

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LUCAS FERREIRA BORGE

**Análise comparativa de perfis de dissolução *in vitro* e *in silico*
de comprimidos de liberação modificada contendo metformina**

São Paulo

2018

LUCAS FERREIRA BORGE

**Análise comparativa de perfis de dissolução *in vitro* e *in silico*
de comprimidos de liberação modificada contendo metformina**

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de
Pós-graduação)

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Produção e Controle Farmacêuticos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Valentina Porta

São Paulo

2018

Lucas Ferreira Borge

**Análise comparativa de perfis de dissolução *in vitro* e *in silico* de comprimidos
de liberação modificada contendo metformina**

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do título de Mestre

Prof^a Dr^a Valentina Porta

Orientador/presidente

1º. Examinador

2º. Examinador

3º. Examinador

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais,
Maria Efigenia Pinto Ferreira Borge e Manuel Correia Borge,*

*À minha irmã e sobrinho,
Lúcia Ferreira Borge e Caetano Ferreira,*

*À minha namorada,
Thamires Batello Freire*

Aos amigos e família.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Valentina Porta e Humberto Gomes Ferraz pela orientação e confiança em meu trabalho.

Aos professores Michele Georges Issa e Marcelo Dutra Duque pelas valiosas contribuições para este trabalho.

Aos colaboradores do Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Farmacotécnica (DEINFAR).

Aos funcionários da Universidade de São Paulo: David Olimpio de Lima Filho e Alexandre Spitalare.

À CAPES e FipFarma pelos auxílios financeiros.

Epigrafe

Planet Earth is blue, and there's nothing I can do

(David Bowie)

SUMÁRIO

	pg.
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE EQUAÇÕES.....	xv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
3.1. BIODISPONIBILIDADE.....	3
3.2. BIOEQUIVALÊNCIA E MEDICAMENTOS GENÉRICOS.....	5
3.3. CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA.....	6
3.4. FORMAS FARMACÊUTICAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA.....	9
3.5. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	9
3.5.1. Aparatos de dissolução.....	10
3.5.1.1. <i>Cestos e pás.....</i>	11
3.5.1.2. <i>Cilindros recíprocos.....</i>	14
3.5.1.3. <i>Células de fluxo.....</i>	15
3.5.1.4. <i>Pás sobre discos, cilindros rotatórios e suportes recíprocos.....</i>	16
3.6. DDDPLUS®.....	16
3.6.1. Formas farmacêuticas de liberação imediata.....	18
3.6.2. Formas Farmacêuticas de Liberação Modificada por matriz polimérica.....	21

3.7. METFORMINA.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1. FÁRMACO.....	24
4.2. MÉTODO ANALÍTICO.....	24
4.2.1. Linearidade.....	24
4.2.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD).....	24
4.2.3. Teste dos filtros.....	25
4.3. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO.....	26
4.3.1. Pureza.....	26
4.3.2. Densidade verdadeira.....	26
4.3.3. Solubilidade.....	26
4.4 FORMULAÇÕES.....	27
4.4.1. Formulações teste.....	27
4.4.1.1. <i>Doseamento de metformina em comprimidos das formulações T1, T2 e T3.....</i>	28
4.4.1.2. <i>Dimensões dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3.....</i>	28
4.4.2. Formulações comerciais.....	29
4.5. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	30
4.5.1. Condições dos ensaios de dissolução.....	30
4.5.2. Avaliação dos perfis de dissolução.....	31
4.5.2.1. <i>Eficiência de dissolução.....</i>	31
4.5.2.2. <i>Tempo médio de dissolução.....</i>	32
4.5.2.3. <i>Fatores semelhança e diferença.....</i>	32
4.6. ENSAIOS <i>IN SILICO</i>	33
4.6.1. DDDPlus®.....	33
4.6.1.1. <i>Obtenção dos perfis de dissolução das formulações.....</i>	34

4.6.1.2. <i>Uso do DDDPlus® na comparação entre as formulações T1, T2 e T3 contra os produtos P1, P2, P3 e P4</i>	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1. MÉTODO ANALÍTICO.....	35
5.1.1. Linearidade	35
5.1.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)	36
5.1.3. Teste dos filtros	36
5.2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO.....	38
5.2.1. Pureza	38
5.2.2. Densidade Verdadeira	39
5.2.3. Solubilidade	39
5.3. FORMULAÇÕES.....	41
5.3.1. Formulações teste	41
5.3.1.1. <i>Doseamento de metformina em comprimidos das formulações T1, T2 e T3</i>	41
5.3.1.2. <i>Dimensões dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3</i>	42
5.4. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	43
5.4.1. Avaliação dos perfis de dissolução	43
5.4.2. Produtos do mercado	51
5.5. ENSAIOS <i>IN SILICO</i>	53
5.5.1. Obtenção dos perfis de dissolução das formulações	53
5.5.2. Uso do DDDPlus® na comparação entre as formulações T1, T2 e T3 contra os produtos P1, P2, P3 e P4	59
6. CONCLUSÃO	60
7. BIBLIOGRAFIA	61
ANEXO A	67
ANEXO B	69

ANEXO C.....	71
ANEXO D.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

ASC	Área sob a curva
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BD	Biodisponibilidade
BE	Bioequivalência
CC	Constantes de calibração
C_{MAX}	Concentração Plasmática Máxima
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
ED	Eficiência de Dissolução
f_1	Fator de Semelhança
f_2	Fator de Diferença
FF	Forma Farmacêutica
FFLM	Forma Farmacêutica de Liberação Modificada
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IVIVC	Correlação <i>In vitro</i> - <i>In vivo</i>
MDT	Tempo Médio de Dissolução
RPM	Rotações Por Minuto
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
TGI	Trato gastrointestinal
USP	Farmacopeia dos Estados Unidos da América

LISTA DE FIGURAS

	Pg.
Figura 1- Sistema de classificação biofarmacêutica.....	7
Figura 2- Aparato de dissolução “cestos”.....	12
Figura 3- Aparato de dissolução “pás”.....	13
Figura 4- Exemplo de <i>sinkers</i>	13
Figura 5- Aparato de dissolução “cilindros recíprocos”.....	14
Figura 6- Aparato de dissolução “célula de fluxo”.....	15
Figura 7- Fórmula molecular da metformina.....	23
Figura 8- Medidas dos comprimidos analisados.....	29
Figura 9- Eficiência de dissolução.....	31
Figura 10- Linearidade do método para cloridrato de metformina.....	36
Figura 11- Filtro de nylon 0,45 μ	37
Figura 12- Filtro de polietileno 45 μ	37
Figura 13- Ponto de fusão e pureza para cloridrato de metformina.....	38
Figura 14- Perfis de dissolução das formulações T1, T2 e T3 nas condições aparato 2, meio de dissolução solução tampão fosfato pH 6,8 velocidades de agitação de 25 e 50 RPM com ou sem uso do sinker.....	44
Figura 15A- Gráfico de Pareto de ED para T1.....	46
Figura 15B- Gráfico de superfície de resposta de ED para T1.....	46
Figura 16A- Gráfico de Pareto de ED para T2.....	47
Figura 16B- Gráfico de superfície de resposta de ED para T2.....	47
Figura 17A- Gráfico de Pareto de ED para T3.....	48
Figura 17B- Gráfico de superfície de resposta de ED para T3.....	48
Figura 18A- Gráfico de Pareto de MDT para T1.....	49

Figura 18B- Gráfico de superfície de resposta de MDT para T1.....	49
Figura 18C- Gráfico de Pareto de MDT para T2.....	49
Figura 18D- Gráfico de superfície de resposta de MDT para T2.....	49
Figura 19A- Gráfico de Pareto de MDT para T3.....	50
Figura 19B- Gráfico de superfície de resposta de MDT para T3.....	50
Figura 20- Perfis de dissolução dos produtos do mercado.....	51
Figura 21- Perfis de dissolução para o ensaio com velocidade de 50RPM com sinker.....	52
Figura 22- Resultados de R^2 <i>in vitro</i> Vs. <i>in silico</i> e f_2 <i>in vitro</i> Vs. <i>in silico</i> obtidos após a comparação entre perfis <i>in vitro</i> e <i>in silico</i>	54
Figura 23A- Regressão exponencial entre valores de R^2 e f_2 para simulações realizadas a partir de ensaios <i>in vitro</i> sem sinker.....	55
Figura 23B- Regressão exponencial entre valores de R^2 e f_2 para simulações realizadas a partir de ensaios <i>in vitro</i> com sinker.....	55
Figura 24A- Valores de ED de perfis simulados.....	58
Figura 24B- Comparações entre perfis simulados das formulações teste e perfis observados dos produtos comercializados.....	58

LISTA DE TABELAS

	Pg.
Tabela 1- Formulações teste de comprimidos de liberação modificada contendo cloridrato de metformina.....	28
Tabela 2- Produtos do mercado de comprimidos de liberação modificado contendo metformina.....	29
Tabela 3- Planejamento fatorial para desenvolvimento de método de dissolução para comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica contendo metformina.....	30
Tabela 4- Ensaio de densidade verdadeira para metformina.....	39
Tabela 5- Solubilidade de cloridrato de metformina para diferentes valores de pH.....	40
Tabela 6- Peso e teor médio para T1, T2 e T3.....	41
Tabela 7- Medidas médias dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3 (n=20).....	42
Tabela 8- Valores de ED para as formulações T1, T2 e T3.....	45
Tabela 9- Resultados de f_1 e f_2 para T1.....	46
Tabela 10- Resultados de f_1 e f_2 para T2.....	47
Tabela 11- Resultados de f_1 e f_2 para T3.....	48
Tabela 12- Valores de MDT para as formulações T1, T2 e T3.....	49
Tabela 13- Valores de f_1 e f_2 para os produtos do mercado em comparação ao Glifage XR® 500mg.....	52
Tabela 14- Valores de f_2 entre formulações teste e produtos do mercado.....	53
Tabela 15- Constantes de calibração otimizadas dos ensaios <i>in vitro</i>	54

LISTA DE EQUAÇÕES

	Pg.
Equação 1- Cálculo de D_0	6
Equação 2- Fórmula do DDDPlus® para desintegração de solutos.....	18
Equação 3- Modelo de Nernst- Brunner.....	19
Equação 4- Modelo esférico de Johnson.....	19
Equação 5- Modelo cilíndrico de Johnson.....	20
Equação 6- Modelo de transferência de massa.....	20
Equação 7- Matriz polimérica (não entumecidas).....	21
Equação 8- Matriz polimérica (não entumecidas) modificada.....	21
Equação 9- Matriz polimérica de entumecimento (modelo de erosão).....	22
Equação 10- Limite de Quantificação.....	25
Equação 11- Limite de Detecção.....	25
Equação 12- Eficiência de dissolução.....	31
Equação 13- Tempo médio de dissolução.....	32
Equação 14- Fator de semelhança.....	32
Equação 15- Fator de diferença.....	32

RESUMO

BORGE, L.F. **Análise comparativa de perfis de dissolução *in vitro* e *in silico* de comprimidos de liberação modificada contendo metformina**, 2018. XXXp (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A dissolução de um fármaco a partir de uma forma farmacêutica (FF) sólida oral é um pré-requisito para que o mesmo seja absorvido pelo organismo e cumpra seus efeitos terapêuticos. O ensaio de dissolução de medicamentos permite avaliar a quantidade de princípio ativo que é liberado a partir de sua FF, mimetizando *in vitro* o processo que ocorre no trato gastrointestinal (TGI). O DDDPlus[®] é o único programa de computador dedicado exclusivamente a simular ensaios de dissolução. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade do programa de computador DDDPlus[®] em fornecer perfis de dissolução *in silico* de comprimidos matriciais contendo metformina semelhantes aos perfis de dissolução *in vitro* e avaliar a possibilidade de substituir a comparação de perfis de dissolução *in vitro* de diferentes formulações de comprimidos matriciais contendo metformina pela comparação de perfis de dissolução *in silico* fornecidos pelo DDDPlus[®]. Para tanto, um planejamento estatístico foi realizado para obtenção de perfis de dissolução, variando a velocidade das pás e o uso do *sinker*. Os perfis de dissolução de 3 formulações teste (T1, T2 e T3) de comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica contendo 500mg de metformina foram comparadas pelos métodos de eficiência de dissolução (ED), tempo médio de dissolução (MDT), fator de diferença (f_2) e fator de semelhança (f_1). Os resultados indicaram o uso do *sinker* como fator determinante para a ED e MDT. Assim, o método que utilizava o *sinker* e a velocidade das pás de 50RPM foi utilizado para avaliar 4 produtos comercializados no Brasil. No DDDPlus[®] os ensaios de dissolução *in vitro* das formulações T1, T2 e T3 foram otimizadas para a obtenção das constantes de calibração (CC), as CC foram utilizadas para simular os ensaios de dissolução de T1, T2 e T3 em velocidades de 25 e 50RPM. Os perfis de dissolução simulados foram comparados aos perfis observados, resultando em valores de R^2 . Valores de R^2 acima de 0,90 foram obtidos para todas as simulações realizadas utilizando CC de ensaios *in vitro* que utilizaram *sinker*, indicando o potencial do programa em auxiliar o desenvolvimento de novas formulações. Valores de R^2 abaixo de 0,70 foram obtidos após a simulação de ensaios utilizando CC de ensaios *in vitro* que não utilizavam o *sinker*, indicando que o programa de computador não previu a adesão do comprimido ao fundo da cuba de dissolução durante o ensaio. Os perfis de dissolução simulados das formulações T1, T2 e T3 foram comparadas por f_1 e f_2 com os perfis de dissolução dos produtos do mercado. Tais comparações concluíram que o software não é indicado como substituto dos ensaios *in vitro* quando se almeja comparar perfis de dissolução.

Palavras-chave: dissolução, *in silico*, DDDPlus[®], metformina, HPMC.

ABSTRACT

BORGE, L.F. **Comparative analysis of dissolution profiles *in vitro* and *in silico* of modified release tablets containing metformin**, 2018. XXXp (Masters Dissertation). Faculty of Pharmacy Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2018.

Dissolution of a drug from an oral solid pharmaceutical form (FF) is a prerequisite for it to be absorbed by the body and to fulfill its therapeutic effects. *In vitro* Drug dissolution assay allows the amount of active principle released from a FF and mimics the *in vivo* the process that occurs in the gastrointestinal tract (TGI). DDDPlus® is the only computer program dedicated exclusively to simulating dissolution testing. The objective of this study was to evaluate the ability of DDDPlus® software to provide *in silico* dissolution profiles of matrix tablets containing metformin similar to *in vitro* dissolution profiles and to evaluate the possibility of replacing *in vitro* dissolution profiles comparison of different formulations of matrix tablets containing metformin for a comparison of *in silico* dissolution profiles provided by DDDPlus®. For this purpose, a statistical design was used, varying agitation speed and the use of sinker to obtain dissolution profiles for 3 test formulations (T1, T2 and T3) of polymer matrix-modified release tablets containing metformin. Dissolution profiles were compared by means of dissolution efficiency (ED), mean dissolution time (MDT), difference factor (f_2) and similarity factor (f_1). The results indicated the use of sinker as a determinant factor for ED and MDT. Thus, the method that used sinker and agitation speed of 50RPM was used to evaluate 4 products commercialized in Brazil. *In vitro* dissolution tests of the T1, T2 and T3 formulations were optimized using In DDDPlus® to obtain the calibration constants (CC), which were used to simulate dissolution profiles of T1, T2 and T3 at speeds of 25 and 50RPM. *In silico* dissolution profiles were compared to *in vitro* dissolution profiles, resulting in R2 values. R2 values above 0.90 were obtained for all simulations performed using CC from *in vitro* assays using sinker, indicating the potential of the program to assist the development of new formulations. R2 values below 0.70 were obtained after the simulation of assays using CC from *in vitro* assays that did not use the sinker, indicating that the computer program did not predict adhesion of the tablet to the bottom of the dissolution cell during the assay. The simulated dissolution profiles of the T1, T2 and T3 formulations were compared by f_1 and f_2 with the dissolution profiles of the market products. Such comparisons concluded that the software is not indicated as a substitute for *in vitro* assays when comparing dissolution profiles is desired.

Keywords: dissolution, *in silico*, DDDPlus®, metformin, HPMC.

1. INTRODUÇÃO

A dissolução de um fármaco a partir de uma forma farmacêutica (FF) sólida oral e posterior permeação através das células do trato gastro intestinal (TGI), são pré-requisitos para que o mesmo seja absorvido pelo organismo e cumpra seus efeitos terapêuticos. O termo biodisponibilidade (BD) compreende a taxa e extensão pelas quais um fármaco é absorvido, estando disponível em seu sítio de ação (BRASIL, 2002b; MELO, 2012, PEREIRA, 2011).

Nas décadas de 1960 e 1970, o uso de alguns medicamentos causou quadros de ineficiência clínica e intoxicações. Foi verificado que excipientes, a manufatura e o tipo de formas farmacêuticas impactavam na BD de medicamentos. Assim, em resposta a tais ocorrências, ensaios de BD relativa passaram a ser realizados antes do registro de medicamentos genéricos, garantindo a eficácia e segurança destes produtos (PORTA, 2013).

Os ensaios de BD relativa consistem na quantificação do fármaco presente nos fluidos corporais de voluntários, após a administração de um medicamento por via extravascular (BRASIL, 2002a; BRASIL, 2002b; FDA, 2017; MELO, 2012; PORTA, 2013).

Já o ensaio de dissolução de medicamentos foi oficialmente aceito pela farmacopeia dos Estados Unidos da América (USP) a partir de 1970 como um estudo capaz de avaliar a quantidade de princípio ativo que é liberado a partir de sua FF, mimetizando *in vitro* o processo que ocorre no interior do TGI (DOKOUMETZIDIS, 2006; AZARMI et.al., 2007; FANG et. al., 2010).

Sendo frequentemente utilizado nas etapas de controle de qualidade e desenvolvimento de novos produtos ou como uma ferramenta que permite detectar problemas relacionados à manufatura, o estudo de dissolução ainda é capaz de prever aspectos relacionados ao comportamento *in vivo* de um medicamento (AZARMI et. al., 2007).

A possibilidade de se estabelecer uma correlação entre o perfil de dissolução *in vitro* e o perfil de absorção *in vivo* para alguns medicamentos, representa uma diminuição de gastos no processo de registros de medicamentos genéricos decorrentes da substituição dos ensaios de BD pelos ensaios de dissolução *in vitro*. A correlação *in vitro- in vivo* (CIVIV), é uma relação entre as

curvas de dissolução e de concentração sistêmica em função do tempo para um mesmo produto (FDA, 1997; AZARMI et. al, 2007; CARDOT et. al, 2007; PORTA, 2013).

Paralelamente à evolução dos ensaios de dissolução, a propagação do uso de computadores representou um progresso para diversas áreas da pesquisa científica. Em 1991, o termo “*in silico*” foi adotado pela primeira vez em um periódico científico referindo-se a modelos matemáticos executados por *softwares* com o intuito de simular algum experimento científico. Na mesma década, programas computacionais passaram a ser utilizados para simular estudos realizados tradicionalmente *in vivo* e/ou *in vitro*, reduzindo gastos com matérias primas e tempo de análise (DANCHIN et. al., 1991; DOGAN, SCHNEIDER & REUTER, 2016).

O rápido avanço tecnológico difundiu os ensaios *in silico* para diversas linhas de pesquisa farmacêuticas e biológicas, tais como a biotecnologia, a química farmacêutica e a farmacocinética, até que em 1998, foram desenvolvidos programas que passaram a simular estudos de BD e, uma vez que a dissolução da FF no interior do TGI era simulada por esses *softwares*, a empresa *Simulations Plus*[®] desenvolveu um programa dedicado a simular ensaios de dissolução (KOSTEWICZ et al., 2014; ALMUKAINZI et al., 2014; SIMULATIONS PLUS, 2016; DUQUE, 2016).

O DDDPlus[®] é o único programa de computador comercial dedicado exclusivamente a simular ensaios de dissolução de diversas FF's, tais como cápsulas, comprimidos de liberação imediata e modificada, oro dispersivos e de dupla camada. A simulação considera diversas variáveis, tais como os aparatos de dissolução (“cestos”, “pás” e “células de fluxo”), os principais meios de dissolução dos compêndios oficiais (farmacopeias americana, europeia, japonesa e britânica), as características físico químicas da formulação a ser testada e os parâmetros referentes ao ensaio de dissolução (ALMUKAINZI et al., 2014; SIMULATIONS PLUS, 2016).

O emprego de metodologias *in silico* no contexto da simulação de dissolução *in vitro* de medicamentos ainda é pouco explorado academicamente. Trabalhos envolvendo DDDPlus[®] são escassos na literatura científica, salientando a necessidade de se avaliar a capacidade do programa em fornecer

perfis de dissolução *in silico* semelhantes aos perfis de dissolução *in vitro*, garantindo a redução de custos inerentes às simulações computacionais, sem colocar em risco a segurança de pacientes que necessitam dos produtos frutos dessa nova estratégia (ALMUKAINZI et. al., 2014; DUQUE, 2016).

2. OBJETIVOS

Avaliar a capacidade do programa de computador DDDPlus® em fornecer perfis de dissolução *in silico* de comprimidos matriciais contendo metformina semelhantes aos perfis de dissolução *in vitro*.

Avaliar a possibilidade de substituir a comparação de perfis de dissolução *in vitro* de diferentes formulações de comprimidos matriciais contendo metformina pela comparação de perfis de dissolução *in silico* fornecidos pelo DDDPlus®.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. BIODISPONIBILIDADE

Até a metade do século XX, acreditava-se que medicamentos contendo o mesmo fármaco na mesma quantidade eram equivalentes entre si. Hoje, sabe-se que essa concepção não é válida para FF's que liberam o ativo para posterior absorção e ocasionou casos de intoxicação nas décadas de 1960 e 1970 (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2012; PORTA, 2013).

Para todas as FF's orais que agem de forma sistêmica, a absorção do fármaco é necessária para que o mesmo cumpra seus efeitos clínicos. Tal processo de absorção é posterior à dissolução das moléculas do fármaco nos fluidos do TGI, sendo que as características limitantes para sua dissolução compreendem a solubilidade dos fármacos, tamanho da partícula, molhabilidade ou outros (MELO, 2012).

Após a dissolução, o fármaco atravessa as membranas das células do TGI, sendo que este processo é limitado ou não, pela permeabilidade do ativo. A permeabilidade é influenciada diretamente pela velocidade de transferência de

massa através da membrana intestinal humana, tendo como fatores limitantes mecanismos de transporte, enzimas metabolizadoras na parede intestinal ou outros (MELO, 2012, PEREIRA, 2011).

Diante disto, é possível afirmar que a solubilidade e a permeabilidade no TGI são necessárias para a absorção de um fármaco presente em uma FF oral (MELO, 2012). Podemos conceituar o termo “biodisponibilidade” como:

“[...] a taxa e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no sítio de ação da droga. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada através da medida da concentração do princípio ativo da droga em sangue total, soro ou outro fluido biológico apropriado, em função do tempo” (BRASIL, 2002b).

O ensaio de BD pode ser descrito resumidamente, como a concentração do fármaco presente em amostras de sangue, urina, fezes ou outros fluidos corporais de voluntários, após a administração de uma FF contendo o fármaco em estudo. Curvas de concentração sanguínea versus tempo são construídas, de modo que se obtêm alguns parâmetros farmacocinéticos, tais como o pico de concentração máxima (C_{max}), o tempo para ocorrer o C_{max} (T_{max}) e a área sob a curva (ASC_t) (BRASIL, 2002a; BRASIL, 2002b; FDA, 2017; MELO, 2012; PORTA, 2013).

A BD absoluta, se trata da relação entre a concentração de um fármaco na circulação após a administração de sua FF intravascular e a absorção obtida após a administração de uma FF oral contendo o mesmo fármaco e administrada ao mesmo voluntário (BRASIL, 2002b; FDA, 2017; PORTA, 2013).

A quantidade e a velocidade do processo de absorção de um mesmo fármaco presente em dois medicamentos administrados pela mesma via extravascular são comparados, tendo um medicamento como referência. Esta comparação entre produtos de administração extravascular recebe o nome de BD relativa (BRASIL, 2002a; BRASIL, 2002b; FDA, 2017; PORTA, 2013).

3.2. BIOEQUIVALÊNCIA E MEDICAMENTOS GENÉRICOS

Baseando-se no conceito de BD proposto em 1970, em 1974, uma comissão estabelecida pelo congresso americano definiu os ensaios de bioequivalência (BE) como o ensaio que substitui a comparação clínica direta entre os produtos referência e genérico, reduzindo o preço final dos medicamentos genéricos (CONGRESS OF THE UNITED STATES, 1974; PORTA, 2013).

No Brasil, foi apenas no final do século XX que as condições para a implantação de medicamentos genéricos foram consolidadas através da Lei 9.787, de 10/02/1999 (BRASIL, 2017a).

Atualmente, os medicamentos genéricos propiciam uma redução de gastos com saúde pública em diversos países, uma vez que se trata de um produto similar ao inovador, contendo o mesmo princípio ativo, na mesma quantidade, tendo uma mesma via de administração, porém, produzido após a expiração da proteção patentária do produto inovador (MIDHA et al., 2009; WHO, 2012; PORTA, 2013).

Ao desenvolver um medicamento genérico, seu fabricante deve apenas comprovar sua semelhança em relação ao produto inovador por meio de ensaios mais simples que os ensaios pré-clínico e clínicos. Essa estratégia torna os medicamentos genéricos uma alternativa de menor custo, porém com a mesma eficácia e segurança dos medicamentos de referência (MIDHA et al., 2009; WHO, 2012; PORTA, 2013).

Uma vez definido a BD relativa para um determinado fármaco, é possível estabelecer uma equivalência entre dois produtos. A BE é uma importante ferramenta que garante a qualidade dos medicamentos genéricos em comparação aos medicamentos referência (BRASIL, 2002b; FDA, 2017; PORTA, 2013).

Para que um medicamento possa ser considerado equivalente ao seu produto referência e ser registrado como geASnérico, deve ser apresentado sob a mesma forma FF, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio (s) ativo (s); não necessariamente contendo o (s) mesmo (s) componente (s) inativo (s); e que tenham comparável BD, quando estudados sob

um mesmo desenho experimental (DOKOUMETZIDIS, 2006; FDA 2017; BRASIL, 2017).

3.3. CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

Estudos anteriores ao ano de 1995 abordavam uma correlação simplificada entre a extensão da absorção de um fármaco e sua permeabilidade através da membrana intestinal de humanos, considerando que a solubilidade dessas moléculas em água causava impacto direto na absorção (AMIDON et. al., 1995).

Esses estudos basearam o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) proposto por Amidon e colaboradores (1995) que hoje é utilizada como uma ferramenta que permite o corte de gastos no desenvolvimento de novas moléculas além de possibilitar a redução do número de ensaios *in vivo* em alguns testes de BE (AMIDON et. al., 1995).

A absorção de um ativo presente em uma FF oral é influenciada pela permeabilidade do mesmo através da membrana das células do TGI, que, por sua vez, é influenciada pela dissolução do fármaco nos fluídos do TGI. Essa dissolução é influenciada pela solubilidade da molécula em meios aquosos (MELO, 2012, PEREIRA, 2011).

Assim, segundo o SCB, um fármaco é considerado altamente solúvel se sua maior dose administrada oralmente for solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso dentro de uma faixa de pH que vai de 1,0 até 7,5. A equação 1 considera estes fatores ao determinar que fármacos que apresentam valores de Do menores ou igual à 1 são altamente solúveis (BRASIL, 2010).

$$Do = \frac{Dose/S}{250mL} \quad (1)$$

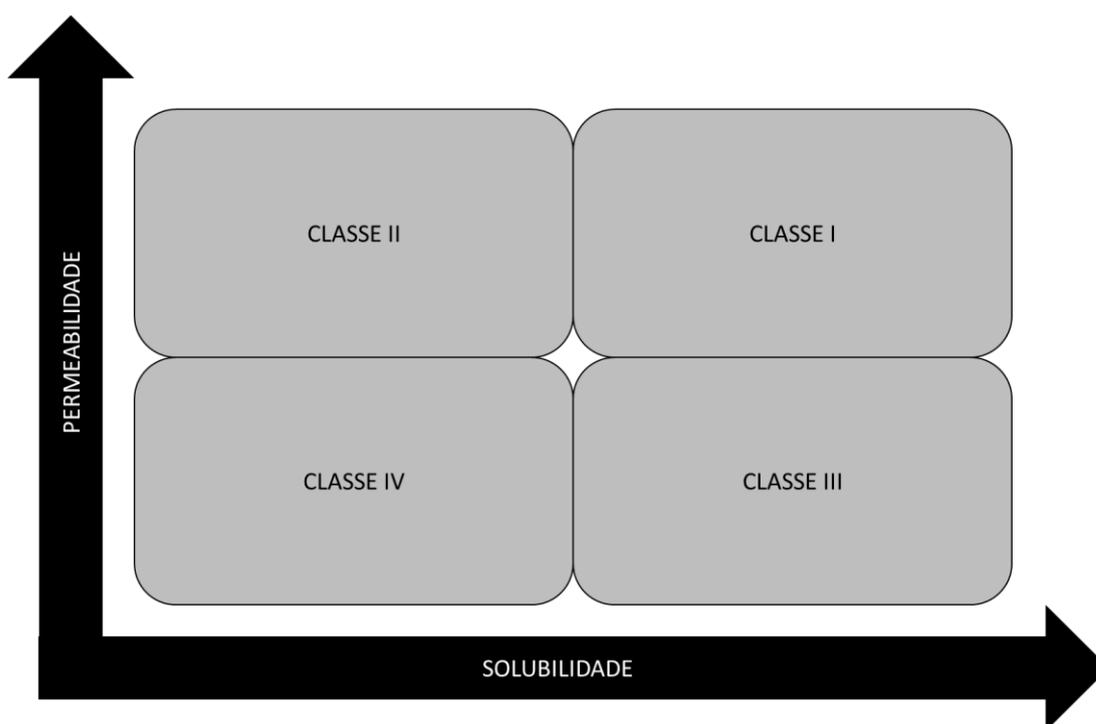
Onde: Do = Número da dose; $Dose$ = Maior dose administrada oralmente e S = solubilidade. Valores de $Do \leq 1$, indicam fármacos altamente solúveis.

Um fármaco de alta permeabilidade apresenta uma extensão de absorção em humanos igual ou superior a 85 ou 90%, dependendo da agência regulatória (PEREIRA 2011; FDA 2017), diversos modelos têm sido empregados para

determinar a permeabilidade de fármacos: modelos *in silico*; métodos *in vitro* baseados em sistemas artificiais compostos por lipídeos, modelos *in vitro* baseados em sistemas celulares, modelos *ex vivo*; modelos *in vivo* (contemplando estudos de farmacocinética) e/ou métodos *in situ* (PERERIRA 2011).

Partindo da solubilidade e permeabilidade de fármacos, Amidon e equipe classificaram os fármacos em quatro classes (Figura 1) (AMIDON et. al., 1995).

Figura 1- Sistema de Classificação biofarmacêutica



Fonte: Adaptado de AMIDON et. Al., 1995.

Classe I- Fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade: São fármacos cuja absorção é alta, sendo que a etapa limitante para a absorção é o tempo de esvaziamento gástrico. A BE é assegurada entre formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata caso a dissolução do fármaco seja de 85% em menos de 30 minutos (AMIDON et. al., 1995; MELO, 2012).

Classe II- Fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade: Os fármacos dessa classe têm na solubilidade o fator limitante para a absorção. A baixa solubilidade torna a dissolução *in vivo* mais lenta, prolongando o tempo de absorção (AMIDON et. al., 1995; MELO, 2012).

Classe III- Fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade: Diferente das classes 1 e 2, os fármacos da classe 3 têm na permeação sua etapa controladora da absorção. Os perfis de dissolução se parecem aos perfis de fármacos classe 1, mas a extensão e a velocidade da absorção são extremamente variadas devido à baixa permeabilidade, sofrendo influência do trânsito intestinal, mecanismos de transporte celular e conteúdo luminal (AMIDON et. al., 1995; MELO, 2012).

Classe IV- Fármacos de baixa solubilidade e baixa permeabilidade: Nesta classe, tanto a permeabilidade quanto a solubilidade são fatores limitantes para a absorção do fármaco, assim, FF orais contendo fármacos desta classe, comumente apresentam problemas relacionados à BD (AMIDON et. al., 1995; MELO, 2012).

Considerando os fatores limitantes de cada classe de fármaco citado anteriormente, Amidon e colaboradores avaliaram a possibilidade de obter uma correlação entre ensaios *in vitro* e ensaios *in vivo* (AMIDON et. al., 1995; MELO, 2012).

A CIVIV é uma relação entre propriedades físico-químicas relacionadas à liberação do fármaco a partir de uma FF e propriedades biológicas relacionadas à absorção do fármaco *in vivo* (FDA, 1997; RECIO et. al, 1999; EMAMI, 2006; CARDOT et. al, 2007; PORTA, 2013).

Os dados *in vivo* são obtidos através de seriadas coletas de sangue de indivíduos sadios após a administração de uma FF, enquanto que os dados *in vitro* são obtidos a partir de ensaios de dissolução (FDA, 1997; EMAMI, 2006; AZARMI et. al, 2007; CARDOT et. al, 2007; PORTA, 2013).

Deste modo, as curvas de concentração sistêmica em função do tempo são utilizadas para o estabelecimento da velocidade de absorção (fração absorvida em função do tempo), aplicando uma adequada técnica de deconvolução (FDA, 1997; AZARMI et. al, 2007; CARDOT et. al, 2007; PORTA, 2013).

Cabe ressaltar que fármacos com baixa permeabilidade, bem como medicamentos que contenham fármacos classe I que apresentam velocidade de dissolução mais rápida que a velocidade de esvaziamento gástrico possuem uma improvável CIVIV (MELO, 2012).

3.4. FORMAS FARMACÊUTICAS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA

A prescrição de formas farmacêuticas de liberação modificada (FFLM) têm sido uma estratégia cada vez mais utilizada na prática médica. Capazes de liberar o fármaco por um período controlado de tempo, essas formulações possibilitam uma melhor adesão ao tratamento pelo paciente por diminuir o número de administrações ao longo do tempo, além disso, podem melhorar a BD e, conseqüentemente, os efeitos terapêuticos de variados fármacos (MOURÃO et al., 2009).

A liberação do fármaco a partir de uma FFLM pode ocorrer de duas maneiras (PEZZINI et al., 2007):

Na primeira, o início da liberação do fármaco ocorre de maneira retardada. Nela, há uma liberação imediata após um período de tempo onde não há liberação do ativo após a deglutição. Um exemplo de FF de liberação retardada são os comprimidos e cápsulas gastrorresistentes, que passam através do pH ácido encontrado no estômago sem ocorrer qualquer liberação do ativo (PEZZINI et al., 2007).

Outra técnica utilizada é o emprego de excipientes e processos de produção que modificam a liberação do fármaco para se obter um perfil de dissolução desejado. Fazem parte desse grupo os sistemas matriciais, liberação por bomba osmótica e reservatórios (PEZZINI et al., 2007).

Considerando os sistemas matriciais, os comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica utilizam em sua composição, polímeros que controlam a liberação do fármaco através de processos de difusão, erosão e/ou entumescimento. Há a possibilidade do uso de polímeros hidrofóbicos (acetato de celulose, etilcelulose, ceras e etc.) ou hidrofílicos (goma xantana, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroetilcelulose, hidroxipropilcelulose e etc) (PEZZINI et al., 2007).

3.5. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

O conceito de dissolução de partículas sólidas já era bastante conhecido pela comunidade científica desde o fim do século XIX. A equação de Noyes-

Whitney que ainda é parte dos tratamentos matemáticos da dissolução foi primariamente desenvolvida em 1897 e posteriormente aprimorada entre os anos de 1900 a 1903, mas foi somente em 1951 o primeiro relato do uso do conceito de dissolução no contexto farmacêutico. Naquela ocasião, Edwards propôs que a dissolução de ácido acetil salicílico presente em um comprimido era fator determinante para sua ação farmacológica (MARCOLONGO 2003; DOKOUMETZIDIS, 2006).

Nas décadas seguintes, uma alta variabilidade nos efeitos clínicos de alguns medicamentos levou a investigações através de estudos de BD e ensaios de dissolução, destacando diferenças de eficácia e segurança clínica entre produtos com o mesmo princípio ativo em uma mesma FF (DOKOUMETZIDIS, 2006; PORTA 2013).

Em um exemplo de destaque, foi detectado que a lactose (um dos excipientes utilizados em uma formulação testada) aumentou a taxa de dissolução de fenitoína a partir de comprimidos, em comparação ao excipiente sulfato de cálcio. Resultando em altos níveis séricos do ativo, excedendo o índice terapêutico. Em outro exemplo, devido à problemas na manufatura de comprimidos de talbutamida comercializados no Canadá, um longo tempo de desintegração da FF era responsável por uma diminuição da BD do fármaco (DOKOUMETZIDIS, 2006).

Os ensaios de dissolução dos medicamentos testados mostraram diferenças significativas entre os perfis de dissolução. Em resposta a esses resultados, em 1970 o ensaio de dissolução utilizando o aparato de “cestas” foi oficialmente aceito na USP e rapidamente se tornou uma importante ferramenta para o controle de qualidade de medicamentos (DOKOUMETZIDIS, 2006).

3.5.1. Aparatos de dissolução

Oficialmente, a USP adota 7 aparatos para ensaios de dissolução de FF: “Cestos”, “pás”, “cilindros recíprocos”, “células de fluxo”, “pás sobre discos”, “cilindros rotatórios” e “suportes recíprocos” (UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2011).

Em todos os casos o objetivo destes aparatos é possibilitar a quantificação do fármaco dissolvido a partir de uma FF em função do tempo e possuem uma padronização física que é avaliada através de calibrações onde se verifica a presença de vibrações, o posicionamento das cubas e células, a velocidade de agitação, imersões e fluxo e demais aspectos inerentes ao equipamento de dissolução que podem comprometer a uniformidade da hidrodinâmica em cada cuba ou célula que compõe o aparato (MARCOLONGO, 2003).

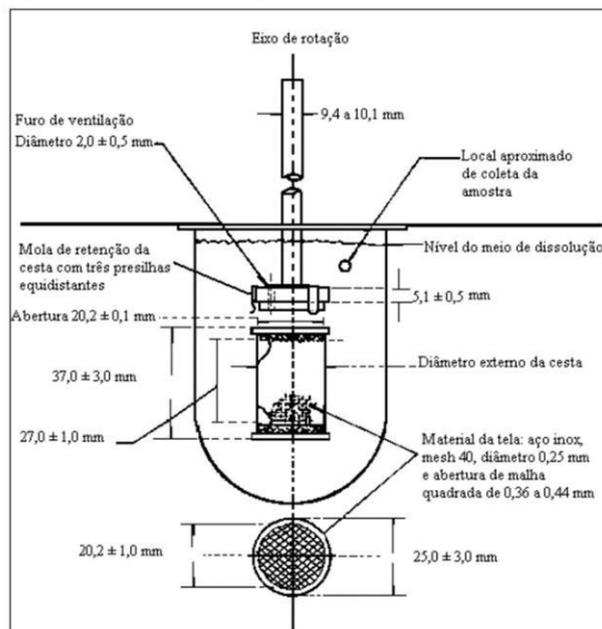
Propostas de modificações nos aparatos vigentes, bem como o desenvolvimento de novos aparatos são bastante difundidos na literatura científica. Geralmente, estes trabalhos visam contornar problemas apresentados pelos métodos farmacopeicos ou mesmo desenvolver métodos de dissolução de FF's que ainda não o possuem de maneira consolidada e padronizada, tais como implantes transdérmicos, pastilhas orais, *stents* farmacológicos, microesferas, lipossomas e nanopartículas (GAO & WESTENBERGER, 2012; MUSIAL & MIELCK, 2009; ADROVER & NOBILI, 2015; SEIDLITZ et. al., 2011; CHATTARAJ & KANFER, 1996; MORAIS & BURGESS, 2014).

3.5.1.1. Cestos e pás

O aparato dos cestos foi o primeiro a ser incluído na USP e é adotado por diversas outras farmacopeias, como a britânica, a europeia, a japonesa e a brasileira (MARCOLONGO, 2003).

Consiste de um conjunto de cubas cilíndricas de vidro transparente com fundo arredondado que contêm o meio de dissolução. A cada cuba corresponde uma haste móvel em cuja extremidade existe um cesto cilíndrico composto por uma tela e no qual será colocada a FF. A haste é movimentada para introduzir o cesto na cuba com meio de dissolução. O conjunto de cubas estará mergulhada em um banho de aquecimento com temperatura constante sendo que cada cuba tem sua cobertura, para evitar evaporação do meio, mas com aberturas para possibilitar a coleta de amostras do meio de dissolução. Um motor ligado à outra extremidade da haste de metal a permite rotacionar em uma velocidade programada, medida em rotações por minuto (RPM) (Figura 2) (MARCOLONGO, 2003; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2011).

Figura 2- Aparato de dissolução “Cestos”

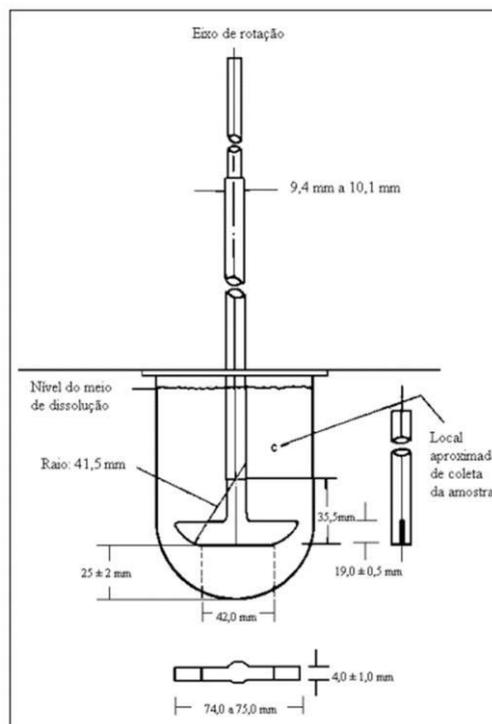


Fonte: Farmacopeia brasileira 5ª Edição (2010).

A confinação da FF dentro do cesto é uma vantagem desse método, pois garante a submersão de FF's com tendência à flutuação. Por outro lado, a obstrução dos orifícios do cesto é uma de suas desvantagens (MARCOLONGO, 2003; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2011).

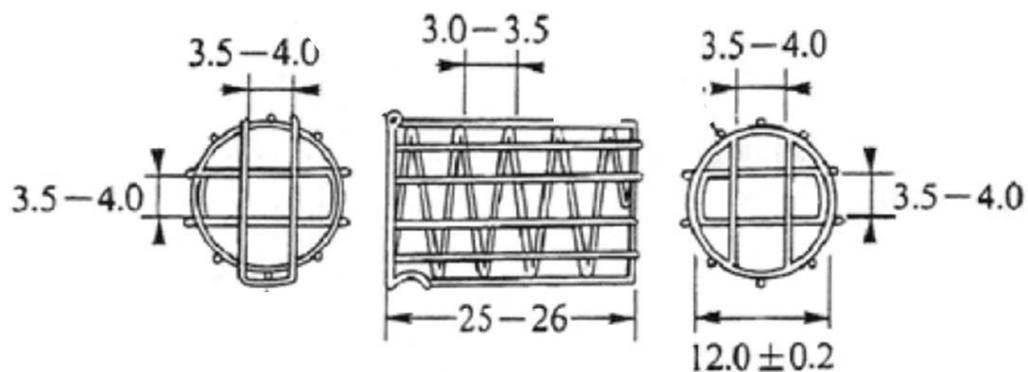
O aparato das pás foi introduzido na USP em 1975 para suprir a desvantagem da obstrução da malha que compõe os cestos, é também adotado pelas farmacopeias britânica, europeia, japonesa, brasileira e outras. Este aparato se assemelha ao método dos cestos, excluindo-se o próprio cesto, que é trocado por uma pá disposta a um ângulo de 90° em relação à haste (Figura 3) (DOKOUMETZIDIS, 2006; MARCOLONGO, 2003; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2011).

Figura 3- Aparato de dissolução “pás”



Fonte: Farmacopeia brasileira 5ª Edição (2010).

Para análise de FF's com tendência a flutuação, existe um dispositivo conhecido como *sinker* (figura 4) que pode ser utilizado nos ensaios envolvendo o aparato "pás". Os "sinks", são molas helicoidais metálicas que confinam a FF em seu interior, permitindo sua completa submersão (MARCOLONGO, 2003; UNITED STATES PHARMACOPOEIA, 2011).

Figura 4- Exemplo de *sinker*- "Cesta japonesa"

Fonte: Adaptado de Farmacopeia americana.

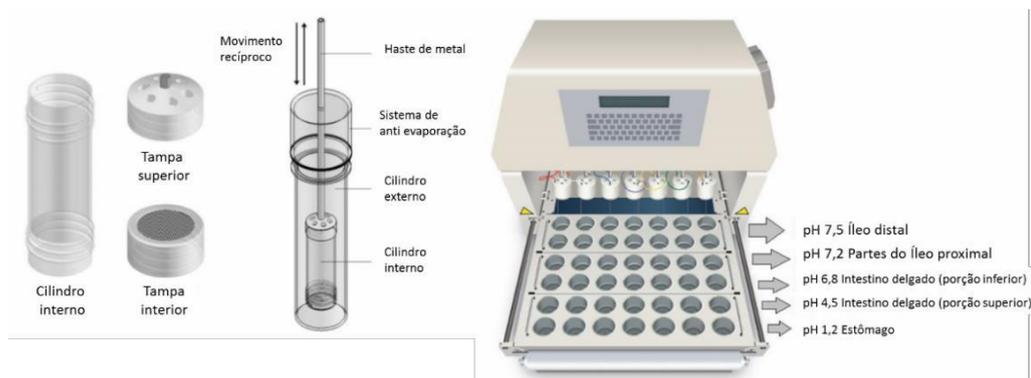
3.5.1.2. Cilindros recíprocos

O aparato “cilindros recíprocos” surgiu em 1980 como uma alternativa para contornar um problema apresentado pelos aparatos “cestos” e “pás”, que operam em sistemas fechados com um único meio de dissolução, cujo volume é fixo. Estas características representam uma dificuldade em simular a passagem de FFLM pelo TGI (DOKOUMETZIDIS, 2006; MARCOLONGO, 2003).

Descrito como o terceiro aparato de dissolução das farmacopeias americana e brasileira, os cilindros recíprocos não são descritos nas farmacopeias europeia, britânica e japonesa. Se trata de um conjunto de hastes cuja extremidade apresenta um pequeno cilindro onde é posicionada a FF. Na porção inferior deste cilindro uma malha permite a entrada dos meios de dissolução presentes em cubas dispostas em variadas fileiras horizontais (MARCOLONGO, 2003; PEZZINI et al., 2015).

Na extremidade superior das hastes, um motor exerce um movimento vertical, mergulhando o pequeno cilindro e, conseqüentemente, a FF no meio de dissolução. É possível variar a velocidade de submersão e emersão dos cilindros e os meios de dissolução em cada fileira de cubas, de modo que podem ser simulados o gradiente de pH encontrado no TGI e os estados pré e pós-prandiais (Figura 5) (PEZZINI et al., 2015).

Figura 5- Aparato de dissolução “cilindros recíprocos”



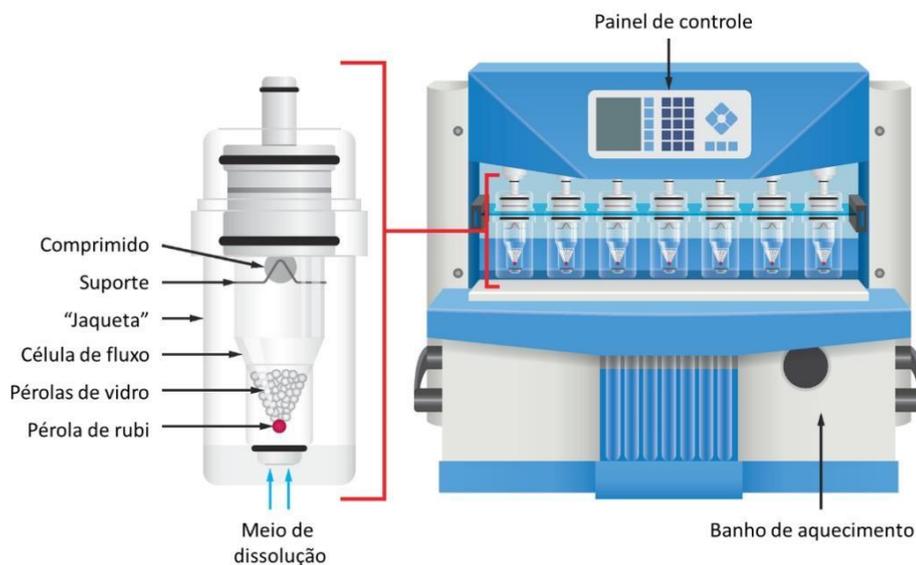
Fonte: Adaptado de PEZZINI et. al. (2015).

3.5.1.3. Células de fluxo

O quarto aparato descrito pelas farmacopeias americana e brasileira e o terceiro aparato descrito pelas farmacopeias europeia, britânica e japonesa é conhecido como células de fluxo, surgido em 1990, consiste de um conjunto de células (célula de fluxo), bombas e um banho de aquecimento. As FF's são colocadas no interior das células de fluxo que são produzidas de material transparente e inerte, podendo ter tamanhos variados. Além do medicamento, também são alocadas no interior das células, pérolas de vidro (cujo uso é facultativo) e uma esfera de plástico com diâmetro de 5 mm (chamada de pérola de rubi), que tem a função de impedir o refluxo do meio de dissolução (JINNO et al., 2008; MARCOLONGO, 2003).

As células de fluxo são posicionadas verticalmente, sendo que o meio de dissolução é bombeado estabelecendo um fluxo vertical, que se inicia na base da célula, onde ficam as pérolas de rubi e de vidro (quando são utilizadas) (Figura 6) (LOONEY, 1996; FOTAKI et al., 2009).

Figura 6- Aparato de dissolução “célula de fluxo”



Fonte: Próprio autor.

O aparato pode ser utilizado como sistema aberto, quando o meio de dissolução passa pelo o interior da célula e é descartado em seguida, ou ainda

como um sistema fechado, quando o meio de dissolução retorna à célula após passar pelo seu interior, completando uma recirculação (FOTAKI et al., 2009).

As vantagens da célula de fluxo são a possibilidade do emprego de variados meios de dissolução, simulando a passagem da FF pelo TGI e a alternativa pelo sistema aberto de fluxo, garantindo a condição *sink* por todo o ensaio, isto é, a garantia da não saturação do fármaco no meio de dissolução (FOTAKI et al., 2009).

3.5.1.4. *Pás sobre discos, cilindros rotatórios e suportes recíprocos*

Com o advento dos sistemas transdérmicos de liberação de fármacos, ainda na década de 1990 surgiram três aparatos de dissolução indicados para a análise dessas FF's. O quinto aparato da farmacopeia americana e também descrito pelas farmacopeias europeia e britânica se baseia no aparato "pás" com uma adaptação que se trata de um disco de aço inoxidável posicionado no fundo da cuba. O adesivo é alocado acima desse disco paralelamente à pá, que rotaciona logo acima da superfície onde se encontra o fármaco (MARCOLONGO, 2003).

O cilindro rotatório, previsto pelas farmacopeias americana, europeia e britânica substitui a pá por um cilindro rotatório que recebe o adesivo em sua face externa, enquanto que os suportes recíprocos, sétimo aparato da farmacopeia americana, se tratam de uma modificação dos cilindros recíprocos para que estes, possibilitem a análise de tais sistemas transdérmicos (MARCOLONGO, 2003).

3.6. DDDPLUS®

Com o passar dos anos, a importância dos ensaios de dissolução só aumentou, tornando-se uma ferramenta essencial não apenas no controle de qualidade, mas também no desenvolvimento de novas formulações por possibilitar a compreensão do comportamento do produto ao longo do TGI, considerar o impacto que a presença de alimentos têm sobre a BD de alguns fármacos, identificar possíveis interações entre fármaco/excipientes da

formulação teste e auxiliar no estabelecimento de uma dose terapêutica (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Durante o desenvolvimento de novas formulações, é muito comum utilizar um planejamento estatístico considerando diversas combinações entre o fármaco e excipientes. As diferentes formulações resultantes deste planejamento estatístico são submetidas a diversos testes, entre eles, ensaios de dissolução (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Entretanto, a simulação dos ensaios de dissolução através de programas computacionais ainda era pouco explorada até a primeira metade da década de 2000, quando a Simulations Plus® comercializou a primeira versão do *software* DDDPlus® em 2005 (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Até o presente momento, o DDDPlus® é o único programa comercial de computador dedicado exclusivamente para simular ensaios de dissolução, podendo simular diversos ensaios com o resultado de um único ensaio *in vitro* (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Tal programa utiliza integrações numéricas de um conjunto de equações que caracterizam o comportamento de solutos (seja fármaco ou excipientes) de uma formulação no meio de dissolução, levando em consideração algumas características do produto em análise (SIMULATIONS PLUS, 2016; DUQUE, 2016):

- Tamanho de partícula, pKa, solubilidade, coeficiente de difusão e densidade de cada componente da formulação;
- Propriedades do processo de produção para formulações de liberação imediata;
- Características hidrodinâmicas de cada aparato de dissolução;
- Interações entre fármaco/excipiente
- Tendência à formação de micelas pela incorporação de tensoativos presentes no meio de dissolução;
- Solubilidade ou dissolução dependente do valor de pH e/ou tendência de precipitação do fármaco.

O *software* possui um banco de dados com as características citadas acima de diversos excipientes. Em contrapartida, para fármacos, o usuário deve fornecer ao programa as informações de pKa, solubilidade e densidade. Diante do exposto, uma formulação é simulada no *software*, podendo ser de liberação imediata ou modificada. Para cada tipo de FF, o programa utiliza a equação mais adequada para simular o ensaio de dissolução entre as equações presentes no programa (SIMULATIONS PLUS, 2016).

3.6.1. Formas farmacêuticas de liberação imediata

Antes de simular a liberação do fármaco a partir de uma FF, o programa DDDPlus® utiliza uma equação para definir a influência de cada excipiente na desintegração da FF para simular um ensaio de dissolução, posteriormente. A etapa de desintegração é caracterizada pela quebra da FF em partículas menores devido à permeação do meio de dissolução através da FF (Equação 2) (SIMULATIONS PLUS, 2016).

$$\frac{dM_{ND}}{dt} = -DE * \left(\frac{\varepsilon}{\tau}\right) * v * \left(\frac{1}{L_{comprimido}}\right) * M_{ND} \quad (2)$$

Onde: M_{ND} é a quantidade (mg) de soluto (fármaco ou excipiente) não dissolvido; DE é a constante de desintegração; ε é a porosidade do comprimido; τ é a força de compressão; v é a velocidade do meio de dissolução (cm/min.) e $L_{comprimido}$ são as medidas do comprimido.

Para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata, o fenômeno da dissolução do fármaco ocorre após a etapa de desintegração da FF e é fortemente afetada por ela. O programa permite o uso de 5 equações para simular a dissolução de partículas após a desintegração (SIMULATIONS PLUS, 2016).

a) *Modelo de Nernst- Brunner*- Também conhecido como modelo de camada de difusão, se trata de uma adaptação realizada por Nernst e Brunner da clássica teoria de Noyes e Whitney. Amplamente utilizado, esse modelo propõe que uma fina camada estática de líquido é formada na superfície do

soluto, de modo que a difusão através desta camada é mediada por gradiente de concentração (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Segundo esse modelo, a difusão através de uma partícula esférica é dada isotropicamente quando há agitação do solvente, sendo constante ao longo da camada de difusão que também possui uma espessura constante. Durante a dissolução, um estado estável é alcançado quando as taxas de transporte de massa através das superfícies interna e externa são consideradas iguais (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Deste modo, o DDDPlus® emprega a seguinte equação para descrever o modelo de dissolução proposto por Nernst Brunner (Equação 3) (SIMULATIONS PLUS, 2016):

$$\frac{dM_U}{dt} = - \left[\frac{3D\gamma}{hr\rho} \left(C_S - \frac{M_D}{V} \right) \right] M_U \quad (3)$$

Onde: M_U é a quantidade de fármaco não dissolvido, M_D é a quantidade de fármaco dissolvido (mg), D é o coeficiente de difusão do componente (fármaco ou excipiente) ($\text{cm}^2/\text{min.}$), γ é constante de calibração, h é a espessura da camada de difusão (cm), r é o raio da partícula (microns), ρ é a densidade do componente (mg/mL), C_S é a solubilidade na superfície da camada do componente e V é o volume do meio de dissolução (mL).

b) *Modelo esférico de Johnson-* Utiliza como base a teoria proposta por Nernst e Brunner, aprimorada por Dressman e Fleisher e posteriormente, modificada por Lu e colaboradores. Insere a variação do tamanho de partícula ao longo do ensaio na equação (Equação 4) (SIMULATIONS PLUS, 2016):

$$\frac{dM_U}{dt} = - \left[\frac{3D\gamma}{h_i r_{oi} \rho} \left(C_S - \frac{M_{Dt}}{V} \right) \right] (M_{Uoi})^{\frac{1}{3}} (M_{Ui})^{\frac{2}{3}} \quad (4)$$

Onde: M_U é a quantidade de fármaco não dissolvido, D é o coeficiente de difusão do componente (fármaco ou excipiente) ($\text{cm}^2/\text{min.}$), γ é constante de calibração, h é a espessura da camada de difusão (cm), r_0 é o raio inicial da partícula (microns), ρ é a densidade do componente (mg/mL), C_S é a solubilidade na superfície da camada do componente, t é tempo, V é o volume do meio de dissolução (mL), M_{U0} é a quantidade inicial do componente (fármaco ou excipiente) (mg).

c) *Modelo cilíndrico de Johnson-* Lu e colaboradores redefiniram o modelo de Nernst e Brunner para um modelo matemático que considerasse a dissolução de partículas não esféricas devido ao fato de que durante o processo

de produção de novos produtos, as partículas tendem a mudar sua forma geométrica, tornando-se cilíndricas, planas ou mesmo pontiagudas. A equação adotada pelo programa é apresentada a seguir (Equação 5) (SIMULATIONS PLUS, 2016):

$$\frac{dM_{Ui}}{dt} = - \left[\frac{D\gamma}{h_i r_{0i} \rho} \left(C_S - \frac{M_{Dt}}{V} \right) \right] (M_{U0i})^{\frac{1}{3}} (M_{Ui})^{\frac{2}{3}} \frac{(1+2S)}{S} \quad (5)$$

Onde: M_U é a quantidade de fármaco não dissolvido, D é o coeficiente de difusão do componente (fármaco ou excipiente) ($\text{cm}^2/\text{min.}$), γ é constante de calibração, h é a espessura da camada de difusão (cm), r_0 é o raio inicial da partícula (microns), ρ é a densidade do componente (mg/mL), C_S é a solubilidade na superfície da camada do componente, t é tempo, V é o volume do meio de dissolução (mL), M_{U0} é a quantidade inicial do componente (fármaco ou excipiente) (mg).

d) *Modelo de transferência de massa*- Os três modelos citados anteriormente não consideram que mudanças na hidrodinâmica podem causar diferenças no processo de dissolução de partículas. Deste modo, a Simulations Plus® desenvolveu uma equação que considera o fenômeno de dissolução um processo de transferência de massa de superfícies regulares. Nessa equação, a FF não é completamente dissolvida sob convecção forçada em fluxo laminar ou turbulento (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Assim, a quantidade transferida de soluto em solvente é proporcional à diferença de concentração e à área interfacial. As partículas não dissolvidas têm formato esférico, a velocidade média do meio de dissolução é calculada a partir da velocidade do aparato, estabelecendo uma correlação entre ambas. O movimento das partículas na cuba é dependente de seus tamanhos (Equação 6) (SIMULATIONS PLUS, 2016).

$$k_i = \frac{D}{2r_i} \left(2 + 0,6 * \left(\frac{2r_i \rho V_{meio} \left(\frac{r_i}{r_{ref}} \right)}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\mu}{D\rho} \right)^{\frac{1}{3}} \right) \quad (6)$$

Onde: D é o coeficiente de difusão do componente (fármaco ou excipiente) ($\text{cm}^2/\text{min.}$), r é o raio para cada partícula (microns), ρ é a densidade da água (1 g/mL), V_{meio} é a velocidade do meio mensurada a partir da velocidade de agitação do aparato utilizado, r_{ref} é o valor de raio de referência para cada partícula (microns) e μ é a viscosidade dinâmica do meio de dissolução ($\text{g cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$). A letra “i” subscrita é o coeficiente de transferência de massa para cada área espaçada na distribuição do tamanho de partícula.

3.6.2. Formas Farmacêuticas de Liberação Modificada por matriz polimérica.

A simulação da liberação de fármacos a partir de comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica é contemplada pelo DDDPlus®, que considera dois modelos para tal simulação: Comprimidos cujo polímero não entumece e comprimidos cuja matriz polimérica entumece na presença do solvente (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Matriz polimérica (não entumecidas)- Aqui a substância ativa está dispersa em uma matriz que não entumece, permanecendo íntegra à medida que a liberação ocorre. O programa considera a equação clássica desenvolvida por Higuchi, nela, a liberação do fármaco é diretamente proporcional à raiz quadrada do tempo (Equação 7) (SIMULATIONS PLUS, 2016).

$$M_t = SA * \gamma * \sqrt{\frac{\varepsilon * D * (2A - \varepsilon C_s) * C_s}{\tau}} * t^{0,5} \quad (7)$$

Onde: SA é a área superficial da matriz (cm²), γ é a constante de calibração, D é o coeficiente de difusão do fármaco (cm²/min.), A é a quantidade de fármaco pelo volume (mg/cm³) e os fatores dimensionais porosidade (ε) e tortuosidade (τ) compõem a propriedade estrutural da matriz.

O modelo apresentado acima sofreu algumas modificações para simular a liberação de variados tipos de polímeros empregados nas formulações de FFLM, usando uma média ponderada (Equação 8) (SIMULATIONS PLUS, 2016)

$$M_t = \sum_i SA * \gamma_i * x_i * \sqrt{\frac{\varepsilon * D * (2A - \varepsilon C_s) * C_s}{\tau}} * t^{0,5} \quad (8)$$

Onde: SA é a área superficial da matriz (cm²), γ_i é constante de calibração para o polímero, x_i é a fração de massa do polímero na matriz, D é o coeficiente de difusão do fármaco (cm²/min), A é a quantidade de fármaco pelo volume (mg/cm³), C_s é a solubilidade do fármaco no solvente (mg/mL) e os fatores dimensionais porosidade (ε) e tortuosidade (τ) compõem a propriedade estrutural da matriz.

Matriz polimérica de entumescimento (modelo de erosão)- Para formas farmacêuticas de matriz polimérica que liberam a fármaco após o entumescimento da mesma, o DDDPlus® considera a equação matemática desenvolvida por Krosmeier e Peppas que considera a cinética de entumescimento e erosão da matriz e, conseqüentemente, o comportamento de dissolução do fármaco. Em uma situação típica, o entumescimento da matriz é exponencial cuja potência varia entre 0,5 e 1 para erosão e entumescimento maior que 1 para a erosão (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Este modelo considera que o polímero tem o formato de uma esfera com diâmetro de $\sqrt{6} * R_g$ (onde R_g é o raio). A matriz não se desintegra, apenas erode. O fármaco presente na matriz está acima do limite de solubilidade e o coeficiente de difusão é constante durante a simulação (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Assim, o programa definiu um modelo matemático que possibilite ser empregado para explicar a cinética de dissolução de vários polímeros que formam diferentes matrizes através de uma média ponderada em massa (Equação 9) (SIMULATIONS PLUS, 2016):

$$M_t = \sum_i SA * \gamma_i * x_i \sqrt{\frac{\varepsilon * D * (2A - \varepsilon C_s) * C_s}{\tau}} * t^{n_i} \quad (9)$$

Onde: AS é a área superficial da matriz (cm²), γ_i é a constante de calibração do polímero, x_i é a fração de massa do polímero na matriz, D é o coeficiente de difusão do fármaco (cm²/min), A é a quantidade de fármaco pelo volume (mg/cm³), C_s é a solubilidade do fármaco no solvente (mg/mL) e os fatores dimensionais porosidade (ε) e tortuosidade (τ) compõem a propriedade estrutural da matriz, n_i é o expoente de liberação para o polímero.

Através do módulo “*optimization*” do programa, é possível otimizar qualquer parâmetro referente a qualquer componente da formulação simulada (por exemplo: Tamanho de partícula, quantidade, densidade e etc), tomando como referência o resultado de um ensaio de dissolução *in vitro* (DUQUE, 2016). Assim, a otimização é um ajuste automático de um ou mais parâmetros em execução para minimização do erro (SIMULATIONS PLUS, 2016).

Um dos parâmetros que podem ser otimizados é denominado como “constante de calibração” (CC) e é utilizado em todos os modelos matemáticos citados anteriormente. Trata-se de um fator de correção sem unidade definida

que permite aos modelos de dissolução simular a extensão da taxa de dissolução para um componente específico da formulação (SIMULATIONS PLUS, 2016).

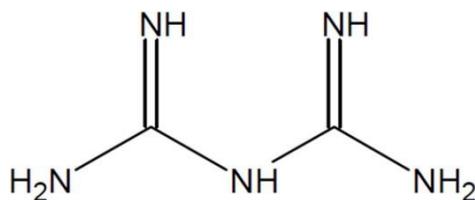
Os valores de CC dos componentes da formulação obtidos após a otimização de um ensaio *in vitro*, são utilizados para simular os diferentes ensaios de dissolução previstos por um planejamento estatístico para aquela formulação (DUQUE, 2016; SIMULATIONS PLUS, 2016).

3.7. METFORMINA

A metformina (Figura 7) é o fármaco hipoglicemiante oral de primeira escolha para o tratamento da diabetes melitus tipo 2, pertencente ao grupo das biguanidas. Possui alta solubilidade em água (maior que 300mg/mL a 25 °C) com BD oral de 40 a 60%, classificando-se à classe III da SCB com valores de pKa de 2.8 e 11.5 (PORTA et al., 2007; GOODMAN & GILMAN, 2012; OFORI-KWAKYE et al., 2015).

O exato mecanismo de ação da metformina ainda não está bem elucidado. É comercializada em forma do sal cloridrato de metformina, apresentado na forma de comprimidos de liberação imediata (nas dosagens de 500mg e 850mg) ou modificada por matriz polimérica (nas dosagens de 500mg, 750mg e 1g) que tem a capacidade de manter os níveis plasmáticos do fármaco por 10 a 16 horas (PORTA, 2007; MANDAL & PAL, 2008; GOODMAN & GILMAN, 2012; BRASIL, 2017c).

Figura 7- Fórmula molecular de metformina



Fonte: Próprio autor.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. FÁRMACO

Empregou-se cloridrato de metformina fornecido por Genix Indus. Farmacêutica LTDA, São Paulo, SP, Brasil. Lote MH/08207/09, fabricado em 31/07/2014.

4.2. MÉTODO ANALÍTICO

A quantificação do cloridrato de metformina foi realizada por determinação da absorbância em espectrofotômetro DU 640 (Beckman Coulter Inc., Brea, California, EUA) com caminho ótico de quartzo de 2mm em comprimento de onda de 232nm.

4.2.1. Linearidade

A linearidade de um método analítico corresponde à proporcionalidade entre a resposta e a concentração de analito de uma amostra. A correlação se dá empiricamente por meio de sinais medidos e cálculos matemáticos. Por meio da relação matemática pode-se expressar equação de reta denominada por curva analítica (RIBANI, 2004).

Para determinação da linearidade, 25mg do fármaco foram pesados analiticamente e transferido para balão volumétrico de 25mL, que foi completado com meio de dissolução (solução tampão no valor de pH 6,8) formando solução estoque na concentração de 1mg/mL. A partir deste estoque, foram preparadas soluções de concentrações menores e seriadas no intervalo de concentração de 10 a 65 µg/mL para a determinação da absorbância.

4.2.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

Os limites de detecção e quantificação correspondem a menor concentração de uma amostra a ser detectada e quantificada (BRASIL, 2010; USP 2011).

O LQ foi avaliado por meio da análise de diferentes concentrações do cloridrato de metformina até o menor valor para o qual o método apresentou valores de precisão e exatidão adequados, considerando a equação 10 (BRASIL, 2010; USP 2011).

$$LQ = \frac{DP}{IC} \times 10 \quad (10)$$

Onde: DP é o desvio padrão do intercepto com o eixo y das 3 curvas de calibração e IC é a inclinação da curva de calibração.

Já o LD do método foi estimado baseado nos resultados dos cálculos de regressão linear de três curvas de calibração que foram construídas com as concentrações próximas ao limite de quantificação, sendo expresso pela Equação 11 (BRASIL, 2010):

$$LD = \frac{DP}{IC} \times 3,3 \quad (11)$$

Onde: DP é o desvio padrão do intercepto com o eixo y das 3 curvas de calibração e IC é a inclinação da curva de calibração.

4.2.3. Teste dos filtros

Foram avaliadas possíveis interações da metformina com o filtro utilizado nos ensaios de dissolução. Para tanto, foi utilizada uma solução tampão fosfato pH 6,8 contendo concentrações conhecidas de fármaco (1mg/mL; 5mg/mL e 10mg/mL); esta solução foi diluída na solução citada e o fármaco foi quantificado em espectrofotômetro DU 640 (Beckman Coulter Inc., Brea, California, EUA) com caminho ótico de quartzo de 2mm em absorbância de 232nm. Foi testado filtro com abertura de 45 μ feito de polietileno e filtro com abertura de 0,45 μ feito de nylon, nas condições de não saturado (filtros novos) e saturados (quantificação realizada após passar 5mL da solução diluída pela membrana). As análises foram realizadas em triplicata e os dados de ASC foram convertidas em recuperação de fármaco através de curva analítica.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO

4.3.1. Pureza

A pureza do fármaco foi determinada por calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Foram pesados aproximadamente 2mg do fármaco em cadinho de alumínio que foi hermeticamente fechado e analisado em rampa de aquecimento de 160°C à 260°C sob razão de aquecimento de 2°C/min em atmosfera inerte de nitrogênio sob fluxo de 50mL/min. O equipamento foi calibrado com índium sob rampa de aquecimento de 25°C à 350°C sob a mesma razão de aquecimento e fluxo de nitrogênio. Passava ao teste, caso a amostra apresentasse pureza que compreendesse o intervalo de 98,5% a 101,0%, de acordo com as especificações da farmacopeia brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010).

4.3.2. Densidade verdadeira

A densidade verdadeira do cloridrato de metformina (Genix Indus. Farmacêutica LTDA, São Paulo, SP, Brasil) foi determinada utilizando ultrapicnômetro de hélio Ultrapycnometer 1000 (Quantachrome Instruments, Boynton Beach, Florida, EUA). Foram realizadas 5 análises sob vazão de hélio à 20 psi, utilizando o porta amostra médio, presente no próprio equipamento. Os três resultados com menor desvio são selecionados pelo equipamento para o cálculo da densidade média.

4.3.3. Solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado adicionando um excesso de amostra de cloridrato de metformina em frascos fechados contendo os meios de solubilização (soluções tampão nos valores de pH 1,2; 4,5; 5,8; 6,8 e 7,4) preparados com hidróxido de sódio (SinthLab, Diadema, São Paulo, SP), fosfato disódico monobásico anidro (SinthLab, Diadema, São Paulo, SP), ácido acético glacial (SinthLab, Diadema, São Paulo, SP) e ácido clorídrico (SinthLab,

Diadema, São Paulo, SP) conforme descrito na farmacopeia brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010). Os frascos foram agitados por 72 horas em agitador orbital Tecnal TE-420 (Piracicaba, São Paulo), a 37°C e com uma velocidade de rotação de 150 rpm. Após a agitação, as aliquotas coletadas dos frascos foram filtradas e diluídas 100 vezes (100 µL/10000 mL) em seus respectivos meios de solubilização antes da leitura em espectrofotômetro. A concentração do fármaco em mg/mL foi obtida a partir dos valores de absorvância, utilizando a regressão linear descrita anteriormente.

A solubilidade foi definida a partir do valor de D_0 .

4.4. FORMULAÇÕES

4.4.1. Formulações teste

Três formulações teste de comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica contendo cloridrato de metformina foram desenvolvidas e comprimidas por compressão direta na máquina de comprimir rotativa LM08D-Mini Express (Lemaq Ltda, Diadema, São Paulo, Brasil). Todas as formulações continham 500mg de metformina (51,7%) e 1% de estearato de magnésio, variando a quantidade de celulose microcristalina PH 102 (27,3%, 17,3% e 7,3%) e HPMC (Methocel® K4M CR PR, Colorcon Inc., Indaiatuba, São Paulo, Brasil) (20%, 30% e 40%). Para a compressão das formulações, foram utilizados punções de 14 polegadas cúbicas. A composição dos comprimidos é apresentada na tabela 1.

Tabela 1- Formulações teste de comprimidos de liberação modificada contendo cloridrato de metformina.

Formulação	Cloridrato de metformina (%/mg)	HPMC (%/mg)	Estearato de magnésio (%/mg)	Celulose microcristalina PH 102 (%/mg)	Total (%/mg)
T1	51,7% (500mg)	20% (193,4mg)	1% (9,67mg)	27,3% (264mg)	100% (967,1)
T2	51,7% (500mg)	30% (290,1mg)	1% (9,67mg)	17,3% (167,3mg)	100% (967,1)
T3	51,7% (500mg)	40% (386,8mg)	1% (9,67mg)	7,3% (70,6mg)	100% (967,1)

4.4.1.1. Doseamento de metformina em comprimidos das formulações T1, T2 e T3

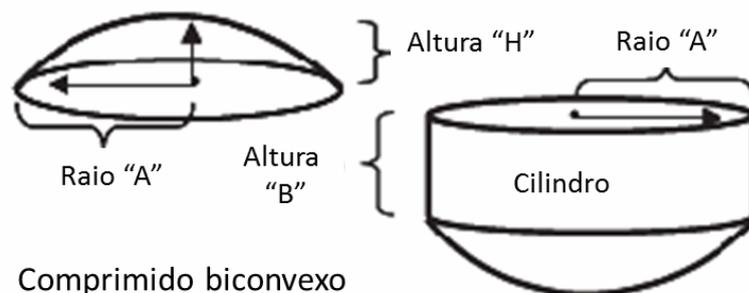
O doseamento foi realizado em triplicata como descrito na farmacopeia brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010). Vinte comprimidos de cada formulação (T1, T2 e T3) foram pesados e pulverizados. Em seguida, uma quantidade de pó equivalente a 100 mg do fármaco foi transferido para balão volumétrico de 100 mL e solubilizado em 70 mL de água destilada. O volume foi completado com o mesmo solvente e filtrado. Foram coletadas alíquotas desse volume inicial e diluídas até a concentração de 0,001% (p/v). As absorbâncias foram tomadas em 232 nm, utilizando água destilada para o ajuste do branco.

4.4.1.2. Dimensões dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3

As medidas foram tomadas com o auxílio de um paquímetro analógico 530 series (Mitutoyo Corp., Kawasaki-shi, Kanagawa, Japão). Uma vez que os punções utilizados na compressão formaram comprimidos biconvexos, as medidas analisadas foram: a) raio do diâmetro total do comprimido (denominado como "A" pelo programa); b) altura do cilindro central do comprimido

(denominado como “B” pelo programa) e c) altura de uma das porções convexas do comprimido (denominado como “H” pelo programa) (Figura 8).

Figura 8- Medidas dos comprimidos analisados



Fonte: Adaptado de SIMULATIONS PLUS (2016).

Vinte comprimidos foram utilizados para tomar as medidas citadas acima.

4.4.2. Formulações comerciais

Afim de comparar os perfis de dissolução das formulações teste com outros comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica contendo metformina, foram adquiridos produtos do mercado, sendo um produto referência, dois produtos genéricos e um produto similar (Tabela 2).

Tabela 2- Produtos do mercado de comprimidos de liberação modificado contendo metformina.

Medicamento	Nome	Fabricante	Abreviação
Referência	Glifage XR [®] 500mg	Merck [®] AS	P1
Genéricos	Metformina 500mg	Merck [®] AS	P2
	Metformina 500mg	Prati Donaduzzi [®] & Cia Ltda	P3
Similar	Metta SR [®] 500mg	Torrent Pharmaceuticals [®] Ltd.	P4

4.5. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

4.5.1. Condições dos ensaios de dissolução

Os ensaios de dissolução foram realizadas conforme planejamento fatorial 2² obtido a partir do emprego do programa Statistica® 12.0 (Dell Inc., Aliso Viejo, California, EUA). Empregou-se aparato 2 da USP, modelo 708 DS (Agilent Tech., Santa Clara, California, EUA) com coletor automático (Varian Inc., Cary, North Carolina, EUA), sendo as diferentes velocidades das pás (25 e 50RPM) os dois fatores e o uso ou ausência de *sinkers* (*sinker*) os dois níveis (Tabela 3), ainda empregando o mesmo programa estatístico, foi avaliado qual variável exercia maior influência na liberação do fármaco a partir das FF's.

Tabela 3- Planejamento fatorial para desenvolvimento de método de dissolução para comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica contendo metformina.

Ensaio	Velocidade das Pás (RPM)	Uso do <i>sinker</i>
E1	50	Sim
E2	25	Sim
E3	50	Não
E4	25	Não

A escolha pelo aparato “pás” neste trabalho, se deu por estarmos avaliando comprimidos e o uso de *sinker* pela sua influência na superfície de contato das FF's com o meio de dissolução.

A duração de E1, E2, E3 e E4 foi de 24 horas, com coleta de 8 alíquotas nos tempos 1h; 2h; 4h; 6h; 8h; 10h; 12h e 24h sem reposição do meio de dissolução (solução tampão fosfato pH 6,8), estas alíquotas foram diluídas 19 vezes em meio de dissolução citado antes da quantificação do fármaco em espectrofotômetro DU 640 (Beckman Coulter Inc., Brea, California, EUA) com caminho ótico de quartzo de 2mm em absorvância de 232 nm.

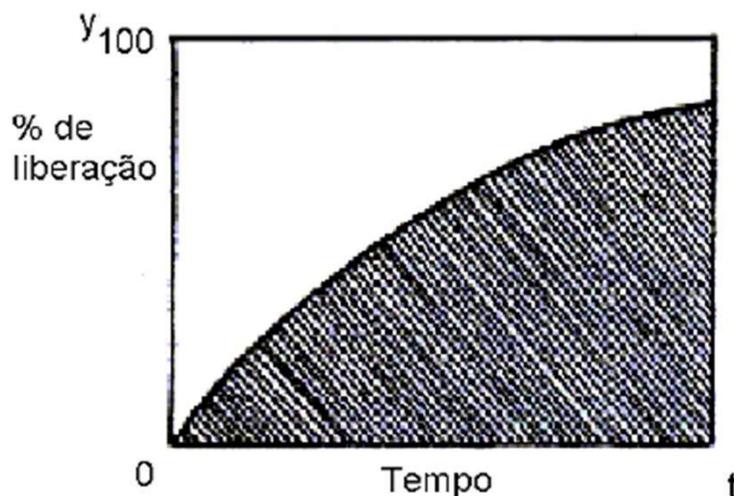
4.5.2. Avaliação dos perfis de dissolução.

Para o cálculo de fator de semelhança (f_1), fator de diferença (f_2), tempo médio de dissolução (MDT) e eficiência de dissolução (ED), dos ensaios *in vitro* e *in silico* foi utilizado o software DDSolver[®]. Apenas os resultados dos pontos de coleta de 1h; 2h; 4h; 6h; 8h e 10h, conforme recomendação da resolução da diretoria colegiada n° 31 de agosto de 2010, que preconiza a inclusão de apenas um ponto da curva após os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução do fármaco (BRASIL, 2010).

4.5.2.1. Eficiência de dissolução

Método descrito em 1972 por Khan e Rhodes, a ED é um cálculo que leva em conta a ASC do perfil de dissolução até um determinado tempo, onde a área do retângulo corresponde à dissolução de 100% deste tempo (Figura 9) (Equação 12) (KHAN & RHODES, 1972; MARCOLONGO, 2003).

Figura 9- Eficiência de dissolução



Fonte: MARCOLONGO (2003).

$$ED\% = \frac{\text{área sombreada} \cdot 100}{\text{retângulo } y_{100}} \quad (12)$$

4.5.2.2. Tempo médio de dissolução

O tempo médio de dissolução ou *mean dissolution time* (MDT) é a média aritmética de um perfil de dissolução (Equação 13) (RINAKI et. al., 2003; COSTA et. al., 2003; SANTOS, 2012).

$$MDT = \frac{\int_0^{\infty} (M_{\infty} - M(t)) dt}{M_{\infty}} \quad (13)$$

Onde: $W(t)$ é a quantidade acumulada do fármaco dissolvido no tempo t .

4.5.2.3. Fatores semelhança e diferença

Os fatores de f_1 e f_2 são recomendados por vários órgãos regulatórios para comparar perfis de dissolução. Avaliam a diferença entre a porcentagem de fármaco dissolvido a cada tempo de amostragem (MOORE & FLANNER, 1996; MARCOLONGO, 2003).

O fator f_1 é calculado pela seguinte equação (Equação 14):

$$f_1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \right\} * 100 \quad (14)$$

Onde: R_t é a porcentagem de fármaco dissolvido do produto de referência em um tempo t ; T_t é a porcentagem de fármaco dissolvido do produto teste em um tempo t e n é o número de coletas.

A equação é uma perturbação na fórmula de erro relativo, ou seja, permite encontrar a semelhança aproximada entre dois perfis de dissolução a partir de um perfil referência. Considera como erro zero, duas curvas idênticas, aumentando proporcionalmente com a diferença dos perfis. Valores entre 0 e 15 indicam semelhança entre os perfis (MOORE & FLANNER, 1996; MARCOLONGO, 2003).

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n w_t (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} * 100 \right\} \quad (15)$$

Onde: R_t é a porcentagem de fármaco dissolvido do produto de referência em um tempo t ; T_t é a porcentagem de fármaco dissolvido do produto teste em um tempo t ; n é o número de coletas e w_t é o fator de peso opcional.

O cálculo de f_2 é uma transformação logarítmica da soma do quadrado do erro. Resultado igual a 100 é obtido quando dois perfis são idênticos entre si, esse valor vai diminuindo a medida que a diferença entre os perfis de referência e teste vai aumentando, podendo chegar a zero. Dois perfis são considerados semelhantes caso o valor de f_2 for superior à 50 (MOORE & FLANNER, 1996; MARCOLONGO, 2003).

A comparação entre os perfis de dissolução dos produtos P2, P3 e P4 com o produto referência (P1), bem como a comparação entre os perfis de dissolução dos produtos comerciais e as formulações teste foi feito pelos modelos independentes fatores de diferença e similaridade (f_1 e f_2).

4.6. ENSAIOS *IN SILICO*

4.6.1. DDDPlus®

Os ensaios de dissolução *In silico* foram realizados empregando o programa de computador DDDPlus® versão 5.0 (Simulations Plus® Inc., Lancaster, California, EUA).

O programa é dividido em três abas principais:

1) A aba "*Formulation*" é destinada a simular formulações. Nela, é possível formular um medicamento considerando a forma farmacêutica, além de aspectos físico químicos de todos os componentes da fórmula (SIMULATION PLUS, 2016).

Foi criada uma base de dados para a metformina no programa, utilizando seu peso molecular e pKa (obtidos da literatura) e os dados de solubilidade e densidade verdadeira obtidos experimentalmente. As características físico químicas dos excipientes estavam arquivadas previamente em um banco de dados presente no *software*.

Deste modo, as formulações T1, T2 e T3 foram reproduzidas no programa, considerando as medidas obtidas e os componentes presentes em suas respectivas quantidades.

2) A aba “*Dissolution Method*” é destinada a programar os parâmetros do ensaio de dissolução que se deseja simular. Portanto, foi selecionado o aparato “pás”, o meio de dissolução solução tampão fosfato de potássio pH 6,8 (presente em um banco de dados no programa) e a velocidade de rotação das pás. Nesta aba não é possível simular o uso do *sinker* (SIMULATION PLUS, 2016).

3) Na aba “*Simulation*”, é onde está situado o comando de início da simulação. É também por esta aba que se informa o tempo total do ensaio a ser simulado em minutos (1440 para os ensaios deste trabalho). Foi selecionado o item “*Use pKa based solubility model*”, para que o programa utilizasse os valores de pKa do fármaco informados na aba “*Formulation*”.

Além das três abas citadas anteriormente, o software dispõe de outras ferramentas. No campo “*Load Tabulated Data*” os tempos de coleta e os resultados de um ensaio *in vitro* podem ser utilizados para otimizar uma simulação, isto é, ajustar automaticamente um ou mais parâmetros em execução para minimizar o erro (SIMULATION PLUS, 2016).

4.6.1.1. Obtenção dos perfis de dissolução das formulações

Os perfis de dissolução *in vitro* das formulações T1, T2 e T3 nas condições E1, E2, E3 e E4 foram usadas para obter as CC de metformina, HPMC, celulose microcristalina e estearato de magnésio por meio da ferramenta de otimização de simulação do software DDDPlus®.

Após a obtenção das CC, estas foram utilizadas para a obtenção de perfis de dissolução *in silico* de comprimidos matriciais contendo metformina. Tanto as CC obtidas a partir dos ensaios de dissolução *in vitro* que utilizaram *sinker* quanto aquelas obtidas a partir dos ensaios de dissolução *in vitro* que não usaram *sinker* foram empregadas para obter perfis de dissolução *in silico* de

comprimidos matriciais contendo metformina em aparato 2, com meio de dissolução tampão fosfato pH 6,8 e velocidades de rotação de 25 ou 50 RPM.

Após a obtenção dos perfis de dissolução *in silico*, eles foram comparados com o perfil observado *in vitro*. O resultado dessa comparação é expresso por um valor de R^2 , onde os números mais próximos a “1” (um) representam perfis simulados mais próximos ao seu análogo observado (SIMULATION PLUS, 2016).

Uma vez que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza o uso do fator de f_2 para a comparação entre dois perfis de dissolução, o DDDPlus[®] foi utilizado para cálculo de f_2 para cada comparação entre perfis *in vitro* e *in silico*. Para tanto, os pontos de 0h; 12h e 24h foram excluídos do cálculo, a fim de seguir as recomendações da ANVISA (BRASIL, 2010).

Ao final das comparações por R^2 e f_2 , os valores de ambos foram correlacionados por meio de regressão exponencial. Além disso, foi calculado a ED dos perfis simulados e tais valores foram comparados aos valores obtidos pelo cálculo de ED dos perfis de dissolução *in vitro*.

4.6.1.2. *Uso do DDDPlus[®] na comparação entre as formulações T1, T2 e T3 contra os produtos P1, P2, P3 e P4.*

Por método de f_2 , foi comparado perfis de dissolução *in vitro* do mercado (P1, P2, P3 e P4) com os perfis *in silico* das formulações T1, T2 e T3. Os resultados foram utilizados para avaliar a viabilidade do uso do software DDDplus[®] em análises comparativas de perfis de dissolução.

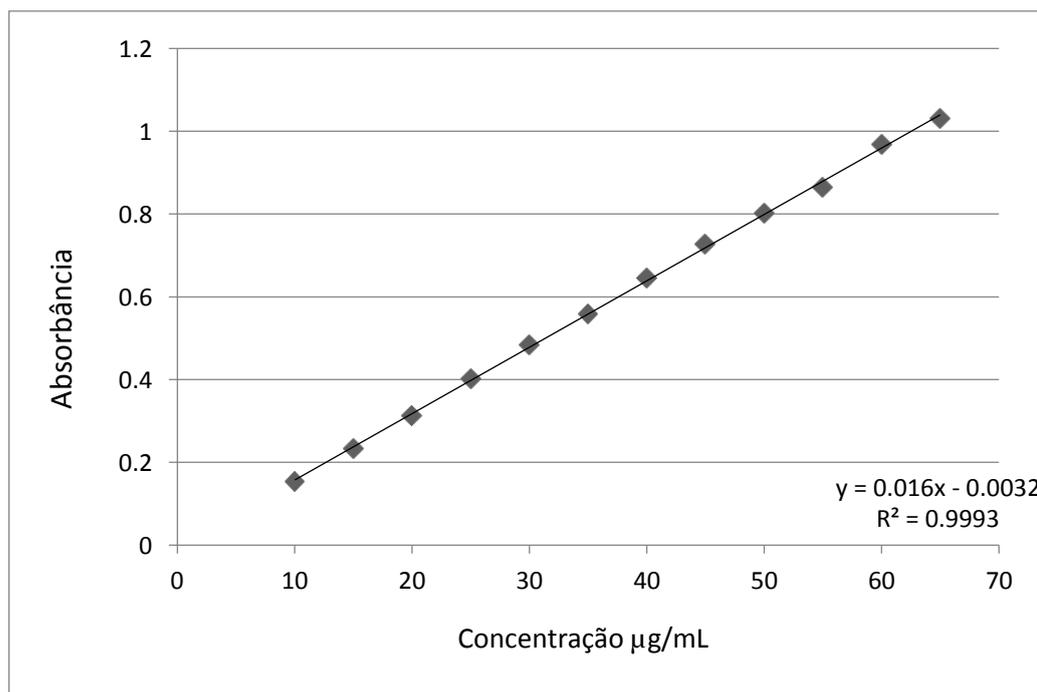
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. MÉTODO ANALÍTICO

5.1.1. Linearidade

A linearidade é apresentada na figura 10:

Figura 10- Linearidade do método para cloridrato de metformina.



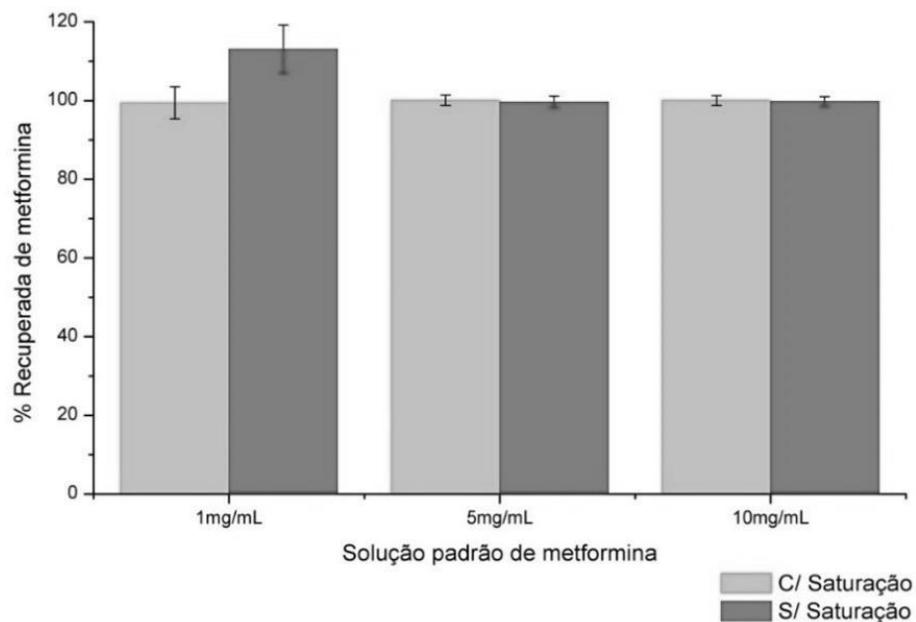
Fonte: Próprio autor.

5.1.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

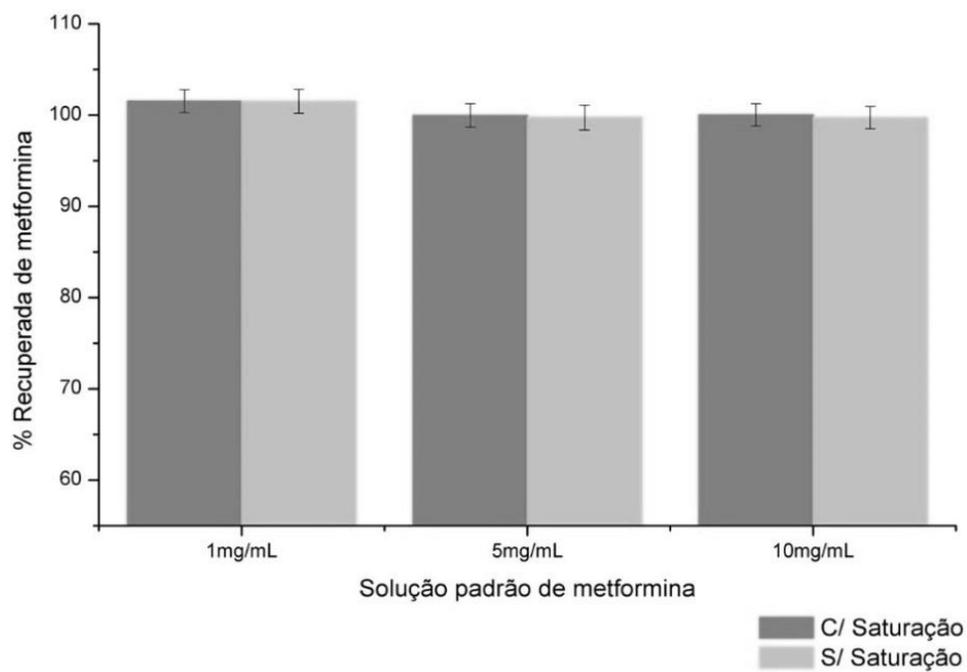
O LQ estimado do método para a detecção de cloridrato de metformina na absorbância de 232nm foi de 3,07µg/mL, enquanto que o valor estimado de LD foi de 1,01µg/mL. Valores superiores a estes são detectados com precisão e exatidão relacionando com sua sensibilidade (BRASIL, 2010; USP 2011).

5.1.3. Teste dos filtros

Os resultados obtidos (Figuras 11 e 12) indicam que ambos os filtros não interagem com a metformina, além disso, 5mL do fármaco é suficiente para saturar os filtros de polietileno e Nylon, com 100% de recuperação. Para este trabalho, foi escolhido os filtros de polietileno pela facilidade de aquisição e menor valor de compra.

Figura 11- Filtro de nylon 0,45 μ 

Fonte: Próprio autor.

Figura 12- Filtro de polietileno 45 μ 

Fonte: Próprio autor.

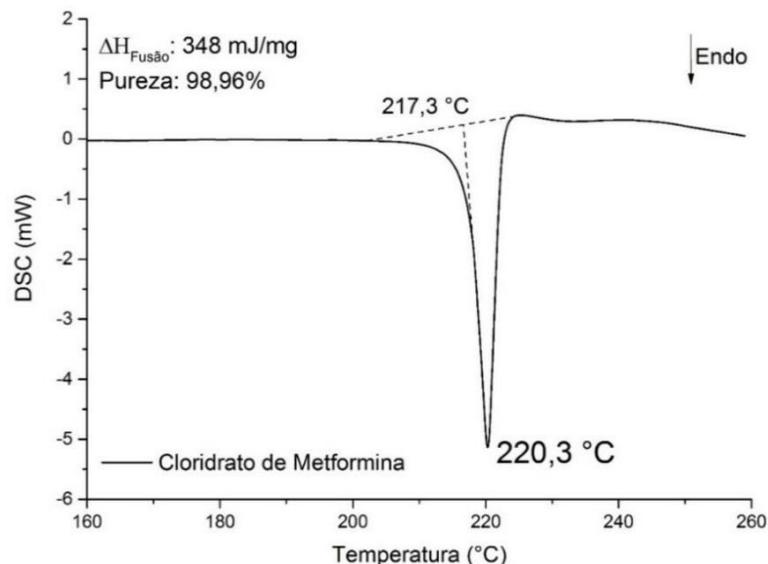
5.2. CARACTERIZAÇÃO DO FÁRMACO

5.2.1. Pureza

Após a análise em DSC para o cloridrato de metformina, um evento endotérmico iniciado à 217,3 °C, alcançando seu ápice (T do pico ou T_{peak}) à 220,3 °C com valor de entalpia de 348 mJ/mg, pode ser atribuído à sua fusão (Figura 12), que ocorre na faixa de temperatura entre 222 °C a 226 °C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

A pureza da amostra utilizada para o preparo dos comprimidos e demais experimentos do projeto cumpriu as especificações da farmacopeia brasileira. O grau de pureza obtido foi de 98,96%, quando o aceitável é a faixa que se estende de 98,5% à 101,0% (Figura 13) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Figura 13- Ponto de fusão e pureza para cloridrato de metformina



Fonte: Próprio autor.

O fator de correção calculado para as impurezas foi de 4,26% e o desvio padrão permaneceu em 0,005%, contribuindo para a conclusão de que a amostra utilizada estava cumprindo com as especificações que os órgãos competentes indicam para o teste de pureza.

5.2.2. Densidade Verdadeira

Os valores de densidade verdadeira obtidos para o cloridrato de metformina são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Ensaio de densidade verdadeira para metformina.

Densidade verdadeira	
Peso (g)	5,2229
Volume médio (cm ³)	3,7961
Densidade média (g/cm ³)	1,3759
Desvio padrão relativo (%)	0,0015

5.2.3. Solubilidade

Os valores de solubilidade obtidos para a metformina (tabela 5) indicam que ela é um fármaco altamente solúvel em meios com pH de 1,2; 4,5; 5,8; 6,8 e 7,4. Tais resultados estão em concordância com sua classificação biofarmacêutica, uma vez que pertencente a classe 3 e, assim, possui alta solubilidade. Seus valores de pKa é de 2,8 e 11,5 (OFORI-KWAKYE et al., 2015).

Tabela 5- Solubilidade de cloridrato de metformina para diferentes valores de pH.

Valor de pH	Solubilidade (mg/mL) \pm DP	V _{sol} (mL)	Valor de Do
pH 1,2	295 \pm 0,48	3,38	0,013
pH 4,5	322 \pm 0,51	3,10	0,012
pH 5,8	296 \pm 1,2	3,38	0,013
pH 6,8	353 \pm 0,37	2,83	0,011
pH 7,4	352 \pm 0,32	2,84	0,011

É importante destacar que apenas 33,8mL de meio é suficiente para manter a condição *sink* por todo o ensaio de dissolução. Os resultados de solubilidade obtidos corroboram com os resultados obtidos por Skripnik (2015). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com base no SCB, caracteriza um fármaco altamente solúvel nas seguintes condições:

Um fármaco será considerado altamente solúvel se sua maior dose administrada oralmente como uma formulação de liberação imediata (dose máxima por administração descrita em bula) solubiliza-se completamente em até 250 ml de cada uma das soluções tampão utilizadas dentro da faixa de pH fisiológico (1,2 a 6,8), a 37 \pm 1°C (BRASIL, 2010; AMIDON et. al, 1995).

Todos os valores de Do para as solubilidades testadas foram menores que “1” (um), confirmando a alta solubilidade do fármaco

5.3. FORMULAÇÕES

5.3.1. Formulações teste

5.3.1.1. *Doseamento de metformina em comprimidos das formulações T1, T2 e T3.*

Segundo a farmacopeia brasileira (2010), os comprimidos contendo cloridrato de metformina devem apresentar teor de no mínimo 95% e no máximo 105% de fármaco em relação à dose do comprimido.

Comprimidos com peso total acima de 250 mg é aceito uma variação de $\pm 5\%$ em relação ao peso final do comprimido.

Os valores de peso médio e teor de fármaco nas formulações T1, T2 e T3 são apresentadas na tabela 6.

Tabela 6- Peso e teor médio para T1, T2 e T3

	T1	T2	T3	Especificação
Peso médio (mg)	989,19 \pm 0,07	951,54 \pm 0,02	919,72 \pm 0,21	967,1 \pm 48,3
Teor médio (%)	96,58 \pm 0,8	93,44 \pm 0,5	102,66 \pm 1,2	100 \pm 5,0

Considerando o preconizado pela farmacopeia brasileira, todas as formulações têm o peso dentro da faixa de aceitabilidade especificado por tal órgão (918,7 à 1015,9). Em relação ao teor, apenas a formulação T2 está fora dos limites aceitos pela farmacopeia brasileira, contendo uma média de 467,23 mg de fármaco nos comprimidos (93,44%). Este valor foi considerado nos cálculos para estabelecer a taxa de dissolução de metformina após a realização dos ensaios de dissolução e também no programa DDDPlus® para a simulação dos ensaios *in vitro*, para as demais formulações, foi considerado o valor de 500mg (teor de 100%).

5.3.1.2. Dimensões dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3.

A influência do formato dos comprimidos de liberação modificada por matriz polimérica no processo de dissolução já foi tema de pesquisas (KARASULU & ERTAN, 2002).

Ford e colaboradores (1987) estabeleceram uma relação linear entre a área superficial de comprimidos de liberação modificada contendo HPMC e a liberação do fármaco, sendo que, quanto maior a área superficial do comprimido, maior era a taxa de liberação do ativo.

Os trabalhos mais recentes indicam uma série de fatores que influenciam a liberação do fármaco a partir destas FF's. A área superficial, por modular a forma como o meio de dissolução penetra o comprimido para a formação do gel, está entre estes fatores (ADDU et. al., 2010; TAJARABI et. al., 2009; TUKARAM et. al., 2010).

As médias das medidas de 20 comprimidos das formulações T1, T2 e T3 são apresentadas na tabela 7.

Tabela 7- Medidas médias dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3 (n=20).

Dimensões (cm)	T1	T2	T3
Raio (A)	0,70 ± 0,00	0,70 ± 0,00	0,70 ± 0,00
Altura (B)	0,41 ± 0,03	0,40 ± 0,00	0,42 ± 0,02
Altura (H)	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,01

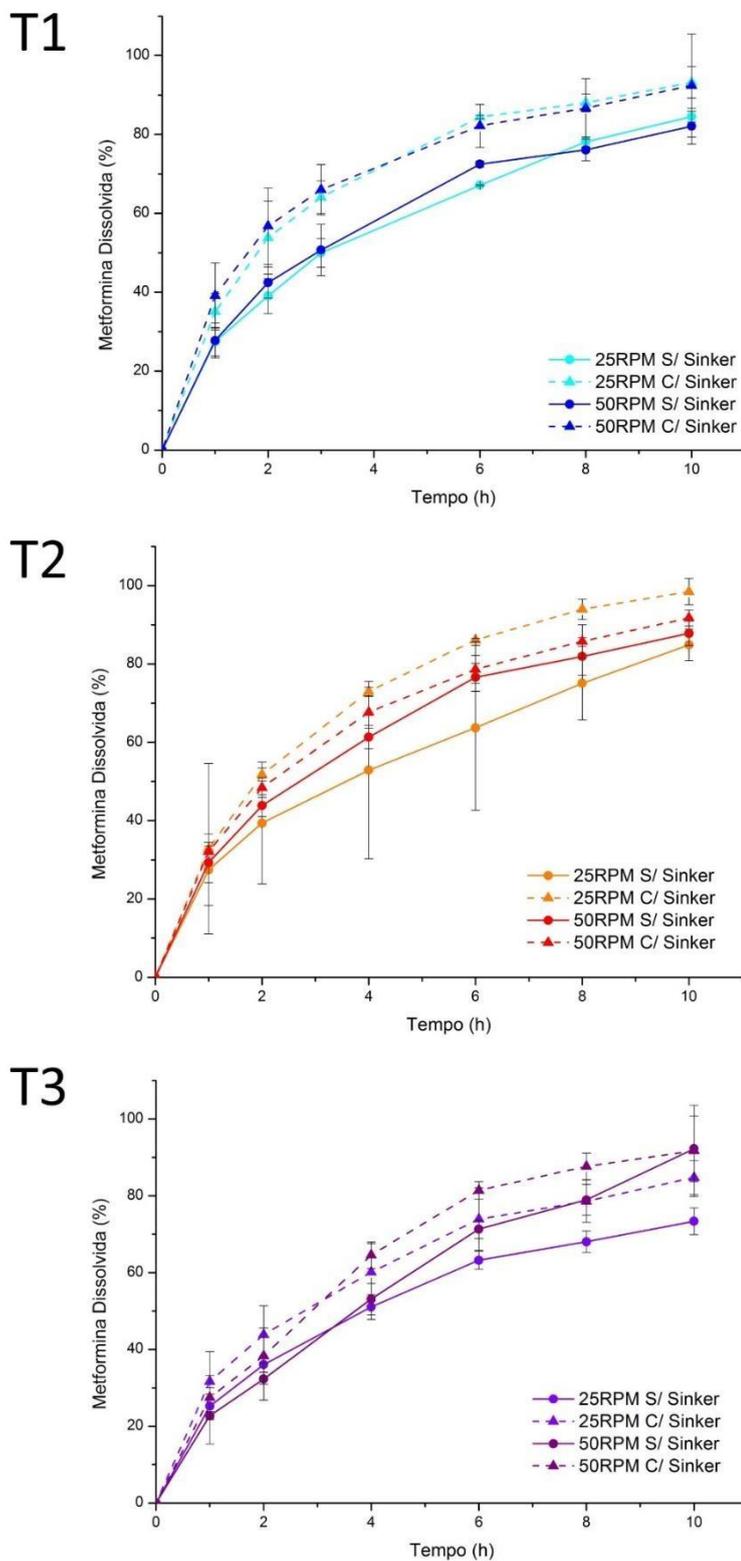
Os valores das medidas "A", "B" e "H" dos comprimidos das formulações T1, T2 e T3 demonstraram valores semelhantes entre eles, uma vez que a punção utilizada na compressão foi a mesma, de forma que a liberação de metformina a partir dessas formulações não seja afetada pela área superficial dos comprimidos secos em uma comparação entre T1, T2 e T3.

5.4. ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

5.4.1. Avaliação dos perfis de dissolução

Os resultados dos ensaios de dissolução de todas as condições testadas são apresentados na figura 14.

Figura 14- Perfis de dissolução das formulações T1, T2 e T3 nas condições aparato 2, meio de dissolução solução tampão fosfato pH 6,8 velocidades de agitação de 25 e 50 RPM com ou sem uso do *sinker*.



Fonte: Próprio autor.

A liberação de fármacos a partir de matrizes poliméricas é um fenômeno bastante complexo que tem sido estudado por diversos autores ao longo dos anos. A conclusão mais bem aceita em relação à esses estudos é a de que essa liberação ocorre por três maneiras: a) difusão; b) erosão e c) ambos os processos (GAJDOŠOVÁ et. al. 2016; CACCAVO et. al., 2015; TAJAROBÍ et. al., 2009).

Todas as condições apresentaram dissolução igual ou superior a 80% do fármaco ao final de 24 horas de ensaio para todas as formulações testadas.

Previsivelmente, quando o *sinker* não foi utilizado, o HPMC presente na formulação, ao entrar em contato com o meio de dissolução formou um gel, fazendo com que o comprimido aderisse ao fundo da cuba. Esse fenômeno foi verificado nos ensaios envolvendo as formulações T1, T2 e T3.

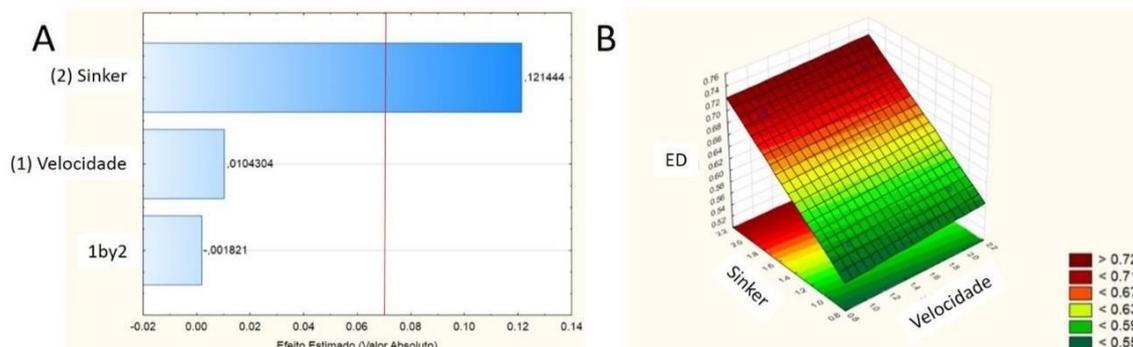
Os gráficos da figura 6 mostram uma clara tendência a uma maior dissolução do fármaco nos ensaios que utilizaram o *sinker*, segundo Ford e colaboradores, a maior superfície de contato do comprimido com o meio de dissolução melhora a erosão promovida pela agitação da pá dentro da cuba. Uma vez que o *sinker* impede a adesão do comprimido, sua superfície de contato com o meio de dissolução aumenta. Isso é comprovado pelos resultados de ED (Tabela 8).

Tabela 8- Valores de ED para as formulações T1, T2 e T3.

Condições do ensaio		T1	T2	T3
Sem <i>Sinker</i>	25RPM	0,57	0,55	0,51
	50RPM	0,58	0,62	0,57
Com <i>Sinker</i>	25RPM	0,69	0,71	0,60
	50RPM	0,70	0,66	0,64

Uma maior agitação do meio de dissolução nos ensaios com comprimidos de matriz polimérica aumenta a erosão da camada de hidrogel e permite uma liberação maior do fármaco presente nesta camada (KAVANAGH & CORRIGAN, 2004; COSTA & LOBO, 2001; ADDO et. al., 2010), entretanto, o uso do *sinker* indicou que para T1 a superfície de contato com o meio de dissolução é um fator mais determinante para a ED (Figura 15).

Figura 15- Gráfico de Pareto (A) e superfície de resposta (B) de ED para T1.



Fonte: Próprio autor

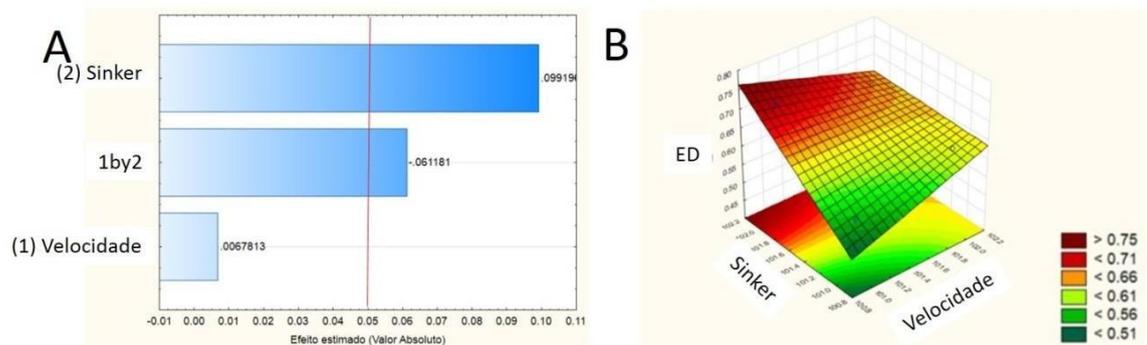
Os resultados dos fatores f_1 e f_2 refletem a maior influência do *sinker* em comparação à velocidade de rotação no processo de dissolução (a hipótese de que a área superficial aumentada, devido à presença do *sinker*, teve uma maior contribuição para o valor de ED) (Tabela 9).

Tabela 9- Resultados de f_1 e f_2 para T1.

Comparação dos métodos	Valores de f_2	Valores de f_1
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 25 RPM Sem <i>Sinker</i>	45	17
50 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	45	17
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Com <i>Sinker</i>	76	4
25 RPM Sem <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	75	4

Para T2, o gráfico de Pareto (Figuras 16) e de superfície de resposta indicam que, juntos, a velocidade das pás e o uso do *sinker* exercem influência sobre a ED.

Figura 16- Gráfico de pareto (A) e superfície de resposta (B) de ED para T2.



Fonte: Próprio autor

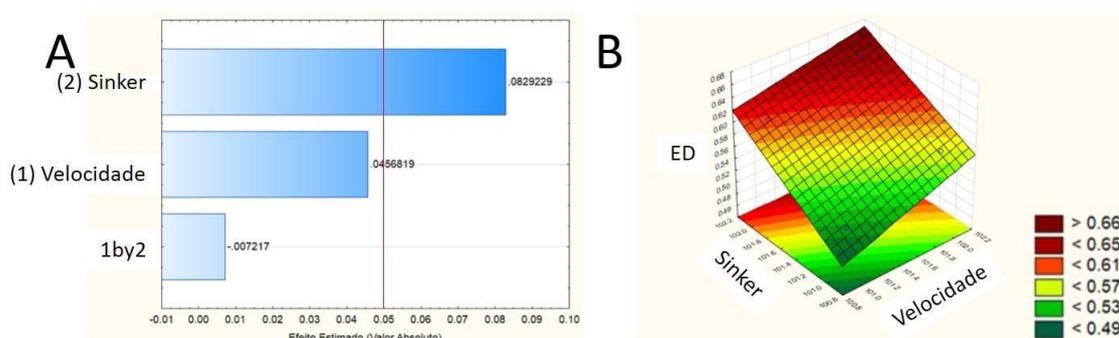
Diferentemente dos valores de f_1 e f_2 encontrados para a formulação T1, para a formulação T2, somente os ensaios que utilizaram uma velocidade de 25 RPM indicaram diferença quanto ao uso ou ausência do *sinker* (Tabela 10).

Tabela 10- Resultados de f_1 e f_2 para T2.

Comparação dos métodos	Valores de f_2	Valores de f_1
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 25 RPM Sem <i>Sinker</i>	39	21
50 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	68	6
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Com <i>Sinker</i>	61	8
25 RPM Sem <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	57	1

Os gráficos de Pareto e superfície de resposta para a formulação T3 indicam que o uso do *sinker* ainda é relevante no ensaio, uma vez que seu uso garantiu uma maior ED (Figura 17).

Figura 17- Gráfico de pareto (A) e superfície de resposta (B) de ED para T3.



Fonte: Próprio autor

Os valores dos fatores f_1 e f_2 para a formulação T3 são apresentadas na tabela 11, nota-se que nenhum dos itens discutidos neste trabalho demonstram influência sobre a liberação de metformina, isto é, todas as curvas de dissolução são semelhantes entre si.

Tabela 11- Resultados de f_1 e f_2 para T3.

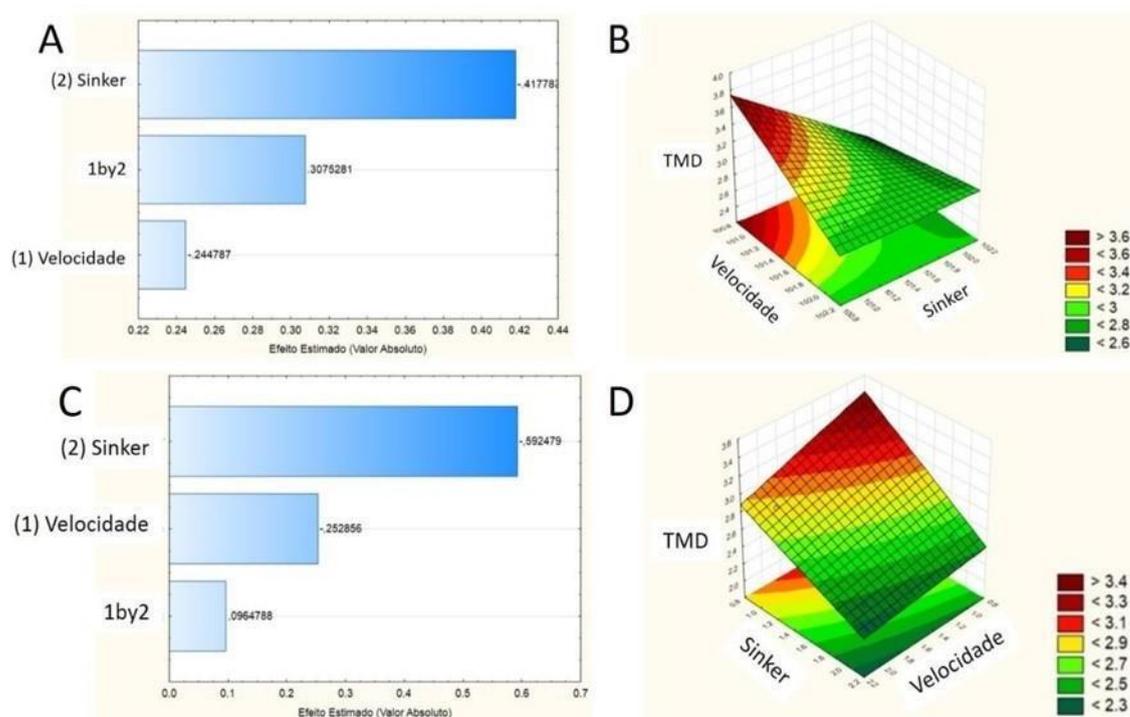
Comparação dos métodos	Valores de f_2	Valores de f_1
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 25 RPM Sem <i>Sinker</i>	51	15
50 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	55	11
25 RPM Com <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Com <i>Sinker</i>	58	1
25 RPM Sem <i>Sinker</i> Versus 50 RPM Sem <i>Sinker</i>	51	13

Embora os gráficos de pareto indiquem que todos os fatores foram significativos para os resultados de MDT, o uso do *sinker* teve maior impacto para as formulações T1, T2 e T3, os ensaios em que se utilizou este dispositivo obteve uma liberação mais rápida de metformina (Tabela 12).

Tabela 12- Valores de MDT para as formulações T1, T2 e T3.

Condições do ensaio		T1	T2	T3
Sem <i>Sinker</i>	25RPM	3,20	3,46	3,81
	50RPM	2,85	2,91	2,95
Com <i>Sinker</i>	25RPM	2,51	2,73	3,10
	50RPM	2,35	2,80	2,83

Figura 18- Gráfico de pareto (A) e superfície de resposta (B) de MDT para T1 e gráfico de pareto (C) e superfície de resposta (D) de MDT para T2.



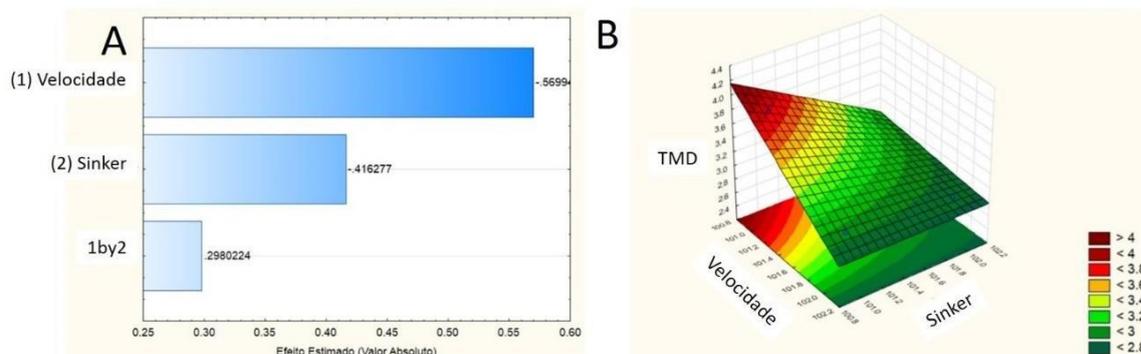
Fonte: Próprio autor.

Também foi verificado que o uso do *sinker* teve maior influência nos ensaios operados sob a velocidade de 25RPM, neste caso, o MDT foi menor quando utilizado *sinker* no ensaio (Tabela 10). Assim como nas análises de ED da formulação T2, para MDT, a combinação entre os dois fatores avaliados teve maior importância para o MDT quando comparado a velocidade das pás separadamente (Figura 18C).

Entretanto, para a formulação T3, a velocidade das pás se mostrou o fator mais crítico para MDT. Os ensaios que foram realizados sob uma velocidade de 50RPM demonstraram que a liberação de metformina foi mais rápida que quando

utilizado a velocidade de 25RPM, corroborando com os achados de Addo e colaboradores (2010) (Figura 19A).

Figura 19- Gráfico de pareto (A) e superfície de resposta (B) de MDT para T3.



Fonte: Próprio autor.

Considerando todos os resultados de ED, MDT, fatores f_1 e f_2 , discutidos anteriormente, os ensaios que fizeram uso do *sinker* têm clara diferença daqueles que não o fizeram.

Pode-se supor que a baixa solubilidade e a capacidade de formação de gel da celulose microcristalina tornou a adesão ao fundo da cuba dos comprimidos de T1 ainda mais crítica se comparadas às formulações T2 e T3 (que possuem menor quantidade do excipiente citado) (TUKURAM et. al., 2010; FORD et. al., 1987).

Em relação aos ensaios realizados com a formulação T2 a 50RPM, o autor sugere que o processo de erosão ocorre de forma mais rápida e acentuada em comparação a 25RPM e o aumento da superfície de contato proporcionado pela erosão compensa a diminuição de superfície de contato pela adesão do comprimido à cuba e reduz a influência do *sinker* (KAVANAGH & CORRIGAN, 2004; COSTA & LOBO, 2001; ADDO et. al., 2010).

Em contrapartida, conforme o aumento da concentração de HPMC, a área superficial dos comprimidos deixou de ser o único fator limitante, uma vez que aumenta a influência do polímero em modular a liberação do fármaco. Os resultados de ED da formulação T2 e de MDT da formulação T3 corroboram com

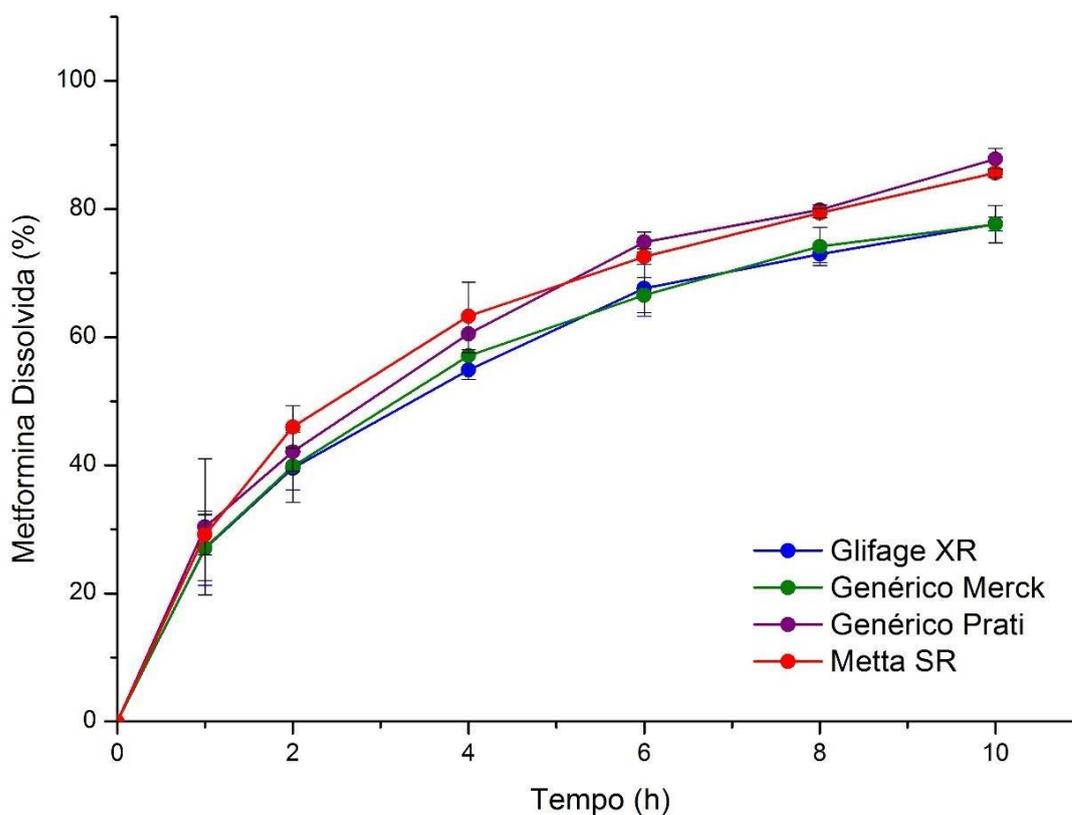
esse raciocínio (KAVANAGH & CORRIGAN, 2004; COSTA & LOBO, 2001; ADDO et. al., 2010).

Os resultados dos ensaios de dissolução para T1, T2 e T3 auxiliaram na otimização do método de dissolução adotado para o estudo dos perfis de dissolução dos produtos do mercado.

5.4.2. Produtos do mercado

As condições de dissolução selecionadas para a avaliação da liberação de metformina nos produtos do mercado fez uso de *sinkers* e velocidade de 50 RPM, para eliminar a influência que a adesão dos comprimidos ao fundo da cuba promove na área superficial dos mesmos e aumentar a erosão da camada de hidrogel. Os perfis de liberação de todas as formulações são apresentados na figura 20.

Figura 20- Perfis de dissolução dos produtos do mercado.



Fonte: Próprio autor.

A comparação entre o medicamento referência (Glifage XR[®] 500 mg) e os medicamentos genéricos (Merck[®] e Prati Donaduzzi[®]) e similar (Metta SR[®]) foi realizada pelos modelos independentes de f_1 e f_2 , apresentados na tabela 13.

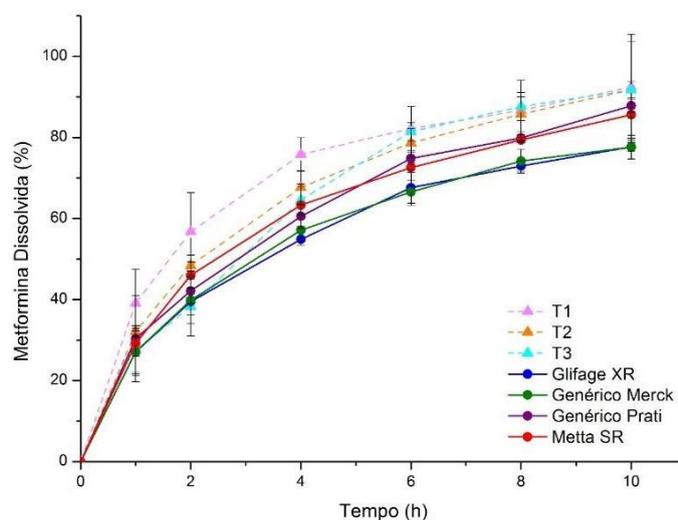
Tabela 13: Valores de f_1 e f_2 para os produtos do mercado em comparação ao Glifage XR[®] 500mg.

Formulação	f_2	f_1
Genérico Merck [®]	91	1
Genérico Prati Donaduzzi [®]	59	11
Metta SR [®]	59	11

Os resultados indicam que todos os produtos apresentam perfis de dissolução semelhantes ao produto referência (Glifage XR[®]), com destaque para o medicamento genérico da Merck[®] que possui um alto grau de similaridade com o Glifage XR[®], devido à manufatura ser realizada pela mesma empresa e possuir componentes iguais na formulação.

Os perfis de dissolução das formulações T1, T2 e T3 também foram comparadas aos produtos P1, P2, P3 e P4 (Figura 21).

Figura 21- Perfis de dissolução para o ensaio com velocidade de 50RPM com *sinker*.



Fonte: Próprio autor.

Os valores de f_2 mostram semelhança entre os perfis de dissolução das formulações teste T1 e T2 com o produto Metta SR[®] e o medicamento genérico prozido pela empresa Prati Donaduzzi[®]. Somente o perfil de dissolução da formulação T3 foi semelhante à todos os perfis de dissolução dos medicamentos P1, P2, P3 e P4 (Tabela 14).

Tabela 14: Valores de f_2 entre formulações teste e produtos do mercado

Formulações teste	Glifage XR [®]	Genérico Merck [®]	Genérico Prati [®]	Metta SR [®]
T1	42	43	52	54
T2	49	50	66	68
T3	52	52	68	62

5.5. ENSAIOS *IN SILICO*

5.5.1. Obtenção dos perfis de dissolução das formulações

Os valores de constante de calibração foram obtidos após a otimização *in silico* de cada ensaio *in vitro* e são apresentados na tabela 15:

Tabela 15- Constantes de calibração otimizadas dos ensaios *in vitro*.

Ensaio	Metformina	HPMC	Celulose Micro	Estearato	R ²
T1 50RPM S/ <i>Sinker</i>	0,036	0,01	2,931	0,0101	0,92
T1 25RPM S/ <i>Sinker</i>	0,0355	0,0016	0,5866	0,0096	0,98
T2 50RPM S/ <i>Sinker</i>	0,0531	0,0003	0,3596	0,0022	0,97
T2 25RPM S/ <i>Sinker</i>	0,0443	0,0123	3,7061	0,0125	0,96
T3 50RPM S/ <i>Sinker</i>	0,0518	0,0002	0,2376	0,0022	0,98
T3 25RPM S/ <i>Sinker</i>	0,0429	0,0002	0,2807	0,0018	0,95
T1 50RPM C/ <i>Sinker</i>	0,0549	0,0003	0,4633	0,0017	0,95
T1 25RPM C/ <i>Sinker</i>	0,0515	0,0001	0,4912	0,0005	0,98
T2 50RPM C/ <i>Sinker</i>	0,0604	0,0001	0,3502	0,0006	0,97
T2 25RPM C/ <i>Sinker</i>	0,0691	0,0001	0,3655	0,0006	0,98
T3 50RPM C/ <i>Sinker</i>	0,0595	0,0003	0,4101	0,0024	0,99
T3 25RPM C/ <i>Sinker</i>	0,056	0,0003	0,4795	0,0023	0,96

Os valores obtidos dos ensaios *in vitro* realizados com e sem *sinker* foram utilizados para simular os ensaios com velocidade de 25 e 50RPM, as correlações entre os perfis de dissolução *in silico* e os perfis de dissolução *in vitro* resultaram em valores de R², esses valores são mostrados na figura 22.

Figura 22- Resultados de R² *in vitro* Vs. *in silico* e f_2 *in vitro* Vs. *in silico* obtidos após a comparação entre perfis *in vitro* e *in silico*.

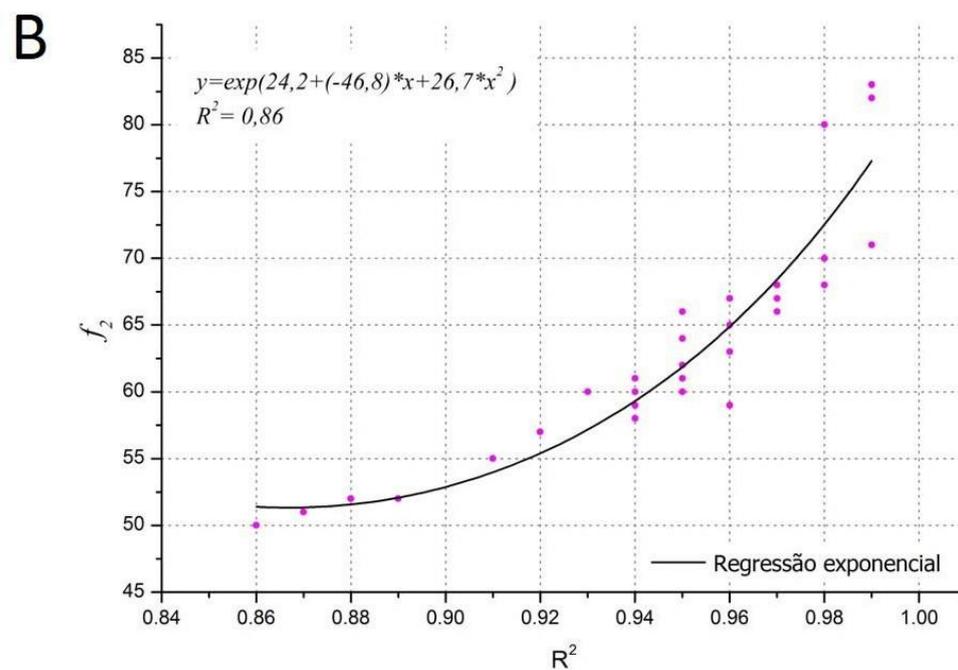
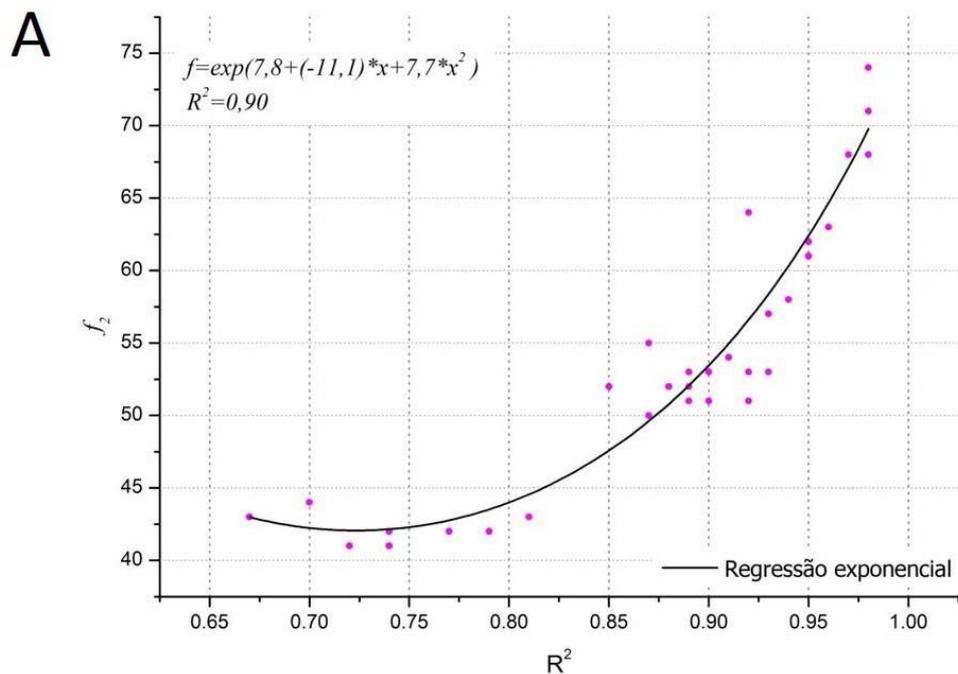
Constantes de Calibração para a simulação	Ensaio simulado											
	R ² para ensaios simulados						f_2 para ensaios simulados					
	T1 50RPM	T1 25RPM	T2 50RPM	T2 25RPM	T3 50RPM	T3 25RPM	T1 50RPM	T1 25RPM	T2 50RPM	T2 25RPM	T3 50RPM	T3 25RPM
T1 50RPM S/Sinker	0.92	0.97	0.74	0.89	0.81	0.9	64	68	42	53	43	53
T1 25RPM S/Sinker	0.92	0.98	0.72	0.88	0.79	0.89	64	68	41	52	42	52
T2 50RPM S/Sinker	0.67	0.74	0.97	0.92	0.98	0.87	43	41	68	51	71	50
T2 25RPM S/Sinker	0.85	0.9	0.93	0.96	0.95	0.95	52	51	57	63	62	61
T3 50RPM S/Sinker	0.7	0.77	0.97	0.93	0.98	0.89	44	42	68	53	74	51
T3 25RPM S/Sinker	0.87	0.92	0.91	0.96	0.94	0.95	55	53	54	63	58	62
T1 50RPM C/Sinker	0.95	0.97	0.96	0.91	0.98	0.96	61	67	65	55	68	63
T1 25RPM C/Sinker	0.95	0.98	0.93	0.86	0.96	0.94	62	70	60	50	59	61
T2 50RPM C/Sinker	0.94	0.94	0.97	0.95	0.99	0.95	59	60	68	66	83	60
T2 25RPM C/Sinker	0.88	0.87	0.94	0.98	0.96	0.89	52	51	58	80	65	52
T3 50RPM C/Sinker	0.94	0.95	0.97	0.95	0.99	0.95	60	61	68	64	82	61
T3 25RPM C/Sinker	0.95	0.97	0.96	0.92	0.99	0.96	62	66	67	57	71	63

Legenda: 0.60 - 0.69 0.70 - 0.79 0.80 - 0.89 0.90 - 0.99 Otimizado Legenda: < 50 ≥ 50 Otimizado

Fonte: Próprio autor.

Duas regressões não lineares foram obtidas ao se correlacionar os valores de R^2 e f_2 e são apresentadas a seguir.

Figura 23- Regressões exponenciais entre valores de R^2 e f_2 para simulações realizadas a partir de ensaios *in vitro* sem *sinker* (A) e com *sinker* (B).



Fonte: Próprio autor.

Considerando os cálculos das regressões, para ensaios simulados utilizando CC de perfis de dissolução *in vitro* que não utilizaram *sinker*, valores de $R^2 \geq 0,87$ representam valores de $f_2 \geq 50$, ou seja, perfis simulados semelhantes aos perfis observados. Enquanto que para ensaios simulados utilizando CC de perfis de dissolução *in vitro* que utilizaram *sinker*, valores de $R^2 \geq 0,86$ representam valores de $f_2 \geq 50$.

Como visto anteriormente para os ensaios observados, o *sinker* impediu a adesão do comprimido ao fundo da cuba, promovendo uma maior superfície de contato entre a FF e o meio de dissolução. Uma vez que o programa não oferece a opção em simular o uso do *sinker*, tão pouco, prevê o fenômeno de adesão causado pelo HPMC, a porcentagem de acerto das simulações foi de 86,11%. É relevante notar que os menores valores de R^2 e f_2 ocorrem para simulações de ensaios de T1 ou que utilizem as CC de T1 para simular outros ensaios.

Isto se deve ao fato de que T1 possui maior quantidade de celulose microcristalina na formulação, quando comparado à T2 e T3, tornando a adesão do comprimido ao fundo da cuba de dissolução mais crítica e mais suscetível à influência que a área superficial exerce sobre a liberação do fármaco.

O uso do *sinker* eliminou a variável representada pela aderência da FF no fundo da cuba, assim, o software foi extremamente eficiente em simular os ensaios de dissolução desse trabalho. A porcentagem de acerto foi de 100% das simulações realizadas, indicando a necessidade dessa estratégia quanto ao uso da atual versão do software para a simulação de ensaios de dissolução de comprimidos de liberação prolongada por matriz polimérica contendo um fármaco de alta solubilidade.

Os valores de ED dos perfis de dissolução simulados corroboram com o argumento apresentado acima. Quando comparados aos valores de ED dos perfis observados, verificou-se que as simulações que usam as CC obtidas a partir dos ensaios de dissolução *in vitro* sem *sinker* obtiveram 33,33% de erro ≥ 10 , enquanto que as simulações que usam as CC obtidas a partir dos ensaios de dissolução *in vitro* com *sinker* obtiveram 16,67% dos valores de ED com erro ≥ 10 (Figura 24A).

Ainda é possível afirmar que o alto número de acertos da previsão de resultados dos ensaios que utilizavam o *sinker* (100%), faz com que o DDDPlus® seja um poderoso aliado no desenvolvimento de novas formulações, atrelado ao conceito de “*Quality by Design*”, reduzindo tempo, gastos de matéria prima e mão de obra (SIMULATIONS PLUS, 2016; DUQUE, 2016).

Figura 24- Valores de ED de perfis simulados (A) e comparações entre perfis simulados das formulações teste e perfis observados dos produtos comercializados (B).

A

Constantes de calibração para a simulação	Simulação <i>In Silico</i>						<i>In Vitro</i>	Erro					
	F1 50RPM	F1 25RPM	F2 50RPM	F2 25RPM	F3 50RPM	F3 25RPM		F1 50RPM	F1 25RPM	F2 50RPM	F2 25RPM	F3 50RPM	F3 25RPM
F1 50RPM S/Sinker	0.59	0.59	0.48	0.48	0.45	0.45	0.59	0	0	-11	-11	-14	-14
F1 25RPM S/Sinker	0.58	0.58	0.48	0.48	0.44	0.44	0.57	1	1	-9	-9	-13	-13
F2 50RPM S/Sinker	0.72	0.72	0.63	0.63	0.59	0.59	0.62	10	10	1	1	-3	-3
F2 25RPM S/Sinker	0.66	0.66	0.56	0.56	0.52	0.52	0.55	11	11	1	1	-3	-3
F3 50RPM S/Sinker	0.71	0.71	0.62	0.62	0.58	0.58	0.57	14	14	5	5	1	1
F3 25RPM S/Sinker	0.65	0.65	0.55	0.55	0.51	0.51	0.52	13	13	3	3	-1	-1
F1 50RPM C/Sinker	0.71	0.73	0.64	0.64	0.61	0.61	0.71	0	2	-7	-7	-10	-10
F1 25RPM C/Sinker	0.73	0.71	0.62	0.62	0.58	0.58	0.7	3	1	-8	-8	-12	-12
F2 50RPM C/Sinker	0.76	0.76	0.68	0.68	0.64	0.64	0.66	10	10	2	2	-2	-2
F2 25RPM C/Sinker	0.79	0.79	0.72	0.72	0.69	0.69	0.71	8	8	1	1	-2	-2
F3 50RPM C/Sinker	0.75	0.75	0.67	0.67	0.63	0.63	0.64	11	11	3	3	-1	-1
F3 25RPM C/Sinker	0.74	0.74	0.65	0.65	0.61	0.61	0.61	13	13	4	4	0	0

Legenda: 0.40 - 0.49 0.50 - 0.59 0.60 - 0.69 0.70 - 0.79 Otimizado

Legenda: $\geq \pm 11$ de ± 6 à ± 10 de 0 à ± 5

B

CC para a simulação	T1 Vs. Glifage XR	T2 Vs. Glifage XR	T3 Vs. Glifage XR	T1 Vs. Gen. Merck	T2 Vs. Gen. Merck	T3 Vs. Gen. Merck	T1 Vs. Gen. Prati	T2 Vs. Gen. Prati	T3 Vs. Gen. Prati	T1 Vs. Metta SR	T2 Vs. Metta SR	T3 Vs. Metta SR
T1 50RPM C/Sinker	39	48	55	40	49	56	49	63	68	49	60	63
T2 50RPM C/Sinker	34	43	49	35	44	50	41	55	66	42	54	62
T3 50RPM C/Sinker	35	44	50	35	44	51	42	56	67	42	55	63
Valores "in vitro"	42	49	52	43	50	52	52	66	68	54	68	62

Legenda: < 50 ≥ 50

Fonte: Próprio autor.

5.5.2. Uso do DDDPlus® na comparação entre as formulações T1, T2 e T3 contra os produtos P1, P2, P3 e P4.

Os resultados das comparações entre os perfis de dissolução *in silico* das formulações teste T1, T2 e T3 e os perfis de dissolução *in vitro* dos produtos comerciais P1, P2, P3 e P4 são apresentados na figura 24B.

De quarenta e cinco comparações simuladas, 10 (22,22%) indicaram um resultado falso negativo para a semelhança entre as formulações teste e do mercado. No contexto financeiro, tal resultado indica que o emprego da atual versão do DDDPlus® (versão 5.0) na substituição dos métodos *in vitro* pode ser prematura quando se almeja uma comparação entre perfis de dissolução.

Vale destacar que 42,22% das comparações simuladas não indicaram similaridades entre os perfis comparados. Nas comparações *in vitro*, apenas 25% das comparações entre produtos teste e referência não eram semelhantes. Assim, na hipótese do uso do DDDPlus® em estudos comparativos entre perfis de dissolução, o risco para o consumidor seria menor pela rigidez do programa em indicar semelhança entre produtos teste e referência. Em contrapartida, as indústrias farmacêuticas que produzem medicamentos genéricos e similares seriam desafiadas. Contudo, mais estudos necessitam ser realizados neste sentido, utilizando diferentes fármacos, FF's e/ou condições de ensaio de dissolução.

6. CONCLUSÃO

Considerando a versão 5.0 do DDDPlus®, o uso de CC obtidas a partir de perfis de dissolução *in vitro* de comprimidos matriciais de metformina com emprego de *sinker*, propicia perfis de dissolução *in silico* semelhantes aos perfis de dissolução *in vitro*.

Devido ao fenômeno de adesão da FF ao fundo da cuba de dissolução, os perfis de dissolução simulados utilizando CC obtidas de ensaios *in vitro* que não utilizaram *sinker*, nem sempre são semelhantes aos perfis de dissolução *in vitro*.

Ainda considerando a atual versão do *software*, a comparação de perfis de dissolução *in silico*, pode ser prematura.

7. BIBLIOGRAFIA

ADDO, K. A. et al. Study of dissolution hydrodynamic conditions versus drug release from hypromellose matrices: The influence of agitation sequence. **Colloid and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p. 452- 460, 2010.

ADROVER, A.; NOBILI, M. Release kinetics from oral thin films: Theory and experiments. **Chemical Engineering Research and Design**, Warwickshire, v. 98, p. 188–201, 2015.

ALMUKAINZI, M. et al. Simulation of *In Vitro* Dissolution Behavior Using DDDPlus™. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 1, p. 217- 221, 2014.

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharmaceutical research**, 1995.

AZARMI, S.; ROA, W.; LÖBENBERG, R. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 328, n. 1, p. 12–21, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para estudos de correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV). Resolução RE n. 482, 19 março de 2002a. Diário Oficial da União, Brasília (2002 mar. 20); Sec.1:116.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de medicamentos genéricos registrados. 2017c. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/352400/1.1+Gen%C3%A9ricos+registrados+-+por+nome+do+gen%C3%A9rico+31-03-2017.pdf/9e4ce425-7915-4cc1-b870-05ee305c1a8f>. Acesso em: 01 Agosto 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de boas práticas em biodisponibilidade e bioequivalência. Volume 1. 2002b. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 21 Novembro 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 899. de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 2003.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. 2010. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume%201.pdf. Acesso em 21 Novembro 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 31 de 11 de agosto de 2010**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, 2010. Disponível em 21 Novembro 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos genéricos registrados. 2017. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/pdf>. Acesso em: 21 Novembro

CACCAVO, D. et. al. Controlled drug release from hydrogel- based matrices: Experiments and modeling. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 486, p. 144- 152, 2015.

CARDOT, J.M.; BEYSSAC, E.; ALRIC M. *In vitro-in vivo* correlation: importance of dissolution in IVIVC. *Dissolut. Technol.* 2007; 14:15-9.

CHATTARAJ, S. C.; KANFER, I. "The insertion cell": A novel approach to monitor drug release from semi-solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 133, n. 1-2, p. 597–605, 2009.

CONGRESS OF THE UNITED STATES, 1974, Washington. **Office of Technology Assessment**. Washington: Drug Bioequivalence study panel report, 1974. 78p.

COSTA, F.O. et. al. Comparison of dissolution profiles of ibuprofen pellets. **Journal of Controlled Release**. Minnesota, v. 89, p. 199-212, 2003.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Influence of dissolution medium agitation on release profiles of sustained- release tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 8, p. 811- 817, 2001.

DANCHIN A. et. al. From data banks to data bases. **Research in Microbiology**, Paris, v.142, p.913-916, 1991.

DOGAN, B.; SCHNEIDER, J.; REUTER, K. *In silico* dissolution rates of pharmaceutical ingredients. **Chemical Physics Letters**. v. 662, p. 52- 55, 2016.

DOKOUMETZIDIS, A.; MACHERAS, P. A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the biopharmaceutics classification system. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 321, p. 1-11, 2006.

DUQUE, M. D. Determination of absorption curves, dissolution profiles and establishment of *in vitro- in vivo* correlation by *in silico* methods using GastroPlus™ and DDDPlus™. 2016. Tese para obtenção de doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

EMAMI, J. *In vitro-in vivo* correlation: from to applications. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 2006; 9:169-89.

FANG, J. B. et al. Development and application of a biorelevant dissolution method using USP apparatus 4 in early phase formulation development. **Molecular Pharmaceutics**, California, v. 7, n. 5, p. 1466–1477, 2010.

FDA, The Food and Drug Administration, EUA, 1997. Guidance for industry: Extended Release Solid Dosage Forms: Development, Evaluation and Application of *In vitro/In vivo* correlations, EUA. Departamento de Saúde e Serviços Humanos, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070239>.

FDA, The Food and Drug Administration, EUA, 2003. Guidance for industry: Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products- General considerations, EUA. Departamento de Saúde e Serviços Humanos, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Disponível em: https://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/briefing/3995BI_07_GFI-BioAvail-BioEquiv.pdf. Acesso em: 21 Novembro 2017.

FORD, J. L. et. al., Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 40, p. 223- 234, 1987.

FOTAKI, N. et al. A comparative study of different release apparatus in generating *in vitro-in vivo* correlations for extended release formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Regensburg, v. 73, n. 1, p. 115–120, 2009.

GAJDOŠOVÁ, M. et. al. Effect of hydrophobic inclusions on polymer swelling kinetics studied by magnetic resonance imaging. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 500, p. 136- 143, 2016.

GAO, Z.; WESTENBERGER, B. Dissolution Testing of Acetaminophen Suspension Using Dialysis Adapter in Flow-Through Apparatus: A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**, Virginia, v. 13, n. 3, p. 944–948, 2012.

GOODMAN, A.; GILMAN, A. G. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 1238- 1242.

JINNO, J. ICHI et al. *In vitro-in vivo* correlation for wet-milled tablet of poorly water-soluble cilostazol. **Journal of Controlled Release**, Minnesota, v. 130, n. 1, p. 29–37, 2008.

KHAN, K.A.; RHODES, C.T. Effect of compaction pressure on the dissolution efficiency of some direct compression systems. **Pharm. Acta Helv.**, Zurich, v. 47, p. 594-607, 1972.

KARASULU, H. Y.; ERTAN, G. Different geometric shaped hydrogel theophylline tablets: statistical approach for estimating drug release. **Il Farmaco**, Pavia, v. 57, p. 939- 945, 2002.

KAVANAGH, N.; CORRIGAN O. I. Swelling and erosion properties of hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose) matrices- influence of agitation rate and dissolution medium composition. **International Journal of Pharmaceutics**. n. 279, p. 141- 152, 2004.

KOSTEWICZ, E. S. et al. PBPK models for the prediction of *in vivo* performance of oral dosage forms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Stockholm, v. 57, p. 300-321, 2014.

LOONEY, T. J. USP Apparatus 4 (Flow-Through Method) Primer. **Dissolution Technologies**, Delaware, v. 4, p. 3–5, 1996.

MANDAL, U.; PAL, T. K.. Formulation and *in vitro* studies of a fixed- dose combination of a bilayer matrix tablet containing metformin HCl as sustained release and glipizide as immediate release. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, p. 305-313, 2008.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos**: fundamentos, aplicações aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. Monografia para obtenção de mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MELO, R. S. **Validação de correlação *in vitro- in vivo* para comprimidos de liberação modificada de diclofenaco de sódio**. Monografia para obtenção de mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MIDHA, K. K. et al. Bioequivalence; its history, practice, and future. **AAPS Pharmaceutical Journal**, Virginia, v. 11, p. 664-70, 2009.

MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of dissolution profiles. **Pharmaceutical Technologies**, New York, v. 20, n. 6, p. 64-74, 1996.

MORAIS, J. M.; BURGESS, D. J. *In vitro* release testing methods for vitamin e nanoemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, Panchkula, v. 475, n. 1, p. 393–400, 2014.

MOURÃO, S. C. et al. Dissolution parameters for sodium diclofenac-containing hypromellose matrix tablet. **International Journal of Pharmaceutics** v. 386, p. 201-207, 2009.

MUSIAL, W.; MIELCK, J. B. The application of modified flow-through cell apparatus for the assessment of chlorhexidine dihydrochloride release from lozenges containing sorbitol. **AAPS PharmSciTech**, Virginia, v. 10, n. 3, p. 1048–1057, 2009.

OFORI-KWAKYE, K. et al. Development and evaluation of natural gum-based extended release matrix tablets of two model drugs of different water solubilities by direct compression. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2015.

PEREIRA, T. M. **Avaliação da solubilidade e da permeabilidade intestinal de fármacos antirretrovirais. Aplicações na Classificação Biofarmacêutica**. 2011. 175f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 491- 501, 2007.

PEZZINI, B. R. et al. Applications of USP apparatus 3 in assessing the *in vitro* release of solid oral dosage forms. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 51, n. 2, p. 265- 272, 2015.

PORTA, V. et al. HPLC-UV determination of metformin in human plasma for application in pharmacokinetics and bioequivalence studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 46. p. 143-147, 2007.

PORTA, V. Métodos Biofarmacêuticos na Garantia de Eficácia e Segurança de Medicamentos. Texto Sistematizado (Livre Docência) em Farmácia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, p.107, 2013.

RECIO, D. C. et al. Bioequivalencia: introducción a la correlación *in vivo- in vitro*, parte I. **Revista Cubana de Farmacia**. v. 33. p. 137-142, 1999.

RIBANI, M., et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RINAKI, E., DOKOUMETZIDIS, A., MACHERAS, P. The mean dissolution time depends on the dose/ solubility ratio. **Pharmaceutical Research**. v. 20. p. 406- 408, 2003.

SANTOS, G. J. F. L. **Ensaio de dissolução das formas farmacêuticas: Aplicações na investigação científica e na indústria farmacêutica**. 2012. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

SEIDLITZ, A. et al. Examination of drug release and distribution from drug-eluting stents with a vessel-simulating flow-through cell. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Regensburg, v. 78, n. 1, p. 36–48, 2011.

SIMULATIONS PLUS. DDDPlus® versão 5.0 Manual. Lancaster, EUA, 2016.

SKRIPNIK, K. K. S. Investigação e comparação de perfis de dissolução de comprimidos de liberação modificada contendo fármacos com diferentes classificação biofarmacêutica utilizando diferentes aparatos de dissolução. 2015. 147f. Dissertação para obtenção do título de mestre em farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

TAJAROBI, F. et. al. The impact of dose and solubility of additives on the release from HPMC matrix tablets- identifying critical conditions. **Pharmaceutical Research**, Kansas, v. 26, n. 6, p. 1496- 1503, 2009.

TUKARAM, B. N. et. al. The effects of lactose, microcrystalline cellulose and dicalcium phosphate on swelling and erosion of compressed HPMC matrix tablets: Texture analyzer. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Tehran, v. 9, n. 4, p. 349-358, 2010.

UNITED States Pharmacopeia 38 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Conventional, Rockville, 2011 v 1. p.490-492.

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Office of Pharmaceutical Science. Office of generic Drugs. Approved drug products with therapeutic equivalence evaluations. 32a. ed. 2012. 1297p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Forty-sixth report of the WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations. Geneva: World Health Organization; 2012. 235 p. (WHO technical report series n. 970)

**ANEXO A- INFORMAÇÕES PARA OS MEMBROS DE
BANCAS JULGADORAS DE
MESTRADO/DOUTORADO**

**ANEXO B- DECLARAÇÃO DE ANÁLISE DE
SIMILARIDADE DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

ANEXO C- FICHA DO ALUNO

ANEXO D- CURRÍCULO LATTES

