH e quando se requer pequeno volume de meio (ROSA, 2005).

#### **3.4.4 - Procedimento para realização do ensaio**

O aparelho deve ser montado e calibrado conforme a especificação do fabricante, a fim de reduzir os fatores que possibilitem a alteração significativa da dinâmica do sistema (excentricidade, vibração etc). O volume medido do meio de dissolução deve ser adicionado ao recipiente da aparelhagem de dissolução conforme especificado na monografia (o meio deve ser anteriormente desaerado). A temperatura do meio deve ser mantida a  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Quando as pás forem utilizadas como dispositivo de agitação, a amostra (comprimido ou cápsula) deve ser colocada no recipiente de dissolução. Caso se use a cesta, deve-se colocar a amostra dentro da mesma. Em ambos os casos, deve-se retirar quando presentes, as bolhas de ar formadas na superfície das amostras, ao entrarem em contato com o meio de dissolução. O resultado deve ser avaliado, verificando se a presença de bolhas causou impacto sobre o mesmo. Dar início à agitação, conforme velocidade pré-fixada, as amostras para análise devem ser retiradas em intervalos de tempo especificado na monografia do produto, estas devem ser retiradas da zona intermediária, entre a superfície do meio de dissolução e a parte superior do cesto ou pás. A menos que especificado na monografia do produto, o volume da amostra retirado deve ser repostado com líquido de dissolução. Ao final de cada tempo especificado, alíquotas do meio de dissolução devem ser colocadas no local correto de coleta de amostra. Após filtração e diluição (caso necessário) da alíquota, a análise do medicamento é realizada mediante a técnica de detecção indicada na monografia do produto. O teste deve ser repetido com doses unitárias adicionais, se necessário, considerando os critérios de aceitação (BRASIL, 2010a).

A figura 6 mostra um exemplo de dissolutor utilizado para realização de ensaios de dissolução de comprimidos e cápsulas, onde existem oito cubas cilíndricas de fundo arredondado de vidro e seis hastes metálicas centralizadas que promovem a agitação do meio com o auxílio do aparato número 2 (pás), dispositivos que permitem selecionar a velocidade de rotação e tempo de análise (BRASIL, 2010a).



Figura 6 – Aparelho dissolutor com pás (aparato nº 2) (SILVA, 2007).

### 3.4.5 - Critérios de aceitação

A menos que a monografia do produto especifique de outra maneira, a amostra será satisfatória quando os resultados preencherem às seguintes exigências:

Tabela 3: critérios de aceitação para o ensaio de dissolução.

Estágio	Nº. de amostras testadas	Critérios de Aceitação
E <sub>1</sub>	06	Cada unidade apresenta resultados maiores ou iguais a Q+5%.
E <sub>2</sub>	06	Média de 12 unidades (E <sub>1</sub> +E <sub>2</sub> ) é igual ou maior do que Q e nenhuma unidade apresenta resultados inferiores a Q -15%
E <sub>3</sub>	12	Média de 24 unidades (E <sub>1</sub> +E <sub>2</sub> +E <sub>3</sub> ) é igual ou maior do que Q e não mais que 2 unidades apresentam resultados inferiores a Q- 15% e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a Q - 25%.

Fonte: BRASIL, 2010a

O termo Q refere-se ao teor real das unidades do produto determinado para cada amostra, expressa em porcentagem da quantidade declarada (BRASIL, 2010a).

No estágio 1 ( $E_1$ ), são testadas seis unidades farmacológicas, se cada unidade individualmente apresentar resultado igual ou maior do que  $Q + 5\%$ , o produto será aprovado, não sendo necessário efetuar o segundo teste (BRASIL, 2010a).

Caso o critério para o primeiro estágio não seja alcançado, repete-se o teste com mais seis comprimidos ( $E_2$ ). Se a média das doze unidades testadas ( $E_1 + E_2$ ) for maior ou igual a Q e se nenhuma das unidades testadas apresentarem resultados menores a  $Q - 15\%$ , o resultado do teste é considerado satisfatório (BRASIL, 2010a).

Se o critério para o segundo estágio ainda não for satisfatório, deve-se testar mais 12 unidades. Se a média das 24 unidades testadas ( $E_1 + E_2 + E_3$ ) for maior ou igual a Q e se no máximo duas unidades apresentarem resultados inferiores a  $Q - 15\%$ , e nenhuma unidade apresentar resultado inferior a  $Q - 25\%$  o produto é aprovado. Caso a amostra ainda não satisfaça a este terceiro critério, o produto deve ser reprovado (BRASIL, 2010a)

### **3.5 - Fatores que afetam o ensaio de dissolução**

#### **3.5.1 - Meio de dissolução**

A escolha de um meio apropriado para o ensaio de dissolução dependerá não só da solubilidade do fármaco, outros fatores devem ser considerados tais como os econômicos e a praticidade para aplicação do mesmo (GENNARO, 2004).

#### **3.5.2 - Volume**

O volume do meio de dissolução a ser utilizado dependerá, em grande parte, da solubilidade do fármaco no meio selecionado para o ensaio; logo, quando a solubilidade é baixa e a concentração do fármaco na forma farmacêutica é alta, se torna necessário o uso de maiores volumes de meio, de modo que não se alcance da concentração de saturação (VIÇOSA, 2003).

### 3.5.3 - Presença de ar/gases

A presença de gases ou ar dissolvidos no meio de dissolução gera uma influência física no ensaio, visto que as bolhas existentes no meio podem aderir às formas farmacêuticas antes da desintegração alterando o fluxo normal do meio, provocando mudanças no movimento de partículas diminuindo conseqüentemente a área superficial exposta para contato com o solvente. Existem diversas maneiras de eliminar estes interferentes do meio de dissolução, uma delas é a utilização de filtração a vácuo, borbulhamento de gás hélio e aquecimento da água sob vácuo com ou sem ultra-som (MARCOLONGO, 2003).

### 3.5.4 - Temperatura

O controle da temperatura durante o ensaio de dissolução é importante, uma vez que a solubilidade de fármacos depende deste parâmetro, e seu controle deve ser cuidadoso durante o ensaio, geralmente uma temperatura de 37 °C deve ser mantida durante as determinações de dissolução, com variações de 0,5°C (GENNARO, 2004).

### 3.5.5 - pH

No trato gastrointestinal o pH varia entre 1,0 a 8,0, assim sendo, no momento de se escolher o pH do meio de dissolução deve-se levar em consideração o tipo de liberação do fármaco da forma farmacêutica (imediate ou não) e o sítio de absorção do mesmo, uma vez que nem sempre o pH que favorece a absorção é o mesmo em que a dissolução do fármaco ocorre (MARCOLONGO, 2003) Sugere-se então a utilização de um meio onde o pH esteja numa faixa fisiologicamente relevante, ou seja, entre 1,2 e 6,8, contudo em alguns casos, como ácidos fracos de baixa solubilidade, é necessário a utilização de meios com pH superior a 6,8, porém é preciso que se tenha cautela, pois determinadas condições podem acelerar a velocidade de dissolução superestimando o percentual dissolvido (SILVA, 2007).

Grande parte dos estudos iniciais foi conduzido em HCl 0,1N ou soluções tamponadas com pH próximo ao do suco gástrico (pH~1,2). A solução ácida tende a desintegrar os comprimidos levemente mais rápido do que a água e, desse modo, pode melhorar a taxa de dissolução ao aumentar a área efetiva de superfície (GENNARO, 2004).



### **3.5.6 - Tensoativo**

São adicionados aos meios de dissolução com finalidade de melhorar a solubilização de fármacos pouco solúveis. Eles diminuem a tensão superficial entre o sólido e o meio de dissolução favorecendo o processo. O laurilsulfato de sódio e o polissorbatos 80 são tensoativos utilizados com maior frequência para este fim. Baixos níveis dos mesmos são indicados para serem incluídos no meio de dissolução, de maneira a fornecer uma melhor correlação entre as condições *in vivo* e os dados *in vitro* (SILVA, 2007).

### **3.5.7 - Viscosidade**

Quanto maior a viscosidade do meio, mais lenta será a dissolução, uma vez que o fluxo das moléculas estará dificultado pela viscosidade do meio (GENNARO, 2004).

### **3.5.8 - Evaporação do meio**

Pode ser minimizada levando o meio a um aquecimento a temperatura de 37°C antes de introduzi-lo na cuba de dissolução (MARCOLONGO, 2003).

## **3.6 - Fatores relacionados à tecnologia empregada**

A tecnologia aplicada no processo de fabricação de um medicamento tem impacto importante na dissolução, de modo geral, processos de granulação úmida favorecem a dissolução de fármacos pouco solúveis, pelo fato de dar a estas características mais hidrofílicas (MARCOLONGO, 2003).

A força de compressão também pode afetar a dissolução de um fármaco, e uma das possíveis causas para esta interferência é o fato de que as partículas tendem a se ligar durante o processo de compressão, logo a dissolução pode diminuir. Por outro lado, quando as partículas não se ligam, a taxa de dissolução pode aumentar. Isto significa que, a taxa de dissolução depende das mudanças no tamanho de partícula ou de área da superfície de contato durante o processo de compressão (MARCOLONGO, 2003).

A composição da formulação, as características de seus componentes juntamente com a variação da força de compressão influenciam diretamente no comportamento de desintegração e dissolução de um comprimido (MARCOLONGO, 2003). Semelhante efeito, porém, independente da força de compressão, pode ocorrer no processo de granulação úmida, quando o tempo de mistura da massa é exagerado durante a fase de incorporação do aglutinante, a temperatura e o tempo de secagem do granulado podem provocar alterações nos fármacos e nas características dos medicamentos fabricados.

Por isso, é importante a avaliação adequada do processo a ser aplicado, pois, no processo de compressão direta estes problemas são minimizados obtendo-se comprimidos com tempo de desintegração bastante rápido e com boas taxas de dissolução (VIÇOSA, 2003).

### **3.7 - Biodisponibilidade**

O termo biodisponibilidade está diretamente relacionado com a disponibilidade biológica, ele indica a medida da velocidade da absorção da droga na sua forma ativa e da quantidade total desta que chega inalterada na circulação geral para atuar no sítio de ação, a partir de uma forma farmacêutica administrada (GENNARO, 2004).

A avaliação da biodisponibilidade é dividida em dois tipos:

✓ Biodisponibilidade absoluta: trata-se de uma fração da dose que é efetivamente absorvida após administração extravascular de um medicamento. Ela é calculada tomando como referência a administração do mesmo fármaco por via intravascular, que possui por definição biodisponibilidade igual a 100%.

✓ Biodisponibilidade relativa ou bioequivalência: ocorre entre medicamentos administrados pela mesma via extravascular, pode ser avaliada pela comparação de parâmetros farmacocinéticos relacionados à biodisponibilidade, ou seja, a quantidade absorvida e a velocidade do processo de absorção. Comparam-se dois medicamentos, tendo um deles como referência (ROSA, 2005).

Estudos de biodisponibilidade são realizados em situações como: estudos de bioequivalência de medicamentos, estabelecimento de correlação *in vivo-in vitro*,

registro de medicamentos que contenham novos fármacos, de novas formulações contendo fármacos já utilizados na terapêutica, de formas farmacêuticas de liberação controlada e alterações pós-registro (ROSA, 2005).

### **3.8 - Correlação *in vivo* x *in vitro***

Dados de dissolução *in vitro* possuem valor limitado se não existirem informações disponíveis sobre sua relevância quando comparadas com a *performance in vivo* da formulação, especialmente sua biodisponibilidade. Assim, a correlação *in vivo-in vitro* pretende estabelecer uma relação racional entre uma propriedade ou efeito biológico produzido pelo fármaco e uma propriedade ou característica físico-química dessa formulação. As propriedades biológicas mais empregadas são um ou mais parâmetros farmacocinéticos, como  $C_{m\acute{a}x}$  (concentração máxima do fármaco atingida no plasma) ou por exemplo o  $t_{m\acute{a}x}$  (tempo no qual  $C_{m\acute{a}x}$  é alcançada), estes dados são obtidos após a administração da forma farmacêutica aos indivíduos participantes do ensaio de biodisponibilidade. Por sua vez, a propriedade físico-química mais aplicada refere-se à cinética de dissolução *in vitro* da forma farmacêutica (percentagem de fármaco dissolvido em função do tempo) (MARCOLONGO, 2003).

Desta forma, busca-se estabelecer uma relação entre as duas propriedades, biológica e físico-química, que possa ser expressa quantitativamente. Caso isto ocorra, os dados obtidos *in vitro* poderão ser empregados na previsão do comportamento do produto no organismo (VIÇOSA, 2003).

Testes *in vitro*, para serem validados devem estabelecer uma correlação com o perfil de concentração plasmática do fármaco, para que estes possam ser utilizados como um instrumento de controle de qualidade (VIÇOSA, 2003).

### **3.9 - Sistema de Classificação Biofarmacêutica**

As substâncias farmacêuticas são classificadas em quatro grupos de acordo com suas propriedades de solubilidade e permeabilidade, esta classificação pretende correlacionar a dissolução *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo*. O conhecimento da solubilidade e permeabilidade gastrointestinal dos fármacos é um fator importante, uma

vez que estes parâmetros controlam a taxa e a extensão da absorção. A classificação biofarmacêutica assume que nenhum outro componente da formulação altere a permeabilidade de membrana ou o trânsito intestinal (ROSA, 2005).

Segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, a solubilidade de determinado fármaco é considerada alta quando a maior dose empregada é solúvel em até 250 mL de um meio aquoso numa faixa de pH fisiologicamente relevante de 1 a 7,5 (ROSA, 2005). As classes biofarmacêuticas propostas e a expectativa de correlação *in vivo-in vitro* (CIVIV) para medicamentos de liberação imediata estão descritas na Tabela 4. O diazepam, devido suas características físico-químicas está inserido na classe II.

Tabela 4 - Classificação biofarmacêutica e expectativa da CIVIV

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Expectativa de CIVI
I	Alta	Alta	CIVIV esperada se a velocidade de dissolução for mais lenta que a de esvaziamento gástrico, caso contrário, limitada ou nenhuma correlação.
II	Baixa	Alta	CIVIV esperada se a velocidade de dissolução <i>in vitro</i> for similar a velocidade de dissolução <i>in vivo</i> , a menos que a dose seja alta.
III	Alta	Baixa	A absorção (permeabilidade) é determinante. Espera-se limitada ou nenhuma correlação.
IV	Baixa	Baixa	Espera-se limitada ou nenhuma correlação.

Fonte: ROSA, 2005.

### 3.10 - Diazepam

#### 3.10.1 - Propriedades físico-químicas

Quimicamente o diazepam é conhecido como *7-cloro-1,3-diidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona* (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O), apresenta a estrutura química representada na figura 7 (USP, 2012b). O termo benzodiazepínico, se refere a uma

classe de compostos cuja estrutura possui um anel benzênico acoplado a um anel diazepínico e um grupamento aril substituinte na posição 5, compondo um terceiro anel, com a estrutura 5-aryl-1,4 benzodiazepínico. Este fármaco está sujeito à notificação de receituário B, conforme Portaria 344 de 1998, atualizada pelos RDC 178 de 2002 e 18 de 2003 do Ministério da Saúde (OGA *et al.*, 2008).

A matéria-prima, apresenta-se sob a forma de pó cristalino branco ou quase branco, inodoro ou quase inodoro. Apresenta pKa igual a 3,4, característico de uma base fraca. É muito pouco solúvel em água, muito solúvel em clorofórmio e solúvel em etanol 96%. A faixa de fusão descrita está entre 131-135°C (BRASIL, 1996).

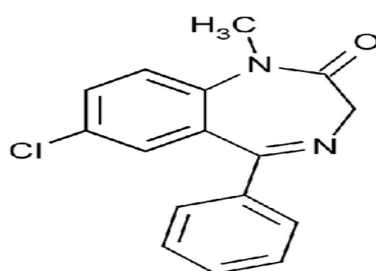


Figura 7- Estrutura química do diazepam (USP 35, 2012b).

### 3.10.2 - Propriedades farmacológicas e mecanismo de ação

O diazepam pertence à classe dos benzodiazepínicos, esta é uma das classes de fármacos mais prescritas e utilizadas em todo o mundo. São usados como ansiolíticos, anticonvulsivantes, relaxantes musculares e hipnóticos, todos induzem esses efeitos em maior ou menor grau, sendo este fator fundamentalmente quantitativo (OGA *et al.*, 2008). Esses agentes possuem a capacidade limitada de provocar depressão profunda e potencialmente fatal do sistema nervoso central (SNC), podem provocar coma em doses muito altas, são incapazes de induzir um estado de anestesia cirúrgica por si próprios e praticamente não são capazes de causar depressão respiratória fatal, a não ser que outros depressores do SNC também estejam presentes. Também são utilizados para produzir sedação e amnésia antes ou no decorrer de procedimentos diagnósticos ou cirúrgicos (CHARNEY *et al.*, 2005).

Acredita-se que os benzodiazepínicos exercem seus efeitos ao interagir com receptores de neurotransmissores inibitórios diretamente ativados pelo ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). Os receptores GABA são proteínas ligadas à membrana; são

divididos em receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub>, os receptores GABA do subtipo GABA<sub>A</sub> ocorrem em forma de canais de cloreto de subunidades múltiplas, os quais são regulados por ligantes. Esta classe de fármacos intensifica correntes iônicas induzidas pelo GABA através destes canais. O subtipo GABA<sub>A</sub> ionotrópico é o responsável pela maior parte da neurotransmissão inibitória no SNC, os benzodiazepínicos necessitam do GABA para expressar seus efeitos, uma vez que não ativam diretamente os receptores GABA<sub>A</sub>, isto é, modulam os efeitos do GABA aumentando a quantidade de correntes de cloreto gerada pela ativação dos receptores GABA<sub>A</sub>, resultando principalmente em um aumento na frequência de surtos das aberturas dos canais de cloreto. O flumazenil (figura 8), um imidazobenzodiazepínico, que se comporta como um antagonista benzodiazepínico específico é utilizado clinicamente para reverter os efeitos de altas doses destes fármacos, só está disponível para administração intravenosa (CHARNEY *et al*, 2005).

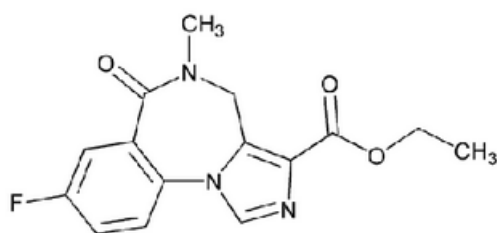


Figura 8- Estrutura química do flumazenil (USP 32, 2007a)

### 3.10.3 - Propriedades farmacocinéticas

As propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos benzodiazepínicos afetam diretamente seu uso clínico. Todos apresentam altos coeficientes de distribuição em lipídio. O diazepam é um fármaco de ação longa, com tempo de meia-vida superior a 24 horas, sofre absorção completa, liga-se extensivamente à proteínas plasmáticas, juntamente com seus metabólitos ativos, (a extensão da ligação está relacionada com a sua lipossolubilidade), alcança no líquido cefalorraquidiano (LCR) uma concentração aproximadamente igual à concentração do fármaco livre no plasma. Observa-se uma rápida captação no cérebro e órgãos altamente perfundidos, seguida de uma fase de redistribuição para os tecidos menos perfundidos (CHARNEY *et al*, 2005). Depois que a distribuição se completa, a eliminação é lenta, em decorrência de uma meia-vida que pode chegar à 50 horas (GENNARO, 2004).

O diazepam sofre metabolização hepática via enzimas do citocromo P450, seus metabólitos ativos (nordazepam e oxazepam) figuras 9 e 10, respectivamente, sofrem biotransformação mais lenta do que o composto original, por isso, a duração da ação deste fármaco exibe pouca relação com a meia-vida de eliminação do agente administrado, após a etapa de metabolização, os metabólitos gerados são eliminados como conjugados de glicuronídeo na urina. O nordazepam que possui tempo de meia-vida de cerca de 60 horas é o responsável pela tendência do diazepam de produzir efeitos cumulativos quando ingeridos repetidamente (RANG, 2007).

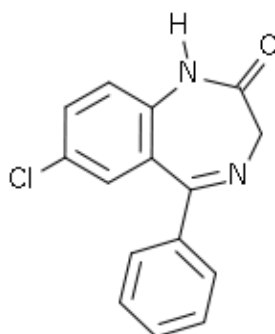


Figura 9- Estrutura química do nordazepam (THE MERCK INDEX, 2001)

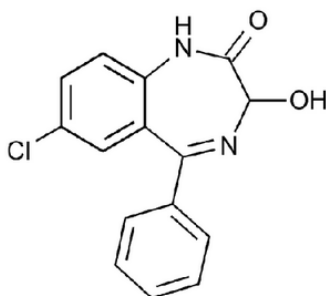


Figura 10- Estrutura química do oxazepam (USP 30, 2007b)

#### 3.10.4 - Formas farmacêuticas e apresentação

O diazepam apresenta-se, no mercado brasileiro, em comprimidos contendo 5 e 10 mg do fármaco. Além do medicamento referência, atualmente existem 4 (quatro) medicamentos genéricos registrados conforme Lei nº 9.787/99 destinados à venda nas redes de drogarias de todo território nacional (BRASIL, 2013).

## **4 - MATERIAIS E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados no início do ano de 2010, com amostras adquiridas de forma aleatória. Não foram estabelecidos critérios para a aquisição das mesmas, logo, houve variação no ano de fabricação destas, a única exigência era que o medicamento deveria estar dentro da validade estabelecida pelo fabricante. Como o produto deve apresentar resultados satisfatórios durante toda a sua validade, o esperado é que nenhum problema seja detectado no quesito analisado.

As amostras adquiridas foram das identificadas como, amostra Genérica A, B e C, conforme descrito no item 4.3.1, foram utilizados comprimidos que contém 5mg de diazepam, as amostras utilizadas na realização dos ensaios foram adquiridas em drogarias na cidade do Rio de Janeiro e a terceira amostra no próprio laboratório que a fabricou.

### **4.1 - Equipamentos e acessórios**

- Balança analítica SARTÓRIUS –ME235S (calibrada e certificada para uso);
- Cubeta espectrofotométrica de 1 cm;
- Ultra-som UNIQUE-MODELO VSC 2800A (calibrado e certificado para uso);
- Dissolutor VARIAN VK7000 (qualificado e certificado para uso);
- Filtro para coleta de dissolução, 10 µm de poro, VARIAN;
- Espectrofotômetro UV/ VIS, VARIAN, CARY 50 (qualificado e certificado para uso);

### **4.2 – Reagentes**

- Água purificada;
- Ácido clorídrico P.A -VETEC;

### **4.3 - Substância química de referência**

- Diazepam Substância química de referência, fornecida pela Farmacopéia Brasileira, lote: 1044, teor declarado: 99,9%.

#### **4.3.1 - Produtos farmacêuticos (analito)**

- Medicamento Referência:



Blíster com 20 comprimidos de 5 mg, válido até 09/2012.

- Medicamento Genérico (A):

Diazepam - Blíster com 20 comprimidos de 5 mg, válido até 08/2011.

- Medicamento Genérico (B):

Diazepam - Blíster com 20 comprimidos de 5 mg, válido até 05/2011.

- Medicamento Genérico (C):

Diazepam – Blíster contendo 10 comprimidos de 5 mg, válido até 06/2010.

#### **4.4 - Análise quantitativa e controle da qualidade**

Na Farmacopéia Americana (USP 35, 2012b) encontra-se descrita a monografia analítica para controle de qualidade do diazepam matéria-prima e de comprimidos de liberação imediata contendo o fármaco, onde se descreve qual a especificação e metodologia para a determinação da dissolução das unidades farmacêuticas sólidas.

#### **4.5 - Parâmetros de Dissolução**

Aparelho: Dissolutor;

Aparato: tipo 1, cesta;

Tempo: 30 minutos;

Rotação: 100 rpm;

Temperatura: 37 °C±0,5 °C

Meio de Dissolução: Ácido clorídrico 0,1 N, 900 mL (USP 35, 2012b; MORITA, 2001).

##### **4.5.1 - Solução Padrão**

Pesar 22 mg do diazepam padrão, transferir para um balão volumétrico de 200 mL. Realizar solubilização com o meio de dissolução, retirar uma alíquota de 5 mL e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com meio de dissolução (USP 35, 2012b).

#### 4.5.2 - Solução Amostra

Colocar 900 mL do meio de dissolução em cada um dos recipientes do dissolutor. Em cada cesta um comprimido deverá ser adicionado. Após acionar o movimento de rotação e descer o elevador até a altura pré-determinada (25 mm  $\pm$  2 mm entre a parte inferior da cesta e o fundo interno do recipiente que contém o meio de dissolução). Decorridos 30 minutos, retirar uma alíquota de 50 mL e transferir a mesma para bécher de 50 mL, filtrar em papel de filtro qualitativo, desprezar os primeiros mililitros do filtrado. (USP 35, 2012b).

#### 4.5.3 - Procedimento

Determinar as absorvâncias do padrão de diazepam e das amostras em espectrofotômetro UV/VIS em célula de 1 cm e comprimento de onda máximo em cerca de 242 nm, usar ácido clorídrico 0,1 N como branco, e apartir dos valores obtidos, calcular as concentrações de diazepam dissolvido, sendo o especificado Q=85% (USP 35, 2012b).

#### Cálculo para quantificação do princípio ativo dissolvido:

$$A_A \div A_P \times P_P \div 200 \times 9 \times \text{Pot} = \%$$

**Onde:**  $A_A$  = Absorvância da amostra.

$A_P$  = Absorvância do padrão.

$P_P$  = Peso do padrão, em mg.

Pot = Potência do padrão, em %.

200 = Fator de correção

9 = Fator de correção

#### 4.5.4 - Critérios de avaliação:

$E_1$  – Em 06 comprimidos, nenhum deverá ser menor que 90%.

$E_2$  – Em 12 comprimidos ( $E_1 + E_2$ ), nenhum deverá ser menor que 70% a média é no mínimo 85%.

$E_3$  – Em 24 comprimidos ( $E_1 + E_2 + E_3$ ), no máximo 2 comprimidos são menores que 70%, nenhum é menor que 60% e a média é no mínimo 85% (USP 35, 2012b).

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 5 encontram-se os resultados dos ensaios de dissolução realizados com a amostra de referência e genéricas A, B e C. Conforme descrito na metodologia, cada amostrada foi submetida à análise em espectrofotômetro UV/VIS, e posteriormente, calculada a média dos resultados obtidos.

Tabela 5: Resultado em percentual das dissoluções e suas respectivas médias para cada amostra analisada.

<b>Formulação</b> <b>Concentração</b>	<b>Referência</b>	<b>Genérico A</b> <b>(estágio E<sub>1</sub>)</b>	<b>Genérico A</b> <b>(estágio E<sub>2</sub>)</b>	<b>Genérico B</b>	<b>Genérico C</b>
CUBA 1	103	96	98	103	95
CUBA 2	102	99	96	100	100
CUBA 3	104	96	91	102	95
CUBA 4	105	93	89	98	92
CUBA 5	103	86	90	101	94
CUBA 6	103	94	94	94	94
<b>Média Final</b>	<b>103</b>	<b>94</b>	<b>93</b>	<b>100</b>	<b>95</b>
<b>DPR %</b>	<b>1,0</b>	<b>4,7</b>	<b>3,8</b>	<b>3,3</b>	<b>2,8</b>
		<b>Média final (E<sub>1</sub>+ E<sub>2</sub>÷ 2): 94</b>			

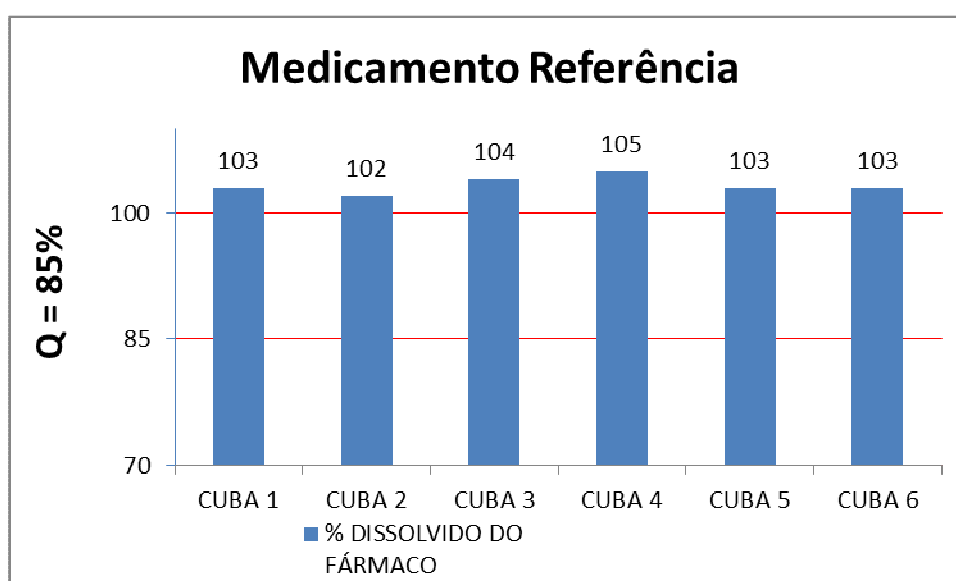


Gráfico 1 - Resultados da dissolução do medicamento referência.

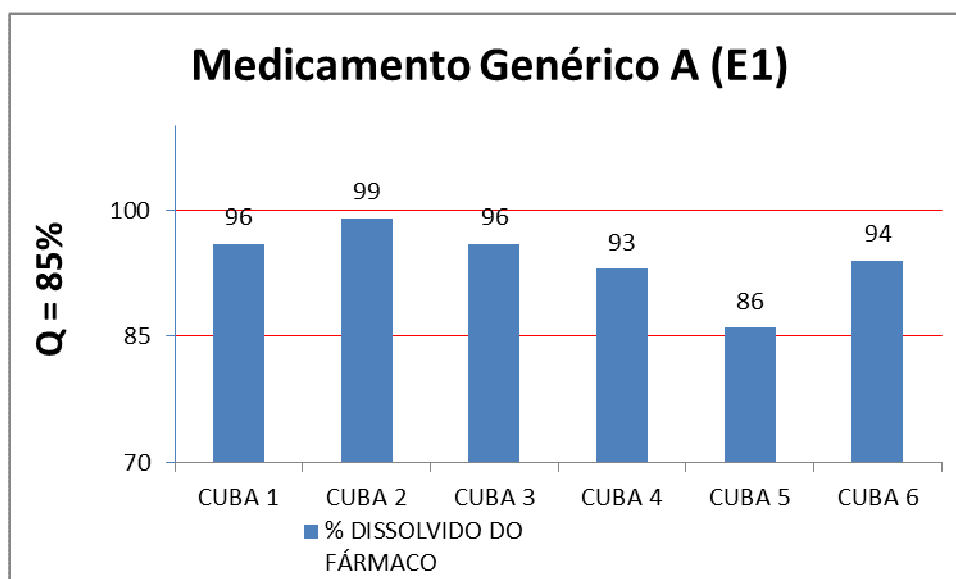


Gráfico 2 - Resultados da dissolução do medicamento Genérico A, estágio E<sub>1</sub>.

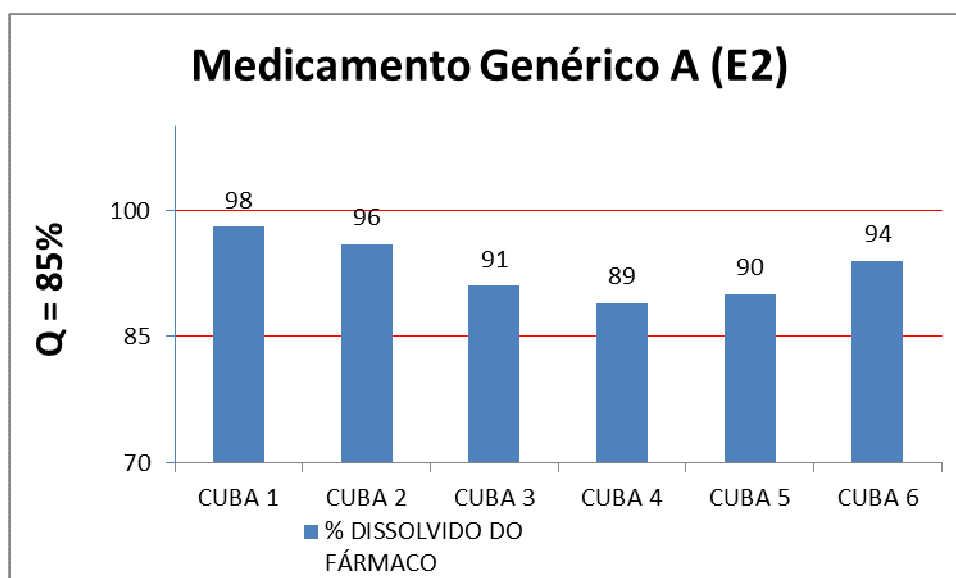


Gráfico 3 - Resultados da dissolução do medicamento Genérico A, estágio E<sub>2</sub>.

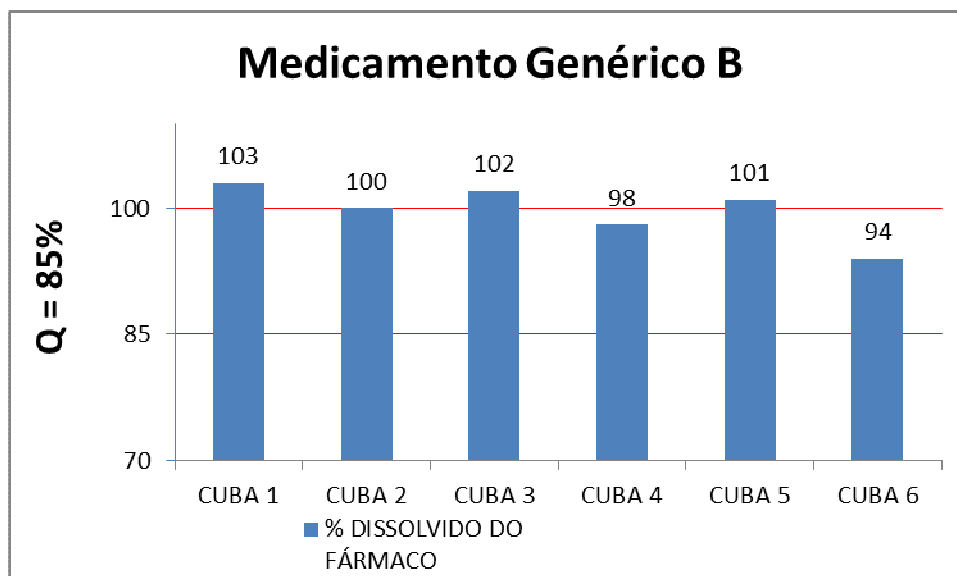


Gráfico 4 – Resultados da dissolução do medicamento Genérico B.

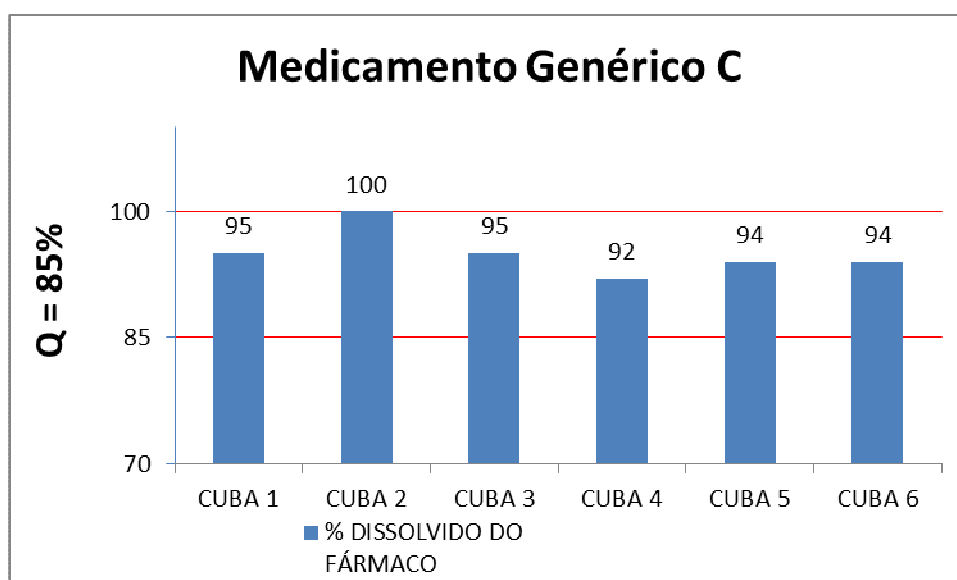


Gráfico 5 – Resultados da dissolução do medicamento Genérico C.

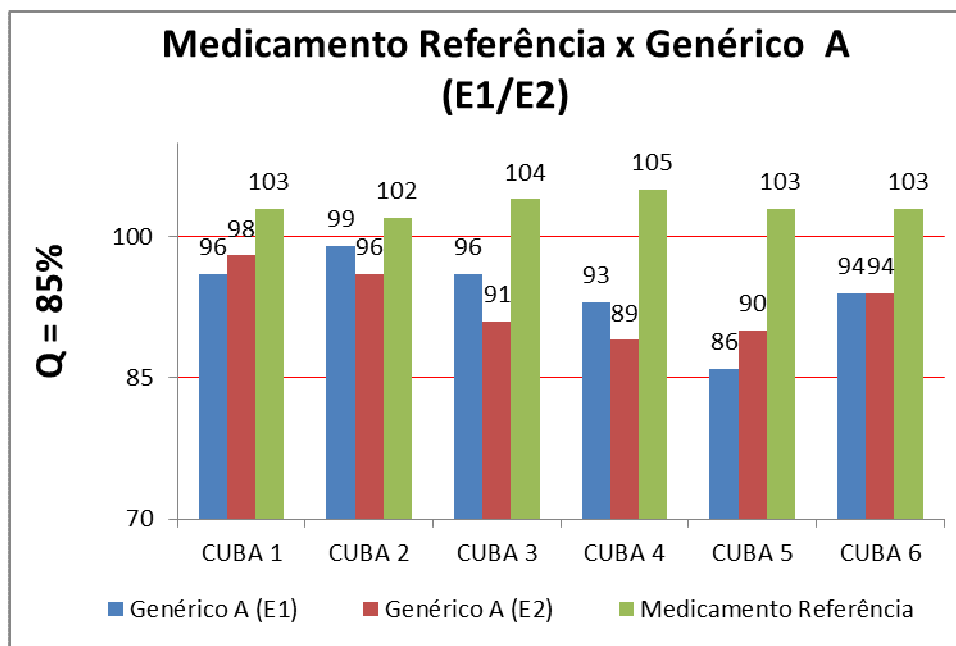


Gráfico 6 - Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico A estágios E<sub>1</sub> X E<sub>2</sub>.

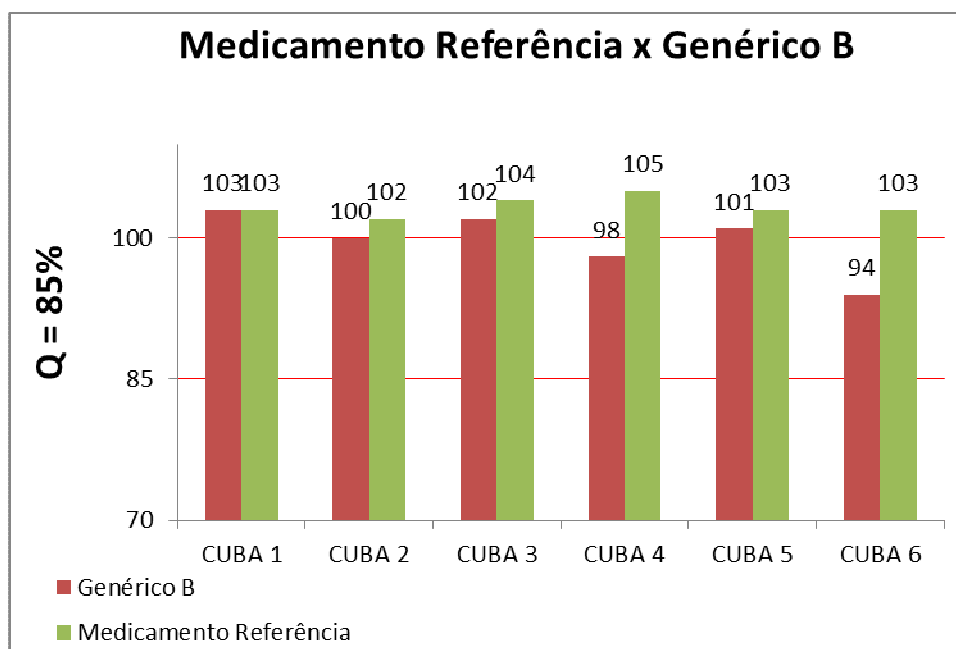


Gráfico 7 - Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico B.

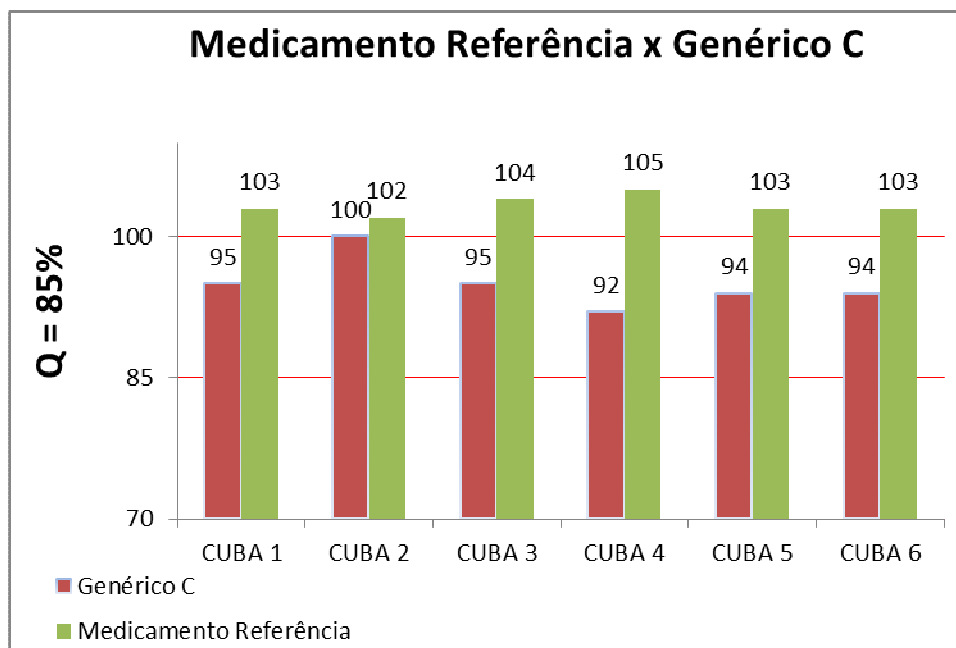


Gráfico 8 - Comparativo dos resultados da dissolução do medicamento Referência x Genérico C.

Os resultados obtidos na quantificação de diazepam nos produtos genéricos durante o estudo de dissolução foram satisfatórios, porém, os resultados obtidos com o medicamento de referência mostraram-se pouco dispersos, mais homogêneos, diferentemente das formulações genéricas. Diante disto, é possível sugerir que, obteve-se uma maior efetividade no processo de fabricação do medicamento referência, onde os excipientes e o IFA escolhidos foram mais adequados ao processo, e que estes não interviram no desempenho da formulação final. Sabe-se que as propriedades físico-químicas e físico-mecânicas dos excipientes e do IFA usados nas formulações devem ser estudadas no momento da sua pré-formulação, pois, diferentes tamanhos de partículas, polimorfismos de cristais, higroscopia, densidade, dentre outros fatores, podem influenciar no processo produtivo levando a problemas na homogeneidade da mistura e das unidades farmacêuticas produzidas, problemas na compressibilidade, além de prejudicar a biodisponibilidade do fármaco.

A formulação genérica A apresentou um aumento na dispersão dos resultados, uma vez que uma das unidades farmacêuticas testadas alcançou apenas 86%, de princípio ativo dissolvido no primeiro ensaio realizado. Este resultado está abaixo do mínimo aceitável que é de 90% para cada unidade farmacêutica analisada, gerou-se então, a necessidade de um novo ensaio (estágio E<sub>2</sub>) para que o produto fosse considerado aprovado. Neste, ficou

evidenciado que os primeiros resultados realmente retratam a realidade do lote produzido, pois, uma nova unidade abaixo da especificação foi encontrada. O fato exposto não torna o lote impróprio para o uso uma vez que de acordo com os critérios de aprovação, para 12 comprimidos analisados nenhum deverá ser menor que 70% e a média deve ser no mínimo de 85%, critério obedecido para o lote em questão. As formulações B e C apresentaram todos os resultados dentro dos critérios de avaliação. Fatores associados a erros analíticos foram minimizados, uma vez que os equipamentos utilizados estavam devidamente calibrados e qualificados e a analista que executou os testes foi devidamente treinada. Cuidados com a realização do ensaio foram tomados, tais como, aquecimento anterior do meio de dissolução, retirada de gases/bolhas contidas neste, e uso de vidraria devidamente calibrada.



## 6-CONCLUSÃO

Foi demonstrado que, para um fármaco exercer sua atividade ele depende de diversos fatores para que no fim possa atingir a concentração ideal nos fluidos biológicos. Esta concentração dependerá da dose administrada, da quantidade absorvida, da distribuição no local, da velocidade e quantidade eliminada do corpo, e que ela será determinada inicialmente pela desintegração e dissolução do ativo veiculado na forma farmacêutica. As formas farmacêuticas sólidas de uso oral são as que apresentam maiores problemas, pois, são oriundas de processos que envolvem etapas diversificadas de produção e geralmente apresentam formulações complexas. Estes fatores muitas vezes afetam a velocidade de dissolução do fármaco prejudicando diretamente sua biodisponibilidade.

Outros fatores influenciam a dissolução de ativos, tais como as propriedades físico-químicas do fármaco como solubilidade, forma cristalina, tamanho de partícula, estrutura molecular, grau de ionização, as características de difusão no meio de dissolução, higroscopicidade, etc.

Ao se desenvolver o teste de dissolução, é imprescindível se estabelecer condições mais próximas das fisiológicas possíveis, pois, isto possibilitará fazer correlação e interpretação dos dados *in vitro* com a performance do medicamento *in vivo*. Foi evidenciado também que, a escolha de um meio e volume de dissolução apropriados, a ausência de gases ou ar dissolvidos no meio de dissolução são importantes para o sucesso do ensaio. O controle da temperatura, assim como a agitação do meio durante o ensaio também são importantes, uma vez que a solubilidade de fármacos depende destes parâmetros, ou seja, vários são os fatores a serem observados para a seleção de um método ideal.

Apesar da substância ativa diazepam ser pouco solúvel em água, a princípio não era esperado nenhum resultado fora de especificação para as amostras analisadas, uma vez que se trata de uma base fraca e que o meio usado para o ensaio analítico é ácido, logo, a substância ativa ficará na sua forma protonada tornando-se solúvel no meio, permitindo ao término da análise uma perfeita quantificação da substância em solução. A partir dos resultados obtidos pode-se sugerir que o processo tecnológico aplicado na produção de um medicamento é de grande importância e influencia diretamente na qualidade final deste, evidenciando a importância de um processo de qualificação de

fornecedores de matéria-prima, seja ela ativa ou não, para que problemas relacionados a polimorfismos, tamanhos de partículas diferenciadas, que influenciam diretamente no processo de dissolução, sejam eliminados, e, é imprescindível a validação de processos produtivos e de equipamentos para se obter resultados confiáveis e homogêneos. Treinamento contínuo de pessoas envolvidas também é importante para que se obtenha no final um medicamento que atenda aos parâmetros de aceitação pré estabelecidos e que atenda o principal cliente que é a população brasileira.

## 7 - REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G; ALLEN J., Loyd V. **Farmacotécnica: Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** 6ª Edição. São Paulo: Premier, 2000. Págs 65-67, 212.

BATISTA, E. B. **Estudos da correlação *in vivo/in vitro* empregando comprimidos de glibenclamida não bioequivalentes.** 2005. 141p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

BRANDÃO, S. M.C. **Avaliação dos resultados das análises de formas farmacêuticas sólidas orais no ensaio de dissolução.** 2006. 35p. Monografia (*lato sensu*) em Vigilância Sanitária. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2006.

BRASIL. ANVISA, 1999. *Lei nº. 9787, de 10 de fevereiro de 1999:* Altera a Lei nº. 6360, 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.

BRASIL. ANVISA, 2000. *Decreto nº 3675, de 28 de novembro de 2000:* Dispõe sobre medidas especiais relacionadas com o registro de medicamentos genéricos, de que trata o art. 4º da Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999.

BRASIL. ANVISA, 2002. *Resolução - RE nº 483, de 19 de março de 2002:* Guia para Ensaio de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata.

BRASIL. ANVISA, 2004. *Resolução - RE nº 310, de 01 de setembro de 2004:* Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução.

BRASIL.FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4ed. São Paulo: Atheneu, 1996. Parte II. Monografias do Fascículo 1. Diazepam. Págs 23-23-2.

BRASIL. FARMACOPÉIA BRASILEIRA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária: ANVISA, 2010a. págs. 66 a 73 - Volume 1 – Teste de Dissolução.

BRASIL. FARMACOPÉIA BRASILEIRA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária: ANVISA, 2010b. pág 63,64 Volume 1 - Testes de desintegração.

BRASIL. ANVISA, 2013 - Lista de Medicamentos Genéricos Registrados por ordem de medicamento de referência - Atualizada até Janeiro de 2013.

CHARNEY, D. S.; MIHIC, S. J.; HARRIS, R. A. **Hipnóticos e Sedativos. In: GILMAN, A. G.- As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 10<sup>a</sup> Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap 17.

FONSECA, L.B. **Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida.** 2007, 159p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

GENNARO, A. R. **Remington: A ciência e a prática da farmácia.** 20<sup>a</sup> Edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2004. Págs. 674-684, 1025.

MALESUIK, M.D.; CARDOSO, S.G.; LANZANOVA, F.A.; BAJERSKI, L.; DORIGONIE. **Desenvolvimento de teste de dissolução e estudo comparativo de comprimidos e cápsulas magistrais contendo anlodipino.** Rev.Ciênc. Farm. Básica Apl., n.1, p.37-49, 2006.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F.A. **Dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 38, p.375 – 379, 2002.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectiva na área farmacêutica.** 2003,117p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARQUES, M. R. C. **Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais.** Revista analytica, n<sup>o</sup> 1, p. 48-51, 2002.

MORITA, T. **Manual de soluções, reagentes e solventes.** Padronização, preparação, purificação. Ed. Edgard Blücher Ltda. IV. 56.11, 2001, p.9.

OGA, S., CAMARGO, M. M.A., BATISTUZZO. J. A. O.: **Fundamentos de toxicologia.** 3<sup>a</sup> Edição. São Paulo: Atheneu Editora, 2008. Pág 381.

PAULA, K. da. **Caracterização dos fármacos Mebendazol e Estradiol 17 $\beta$  Valerato no estado sólido.** 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

PEREIRA, A. S.; BICALHO. B; LILLA, S; NUCCI, G. **Desafios da química analítica frente às necessidades da indústria farmacêutica.** Quím. Nova, São Paulo, vol.28, Suplemento, S107-S111, 2005.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R..**Tecnologia Farmacêutica.** 6<sup>a</sup> Edição. Vol 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002. Págs. 56-61, 117-118.

RANG, H. P.; DALE, M. M. RITTER, J.M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. pág 540.

ROSA, T. C. C. **Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos**. 2005.81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SILVA, T. O. S. **Ensaio de dissolução de formas farmacêuticas sólidas: comprimidos e cápsulas**. 2007.51f. Monografia de conclusão de Graduação em Farmácia - Centro Universitário Augusto Motta, Rio de Janeiro, 2007.

STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILANOVA, C. M. A. **A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas**. Infarma, v. 16, n. 9-10, 2004.

THE MERCK INDEX: **an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals**. 13 ed. New Jersey: MERCK & CO, 2001, p. 6747.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 30. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2007a. flumazenil, p. 2144.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 30. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2007b. oxazepam, p. 2813.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 35. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2012a. Cap. 711. Dissolution.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 35. Ed. Rockville: U.S.P. Convention, 2012b. Diazepam , pág. 2868.

VIÇOSA, A. L. **Estudo da utilização de incrementadores de dissolução para compressão direta: Enfoque no desenvolvimento de medicamentos genéricos**. 2003. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

WILKINSON, G. R.-**Farmacocinética: Dinâmica da absorção, da distribuição e da eliminação dos fármacos**. *In*: GILMAN, A. G.- **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. págs 4 e 5.