

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA DE FORMAS FARMACÊUTICAS DE  
LIBERAÇÃO IMEDIATA (COMPRIMIDOS DE CANDESARTANA CILEXETILA) E  
PROLONGADA (CÁPSULAS DE TANSULOSINA) UTILIZANDO APARATOS PÁS  
E CÉLULAS DE FLUXO COM MEIOS DE DISSOLUÇÃO BIORRELEVANTES**

**FÁBIO PINHEIRO DE SOUZA**

**PORTO ALEGRE, 2014**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

AVALIAÇÃO BIOFARMACÊUTICA DE FORMAS FARMACÊUTICAS DE  
LIBERAÇÃO IMEDIATA (COMPRIMIDOS DE CANDESARTANA CILEXETILA) E  
PROLONGADA (CÁPSULAS DE TANSULOSINA) UTILIZANDO APARATOS PÁS E  
CÉLULAS DE FLUXO COM MEIOS DE DISSOLUÇÃO BIORRELEVANTES

Dissertação apresentada por **Fábio Pinheiro de Souza** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Nádia Maria Volpato

Porto Alegre, 2014

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31.03.2014, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez  
Universidade Federal do Pampa

Prof. Dra. Bibiana Verlindo de Araujo  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Martin Steppe  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### CIP - Catalogação na Publicação

Souza, Fábio Pinheiro de  
Avaliação biofarmacêutica de formas farmacêuticas de liberação imediata (comprimidos de candesartana cilexetila) e prolongada (cápsulas de tansulosina) utilizando aparatos pás e células de fluxo com meios de dissolução biorrelevantes / Fábio Pinheiro de Souza. -- 2014.  
128 f.

Orientador: Nádia Maria Volpato.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Candesartana cilexetila. 2. Tansulosina. 3. Dissolução. 4. Células de fluxo. 5. Correlação in vitro-in vivo. I. Volpato, Nádia Maria, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do Departamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação da Indústria Farmacêutica Prati, Donaduzzi, na cidade de Toledo, Paraná.



**Dedico esta dissertação aos amores da minha vida,  
A minha esposa Eleani e a minha querida filha Luana.**





**Uma homenagem a minha mãe Vilma (*in memoriam*)**

***“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele  
lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor”.***

***Johann Goethe***



## AGRADECIMENTOS

Gostaria de realizar um agradecimento especial a Profa. Nádia Maria Volpato por toda sua orientação durante a execução deste trabalho e também pelo seu exemplo de profissionalismo e competência.

Aos professores e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas;

A todos que de uma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, especialmente os amigos e colegas que encontrei no Laboratório 402;

Ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade (LEPCQ) da UFRGS;

Aos amigos Jaison Machado, Vitor Todeschini, Liberato Brum Jr. e Helder Oliveira pela ajuda em diversas etapas desta dissertação;

À empresa Prati-donaduzzi pelo apoio na execução deste trabalho;

À minha esposa Eleani pelo apoio, amor e companheirismo.



## RESUMO

A absorção de fármacos, após administração de medicamentos por via oral, depende de uma série de processos. Devido a isto, os estudos de dissolução *in vitro* tornam-se uma ferramenta essencial durante todos os estágios de desenvolvimento de um medicamento. A correlação entre os dados *in vitro* e *in vivo* é frequentemente empregada durante o desenvolvimento farmacêutico com o intuito de reduzir o tempo de pesquisa e aperfeiçoar a formulação. No primeiro estudo, foram avaliadas diferentes metodologias de dissolução, utilizando aparatos 2 (pás) e 4 (células de fluxo), com o intuito de desenvolver uma correlação entre os dados de dissolução e os dados de absorção *in vivo* obtidos através de um estudo de bioequivalência de duas formulações de candesartana cilexetila (CAN) com biodisponibilidades diferentes. Os melhores resultados, tanto em aparato 2 quanto em aparato 4 foram obtidos utilizando tampão fosfato (PBS) pH 6,5 e polissorbato 80 (P80), além da simulação de gradiente de pH utilizando aparato 4. Após aplicação de correlação *in vitro* - *in vivo* para as condições mais promissoras, obteve-se um coeficiente de correlação (r) de 0,959 para o método com aparato 2 em PBS pH 6,5 + P80 0,1%; 0,996 para o método com aparato 4 em PBS pH 6,5 + P80 0,02%; e 0,986 para o método com simulação de um gradiente de pH em aparato 4. O poder preditivo dos métodos foi avaliado utilizando procedimento de validação interna, e os resultados foram considerados satisfatórios. Posteriormente, no segundo trabalho, considerando que após administração de um medicamento por via oral, a velocidade e a extensão de absorção de fármacos ao longo do trato gastrointestinal são altamente dependentes de fatores físico-químicos, de formulação e fisiológicos e que dentre os fisiológicos o potencial efeito do alimento sobre a biodisponibilidade da tansulosina merece atenção especial devido ao aumento em torno de 70 e 30% em  $C_{max}$  e a área sob a curva (ASC), respectivamente, quando administrado em jejum, foi proposto um modelo de dissolução *in vitro* com o intuito de avaliar se o impacto da alimentação em parâmetros farmacocinéticos da tansulosina está relacionado à liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica. Foi utilizado aparato de dissolução de células de fluxo, com simulação do gradiente de pH *in vitro* nas duas condições de administração (jejum e alimentado) e os dados de dissolução/liberação foram comparados aos resultados *in vivo*. Após regressão linear dos dados, obteve-se um coeficiente de correlação de 0,9751 para o modelo que simulou a condição de jejum e 0,9379 para o modelo que simulou a condição alimentada. Os resultados foram considerados promissores e estes poderiam ser utilizados para avaliar novas formulações com o intuito de prever o comportamento *in vivo*.

**Palavras-chave:** Candesaratana cilexetila, tansulosina, dissolução, células de fluxo, estudos *in vivo*, correlação *in vitro* – *in vivo*.



## ABSTRACT

### Biopharmaceutical Evaluation of Immediate and Extended Release Dosage Forms Using Apparatus 2 (Paddle) and 4 (Flow Through Cell), and Biorelevant Dissolution Media

Drug absorption, after oral administration depends on a number of processes. Due to this, the *in vitro* dissolution studies become an essential tool during all stages of drug development. The correlation between *in vitro* and *in vivo* data is often employed in the pharmaceutical development, in order to reduce research time and improve formulation. In the first study, different dissolution methods were evaluated, using apparatus 2 (paddle) and 4 (flow through cell), in order to develop a correlation between the dissolution data and *in vivo* absorption data obtained from a bioequivalence study of two formulations of candesartan cilexetil (CAN) with different bioavailabilities. The best results, both in apparatus 2 and apparatus 4 were obtained using phosphate buffer (PBS) pH 6.5 and polysorbate 80 (P80), besides the pH-gradient simulation in apparatus 4. After linear regression and application of *in vitro* – *in vivo* correlation to the most promising conditions, a correlation coefficient ( $r$ ) = 0.959 was found to the method with apparatus 2 in PBS pH 6.5 + P80 0.1%; 0.996 to the method with apparatus 4 in PBS pH 6.5 + P80 0.02%; and 0.989 to the method with pH-gradient simulation in apparatus 4. The predictability of the methods was evaluated using internal validation procedure, and the results were considered satisfactory. Subsequently, considering that after oral administration of a drug, the rate and extent of drug absorption along the gastrointestinal tract are highly dependent on physico-chemical, formulation and physiological factors, and that among physiological factors, the food potential effect in tamsulosin bioavailability deserves special attention because of the increase of around 70 and 30% in  $C_{max}$  and area under the curve (AUC), respectively, when administered to fasting, the second work proposes the creation of a model of *in vitro* dissolution in order to assess if the food impact on tamsulosin pharmacokinetic parameters is related to drug release from the dosage form. Dissolution flow through cell apparatus was used with a pH-gradient simulation of the two administration conditions (fasted and fed state) and dissolution data were compared to *in vivo* results. After linear regression and data correlation, a coefficient correlation of 0.9751 was obtained to the model that simulated the fasted condition and 0.9379 to the model that simulated fed condition. The results were considered promising and could be used to evaluate formulations in order to predict *in vivo* behavior.

**Keywords:** Candesartan cilexetil, tamsulosin, dissolution, flow through cell, *in vivo* studies, *in vitro* – *in vivo* correlation.





## LISTA DE ABREVIATURAS

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
**ASC** – Área sob a curva  
**AT1** – angiotensina II tipo 1  
**BPC** – Boas Práticas de Clínica  
**BPL** – Boas Práticas de Laboratório  
**CAN** – Candesartana Cilexetila  
**CIVIV** – Correlação *in vitro* – *in vivo*  
**CLAE** – Cromatografia líquida de alta eficiência UV  
**CLUE** – Cromatografia líquida de ultra eficiência  
**C<sub>max</sub>** – Concentração plasmática máxima  
**C<sub>p</sub>** – Concentração Plasmática  
**D/S** – Razão dose/solubilidade  
**EHL** – Equilíbrio hidrofílico-lipofílico  
**EMA** – European Agency for the Evaluation of Medicinal Products  
**FA** – Fração absorvida  
**FaSSGF** – Fasted State Simulated Gastric Fluid  
**FaSSIF** – Fasted State Simulated Intestinal Fluid  
**FD** – Fração dissolvida  
**FDA** – Food and Drug Administration  
**FeSSIF** – Fed State Simulated Fluid  
**FGS<sub>sp</sub>** – Fluido Gástrico Simulado sem pepsina  
**GI** – Gastrointestinal  
**IC** – Intervalo de confiança  
**IFA** – Ingrediente farmacêutico ativo  
**IV** – Intravenoso  
**IVIV** – *In vitro* – *in vivo*  
**LM** – Liberação modificada  
**MSC** – Critério de Seleção do Modelo  
**MR** – Medicamento referência  
**MT** – Medicamento teste  
**OMS** – Organização Mundial da Saúde  
**PET** – Poliéster  
**PBS** – Tampão fosfato  
**P80** – Polissorbato 80  
**Rpm** – Rotações por minuto  
**SCB** – Sistema de classificação biofarmacêutica  
**SCoF** – Simulated Colonic Fluid  
**TAC** – Tampão acetato  
**TAN** – Cloridrato de Tansulosina  
**TGI** – Trato gastrointestinal  
**T<sub>max</sub>** – Tempo de concentração plasmática máxima  
**USP** – United States Pharmacopeia



## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DA LITERATURA

<b>FIGURA 1.</b> Esquema do aparelho de fluxo contínuo.....	43
<b>FIGURA 2.</b> Trato gastrointestinal humano com pH de cada compartimento.....	45
<b>FIGURA 3.</b> Estrutura química da candesartana cilexetila.....	51
<b>FIGURA 4.</b> Estrutura química do cloridrato de tansulosina.....	52

### CAPÍTULO 1

<b>FIGURA 1.</b> Estrutura química da candesartana cilexetila .....	60
<b>FIGURA 2.</b> Curva de Concentração Plasmática Média dos Medicamentos Teste e Referência (n=35).....	65
<b>FIGURA 3.</b> Perfil plasmático médio de candesartana MR e MT modelado para dois compartimentos abertos através do software Scientist®.....	70
<b>FIGURA 4.</b> Curva de Fração Absorvida em função do tempo de CAN a partir dos produtos MR e MT.....	71
<b>FIGURA 5.</b> Perfis de dissolução das duas formulações MR e MT em PBS pH 6,5 + 0,35% P80, utilizando aparato pá, acionadas à 50 rpm.....	73
<b>FIGURA 6.</b> Perfis de dissolução das duas formulações MR e MT em FGSsp pH 1,2 + 0,35% P80 e TAC pH 4,5 + 0,35% P80, utilizando aparato pá, acionadas à 50 rpm.....	73
<b>FIGURA 7.</b> Perfis de dissolução das duas formulações em PBS pH 6,5 contendo 0,02%, 0,05% e 0,1% de P80 e FaSSIF pH 6,5, utilizando aparato pá acionadas a 50 rpm.....	75
<b>FIGURA 8.</b> Perfis de dissolução em aparato 4 das formulações MR e MT em PBS pH 6,5 + 0,02% P80 e em gradiente de pH empregando meios farmacopeicos e meios biorrelevantes.....	77
<b>FIGURA 9.</b> Análise de CIVIV entre os dados de dissolução em aparato 2, utilizando meio PBS pH 6,5 + 0,1% P80 / (□) = MR; (♦) = MT.....	78
<b>FIGURA 10.</b> Análise de CIVIV entre fração absorvida de CAN das formulações MR e MT e os dados de dissolução obtidos em aparato 4 / (□) = MR; (♦) = MT.....	83

### CAPÍTULO 2

<b>FIGURA 1.</b> Estrutura química do cloridrato de tansulosina.....	93
--	----

<b>FIGURA 2.</b> Curva de Concentração Plasmática Média resultantes do estudo de bioequivalência em estado de jejum (A), alimentado (B) e o cruzamento entre os perfis de MRF no estado de jejum e alimentado. Fonte: Relatório de estudo de bioequivalência de TAN em estado de jejum – P07/11 e alimentado - P03/11.....	96
<b>FIGURA 3.</b> Perfis de dissolução de tansulosina a partir do produto MRF em aparato 4 nas condições que simulam os estados de jejum e alimento nos diferentes fluxos avaliados.....	104
<b>FIGURA 4.</b> Perfil plasmático médio de TAN com destaque para as primeiras 7 horas.....	104
<b>FIGURA 5.</b> Curva de Fração Absorvida Vs. Tempo para TAN nos estados de jejum e alimentado, após administração do produto MRF.....	105
<b>FIGURA 6.</b> Comparação entre as curvas de fração dissolvida e absorvida simulando estado de jejum e alimentado.....	106
<b>FIGURA 7.</b> Análise de CIVIV entre os dados de dissolução e os dados de absorção em estado alimentado (A) e jejum (B).....	107
<b>FIGURA 8.</b> Análise de CIVIV entre os dados de dissolução e os dados de absorção em estado alimentado com escalonamento.....	108
<b>FIGURA 9.</b> Cruzamento dos perfis de dissolução de tansulosina a partir do produto MRF e MT em aparato 4 nas condições que simulam os estados de jejum e alimento.....	109

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>TABELA 1.</b> Relação das soluções – meios de dissolução – empregadas na avaliação da solubilidade de CAN.....	62
<b>TABELA 2.</b> Condições dos métodos utilizados no aparato de célula de fluxo.....	63
<b>TABELA 3.</b> Estatísticas das Medidas Farmacocinéticas do Medicamento Teste (MT). .....	65
<b>TABELA 4.</b> Estatísticas das Medidas Farmacocinéticas do Medicamento Referência (MR).....	65
<b>TABELA 5.</b> Intervalos de Confiança Paramétricos para a Razão das Médias das Formulações MT e MR dos Dados Transformados em Logaritmo Natural (Ln).....	66
<b>TABELA 6.</b> Resultado das análises de dissolução intrínseca da candesartana cilexetila.....	69
<b>TABELA 7.</b> Valores de $f_2$ para comparação entre referência (MR) e teste (MT) nas análises em aparato 2 a 50 rpm.....	75
<b>TABELA 8.</b> Validação interna da correlação proposta utilizando a equação de correlação linear para se obter a fração da dose absorvida – Aparato 2.....	78
<b>TABELA 9.</b> Validação interna da correlação proposta utilizando a equação de correlação para se obter a fração da dose absorvida – Aparato 4 – Gradiente de pH – Meios Biorrelevantes.....	80
<b>TABELA 10.</b> Validação interna da correlação proposta utilizando a equação de correlação para se obter a fração da dose absorvida – Aparato 4 – PBS + 0,02% P80.....	81
<b>TABELA 11.</b> Validação interna da correlação proposta utilizando a equação de correlação para se obter a fração da dose absorvida – Aparato 4 – Gradiente de pH – Meios Farmacopeicos.....	82

### CAPÍTULO 2

<b>TABELA 1.</b> Meios de dissolução simulando condição pré-prandial no TGI.....	96
<b>TABELA 2.</b> Meios de dissolução simulando condição pós-prandial no TGI .....	97

<b>TABELA 3.</b> Condições dos métodos utilizados no aparato de célula de fluxo simulando as condições pré e pós-prandial.....	97
<b>TABELA 4.</b> Estatísticas das Medidas Farmacocinéticas do MRF em Estado de Jejum.....	99
<b>TABELA 5.</b> Estatísticas das Medidas Farmacocinéticas do MRF em Estado Alimentado.....	99
<b>TABELA 6.</b> Intervalos de Confiança Paramétricos para a Razão das Médias das Formulações MT e MRF dos Dados Transformados em Logaritmo Natural (Ln) no estudo de bioequivalência em estado alimentado.....	108
<b>TABELA 7.</b> Intervalos de Confiança Paramétricos para a Razão das Médias das Formulações MT e MRF dos Dados Transformados em Logaritmo Natural (Ln) no estudo de bioequivalência em estado de jejum.....	109

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	31
2.1. Objetivos gerais.....	33
2.2 Objetivos específicos.....	33
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	35
3.1 Dissolução de medicamentos .....	37
3.1.1 Fatores que afetam a dissolução de fármacos.....	38
3.1.2 Uso do aparato 4 (Célula de Fluxo) no desenvolvimento de métodos biorrelevantes .....	42
3.2 Fisiologia e anatomia do trato gastrointestinal (TGI) .....	44
3.3 Estudos de Biodisponibilidade.....	46
3.4 Correlação <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i> .....	48
3.4.1 CIVIV e o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).....	49
3.5 Candesartana cilexetila .....	50
3.6 Cloridrato de tansulosina .....	52
<b>4. CAPÍTULO 1 - Avaliação Comparativa Entre a Cinética de Absorção <i>In vivo</i> e Perfis de Liberação <i>In vitro</i> para Candesartana Cilexetila Comprimidos</b> .....	55
<b>5. CAPÍTULO 2 - Aplicação de um Método de Dissolução Biorrelevante na Predição do Impacto da Administração de Tansulosina Cápsulas de Liberação Modificada com Alimentos.</b> .....	89
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	113
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	119









A absorção de fármacos, após administração de medicamentos por via oral, depende de uma série de processos. No caso de formas farmacêuticas sólidas de liberação convencional, a absorção acontecerá depois de adequada desintegração, liberação e dissolução do fármaco (PORTA, 2002), enquanto que, para formas de liberação modificada, ferramentas farmacotécnicas determinam de que forma o fármaco ficará disponível para dissolução e, posteriormente absorção.

A dissolução é, portanto, uma propriedade que contribui para a biodisponibilidade. Sendo assim, são relevantes os estudos para desenvolvimento de sistemas de dissolução que forneçam informações fundamentais do processo que possam ser correlacionadas com o desempenho *in vivo* da formulação (BANAKAR, 1992).

Na indústria farmacêutica, o teste de dissolução é uma ferramenta muito importante para auxiliar no desenvolvimento de novas formulações e garantir qualidade lote a lote de um medicamento. Uma correlação *in vitro* – *in vivo* (CIVIV) pode ser usada no desenvolvimento do medicamento, para definir as especificações de dissolução, e como suporte para bioensaios (MACHADO *et al.*, 2014). A conexão entre os dados do teste de dissolução e a disponibilidade *in vivo* é baseada no fato de que antes que o ingrediente farmacêutico ativo (IFA) ser absorvido, necessita, primeiramente, estar dissolvido nos fluidos do trato gastrointestinal (GI).

A CIVIV refere-se ao estabelecimento de uma relação racional entre as propriedades biológicas e as propriedades ou características físico-químicas de uma forma farmacêutica (BRASIL<sup>a</sup>, 2002). A otimização das condições de dissolução e consequente sucesso da CIVIV pode fornecer subsídios para utilização dos ensaios *in vitro* de forma preditiva aos estudos de biodisponibilidade, auxiliando no desenvolvimento de formulações e embasando processos de desenvolvimento de produtos. Entretanto, CIVIV não pode ser aplicada a todos os fármacos; assim isto acaba criando desafios referentes ao desenvolvimento de métodos de dissolução relevantes.

Para compostos pouco solúveis (SCB II e IV) e formulações de liberação modificada, a dissolução é a etapa limitante para o processo de absorção. Conseqüentemente, espera-se que os testes de dissolução sirvam como uma garantia para um desempenho *in vivo* adequado (COOK, 2012). No presente estudo,

estas duas características foram representadas pela candesartana cilexetila (CAN), um fármaco de classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) em formulações de liberação imediata e pelo cloridrato de tansulosina (TAN), um fármaco de classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade), formulado na forma de cápsulas com microgrânulos de liberação modificada.

A CAN é um pró-fármaco esterificado de candesartana, um antagonista do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1) (FUKUI *et al.*, 2003). Após a administração oral, a CAN sofre hidrólise na ligação éster, transformando-se em sua forma ativa, candesartana, que é aquiral. Possui biodisponibilidade oral de 15%, metabolismo hepático e intestinal, com meia-vida de 5 a 10 horas. A excreção ocorre 33% por via renal e 67% via fecal (PFEFFER, 2003).

O cloridrato de tansulosina é um antagonista altamente seletivo do  $\alpha$ -adrenoreceptor e tem sido usado no tratamento de sintomas no trato urinário inferior, sugestivos de hiperplasia prostática benigna. A formulação de cloridrato de tansulosina na forma de cápsulas de liberação modificada foi originalmente desenvolvida para reduzir a ocorrência de efeitos adversos (MAEDA *et al.*, 2011). A absorção da TAN de cápsulas com dose de 0,4 mg de liberação modificada (MR) é gradual, com biodisponibilidade de 100% em estado de jejum. Se o medicamento for administrado no estado de jejum, a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e a área sob a curva (ASC) aumentam em torno de 70 e 30%, respectivamente, comparado a quando a administração é realizada após a refeição. Por isso, há uma informação na bula recomendando que tansulosina liberação modificada seja administrada após desjejum, ou seja com alimentos (MICHEL, *et al.*, 2005; VAN DIJK *et al.*, 2010).

Com base no exposto, esse trabalho propõe-se a realizar uma avaliação da liberação *in vitro* da CAN a partir de comprimidos de liberação imediata utilizando aparatos USP 2 e 4, meios biorrelevantes e farmacopeicos e comparar com dados farmacocinéticos obtidos de voluntários saudáveis após administração dos comprimidos em estado de jejum, avaliando a possibilidade de CIVIV. Paralelamente, considerando o impacto significativo do alimento na biodisponibilidade da TAN, este trabalho propõe ainda o desenvolvimento e a aplicação de um modelo de dissolução *in vitro* com o intuito de avaliar se o impacto da alimentação em parâmetros farmacocinéticos da TAN está relacionado à liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica. Além disso, realizar uma

discussão crítica quanto à aplicabilidade do aparato 4 de dissolução na obtenção de modelos *in vitro* que possam ser correlacionados com parâmetros farmacocinéticos *in vivo*.



---

---

**OBJETIVOS**





## 2.1 Objetivos gerais

Avaliar e estabelecer relação entre dados de dissolução *in vitro* e perfis de absorção *in vivo* para duas formulações de candesartana cilexetila comprimidos, e criação de um modelo *in vitro* preditivo para absorção de tansulosina cápsulas de liberação modificada, nos estados de jejum (pré-prandial) e alimentado (pós-prandial).

## 2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um método de dissolução/liberação em aparato 2 (pás) e 4 (célula de fluxo), utilizando meios de dissolução biorrelevantes e farmacopeicos para CAN comprimidos;
- Tratar os dados de biodisponibilidade de duas formulações bioinequivalentes de CAN comprimidos, de modo a obter parâmetro passível de correlação (fração absorvida);
- Desenvolver e validar correlação *in vitro* – *in vivo* entre os dados de dissolução/liberação e absorção de CAN;
- Desenvolver metodologias de dissolução em aparato 4 para TAN cápsulas de liberação modificada, simulando condições pré e pós-prandiais;
- Tratar os dados de biodisponibilidade de uma formulação de TAN administrada nas condições pré e pós-prandiais;
- Avaliar comparativamente os perfis farmacocinéticos da TAN nas duas condições e os perfis de dissolução *in vitro* estabelecendo uma relação entre os dados.







### 3.1 Dissolução de medicamentos

Dissolução é o processo no qual uma substância sólida entra em solução, ou seja, se dissolve. A velocidade de dissolução é crítica para a absorção de fármacos administrados por meio de medicamentos, tanto de uso humano como veterinário. É uma propriedade importante que influencia a velocidade e a extensão da disponibilidade do fármaco *in vivo*. A avaliação da dissolução de fármacos a partir de formas farmacêuticas em condições padronizadas fornece informações importantes que são utilizadas para assegurar a qualidade do produto e a biodisponibilidade do fármaco; auxilia na escolha de excipientes e do processo de fabricação durante o desenvolvimento do medicamento e modificações pós-registro; e possibilita o estabelecimento de correlação *in vitro* – *in vivo* (MARQUES *et al.*, 2009).

A liberação do fármaco de uma forma farmacêutica sólida pode envolver três etapas fundamentais: desintegração, desagregação e, finalmente, dissolução. Esses processos podem ocorrer simultaneamente, com a consequente liberação do fármaco da forma farmacêutica. A velocidade pela qual o processo de dissolução ocorre determinará, portanto, a liberação do fármaco e a sua absorção (SERRA & STORPIRTIS, 2007).

Para realização do teste é necessário estabelecer condições, como: velocidade de agitação, volume e características do meio de dissolução (de acordo com a solubilidade do fármaco e o local do TGI onde ocorre sua absorção) e valor de cedência do fármaco em função do objetivo terapêutico do medicamento. Para isto são consideradas as características físico-químicas da molécula e o poder discriminativo desejável para o teste. Os resultados obtidos devem possibilitar comparar a influência do processo produtivo e das variáveis da formulação com a adequada e completa liberação do fármaco em determinado tempo (MANADAS *et al.*, 2002).

O teste de dissolução mais adequado é aquele que reflete mudanças feitas na formulação, no processo de fabricação, ou nas características físico-químicas do fármaco, quando essas mudanças influenciam significativamente a solubilidade ou atividade *in vivo* do produto (MARQUES & BROWN, 2002). Com base nestas considerações, pode-se afirmar que a dissolução *in vitro* é uma etapa relevante para prever o desempenho *in vivo* do medicamento.

O perfil de dissolução relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo (ABDOU, 1989) e representa uma técnica relativamente rápida e de custo reduzido para avaliar formas farmacêuticas sólidas antes do teste clínico. Permite, também, a obtenção de parâmetros cinéticos, que são importantes para determinar a velocidade e eficiência do processo, além do tempo necessário para que determinadas porcentagens do fármaco se dissolvam, possibilitando, desta forma, conclusões a respeito das características biofarmacotécnicas *in vitro* de determinada formulação (STORPIRTIS, 1999).

Os ensaios de dissolução recorrem a dois princípios técnicos básicos: o método da agitação em copo e o sistema de fluxo contínuo (FARINHA *et al.*, 1997 apud MANADAS *et al.*, 2002). Atualmente, a Farmacopeia Americana descreve sete aparatos para análise de dissolução/liberação de diferentes formas farmacêuticas:

- Cestas (Aparato de Dissolução USP 1);
- Pás (Aparato de Dissolução USP 2);
- Cilindros Recíprocos (Aparato de Dissolução USP 3);
- Célula de Fluxo (Aparato de Dissolução USP 4);
- Pá Sobre Disco (Aparato de Dissolução USP 5);
- Cilindro rotatório (Aparato de Dissolução USP 6) e;
- Suporte Recíproco (Aparato de Dissolução USP 7).

A escolha do aparato é normalmente realizada considerando-se as características físico-químicas da forma farmacêutica em estudo, o tipo de liberação e o que se espera do teste de dissolução. Para avaliação de perfil de dissolução, os aparatos convencionalmente utilizados são as cestas (USP 1) e as pás (USP 2), entretanto, é crescente a utilização dos aparatos de cilindros recíprocos (USP 3) e células de fluxo (USP 4) devido às vantagens que apresentam no desenvolvimento de métodos biorrelevantes. Este último receberá especial atenção neste trabalho e maiores detalhes serão discutidos nos tópicos subsequentes.

### **3.1.1 Fatores que afetam a dissolução de fármacos**

A taxa de dissolução de uma substância em um líquido é governada por parâmetros físicos como área de superfície, forma da partícula e solubilidade de substância no líquido. A dissolução pode ser considerada uma reação que resulta na

transferência de massa e pode ser descrita matematicamente pela lei de Noyes-Whitney e expressa como (SHARGEL, 2005):

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \times A \times (C_s - C_t)}{h} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde  $dC/dt$  é a velocidade de dissolução;  $C_s$  é a concentração de saturação;  $C_t$  é a concentração do fármaco no tempo  $t$ ;  $A$  é a área superficial da partícula;  $D$  é a constante de difusão; e  $h$  é a espessura da camada de saturação.

Diversos fatores podem influenciar a velocidade de dissolução de fármacos. Estes fatores podem ser derivados a partir da consideração dos termos que aparecem na equação de Noyes-Whitney (Eq. 1) e do conhecimento dos fatores que, por sua vez, os afetam, como (AUTON, 2005):

- $A$ , área superficial de sólido não dissolvido: presença de surfactantes, tamanho de partículas sólidas;
- $C_s$ , solubilidade do sólido no meio: hidrossolubilidade, pH, higroscopicidade, natureza química do sólido e surfactantes;
- $C$ , concentração do soluto na solução: volume de meio;
- $D$ , constante de difusão: viscosidade do meio;
- $H$ , espessura da camada de saturação: velocidade de agitação, da forma e posição do agitador (*in vitro*).

### 3.1.1.1 Tamanho de Partículas

Quanto menor o tamanho de partícula da substância, maior será a área de contato com o meio de dissolução e conseqüentemente maior será a taxa de dissolução. É fato de que alguns fabricantes e indústrias farmacêuticas utilizam este princípio para melhorar o perfil de dissolução de seus produtos, através da micronização das substâncias ativas (NOVAIS, 2007). O tamanho de partículas não parece ter grande influência em fármacos muito solúveis, entretanto, exerce efeito pronunciado no caso de fármacos com baixa solubilidade.

### **3.1.1.2 Solubilidade**

A solubilidade de um fármaco é parâmetro chave nos estudos de pré-formulação. Normalmente, a solubilidade (ou concentração de saturação) é determinada através da adição de um excesso de fármaco ao meio, agitação da suspensão durante um determinado período, filtração ou centrifugação da suspensão e medição da quantidade de fármaco dissolvida (MANADAS *et al.*, 2002).

A dissolução de formas farmacêuticas sólidas é um pré-requisito para a disposição do fármaco na circulação sistêmica após administração oral e depende, em grande parte, da solubilidade do fármaco. Solutos polares e espécies ionizadas são mais solúveis em água. Embora a ionização diminua a transferência de fármacos através das membranas biológicas, aumenta sua taxa de dissolução nos fluidos gastrointestinais. Enquanto uma grande parte do fármaco se encontra ionizada, a fração não ionizada é rapidamente absorvida, sendo repostada na mesma velocidade de forma que, dificilmente, torna-se uma etapa limitante da absorção. A solubilidade de ácidos e bases fracas é, geralmente, dependente do pH. Portanto, fármacos pouco solúveis absorvidos por difusão passiva exibem menor velocidade de absorção que os mais solúveis.

### **3.1.1.3 pH**

O pH pode influir sensivelmente na solubilidade e no grau de ionização de fármacos constituídos por ácidos ou bases fracas, portanto, diferenças significativas na dissolução podem ocorrer ao longo do trato gastrointestinal (TGI). A velocidade de dissolução de ácidos graxos aumenta com o aumento do pH, enquanto o oposto ocorre com as bases fracas, portanto, estas últimas tem velocidade máxima de dissolução no suco gástrico e os ácidos fracos, mínima velocidade de dissolução, que aumenta gradativamente, à medida que partículas desse ácido são transportadas através do TGI, para pHs menores. Esse fato é importante, pois, é desejável que as bases fracas tenham rápida velocidade de dissolução em pH ácido, uma vez que a residência no estômago é curta e essa velocidade pode diminuir sensivelmente no intestino delgado, não permitindo que se tenha total absorção do fármaco (GIBALDI, 1991).



#### **3.1.1.4 Natureza química**

Estima-se que cerca de 1/3 dos compostos orgânicos apresentem duas ou mais formas cristalinas diferentes. Esse fenômeno, denominado de polimorfismo, é responsável por diferenças nas propriedades físico-químicas dos polimorfos como densidade, difração de raios-X, estabilidade térmica, ponto de fusão e solubilidade, entre outras. Desta forma, os fármacos no estado sólido podem apresentar diferentes formas cristalinas com características distintas de dissolução, ocasionando alterações na biodisponibilidade. Além disso, o polimorfismo pode acarretar inúmeros problemas de formulação como crescimento de cristais e a perda da estabilidade física em suspensões, modificações do estado cristalino por processos tecnológicos e problemas de estabilidade química. Um fármaco pode não possuir forma cristalina, mas apresentar-se sob forma amorfa, geralmente, de maior solubilidade, o que, portanto, pode levar a diferentes respostas biológicas quando administrado por via oral (ARANCÍBIA, 1991; GIBALDI, 1991).

Outro aspecto importante com relação à forma cristalina é que esta pode apresentar diferentes estados de solvatação. Geralmente, quanto mais hidratado o cristal, menor sua solubilidade e dissolução, constituindo mais um fator que pode ser significativo na absorção de um fármaco. A formação de sais (principalmente sódicos e potássicos) é um recurso muito utilizado para aumentar a solubilidade de um ácido fraco. O mesmo acontece com sais ácidos de bases fracas, mas também é possível a formação de um ácido pouco solúvel (GIBALDI, 1991). A formação de ésteres geralmente leva a redução da dissolução (YATES, 1992).

#### **3.1.1.5 Surfactantes**

Os surfactantes ou tensoativos são utilizados tanto na forma farmacêutica quanto no meio de dissolução. Estas substâncias agem de forma a diminuir a tensão superficial do meio em volta do fármaco. Dentro deste grupo, destacam-se os polissorbatos (não iônicos), lauril sulfato de sódio (aniônicos) e o brometo de cetiltrimetilamônio (catiônicos) (NOVAIS, 2007).

Os tensoativos orgânicos (sais biliares) normalmente são aniônicos ou não iônicos, com valores de EHL (equilíbrio hidrofílico-lipofílico) entre 16 e 20 (ABUZARUR-ALOUL, 1997). Dessa forma, a opção pelo uso de tensoativos pode levar esses fatores em consideração, quando se deseja aproximar o teste *in vitro* da

situação *in vivo*. Os tensoativos diminuem a tensão superficial entre o sólido e o meio de dissolução favorecendo a dissolução, e podem ser utilizados mesmo abaixo da concentração micelar crítica (ABDOU, 1989).

### **3.1.1.6 Hidrodinâmica**

A hidrodinâmica em experimentos *in vitro* é refletida pelo design do aparelho, a intensidade de agitação, o fluxo e / ou volume, a viscosidade do meio, e a posição da forma farmacêutica durante o experimento. Número de Reynolds pode ser usado para avaliar a hidrodinâmica ao usar esses aparelhos. Número de Reynolds é uma ordem global que trata da relação entre as forças inerciais e podem variar de menos de 30 (Aparato 4) a mais de 2000 (Aparato 2). Atualmente não há dados referentes ao aparato 3 (FOTAKI & VERTZONI, 2010).

Recentemente, algumas informações referentes à hidrodinâmica e força mecânica exercida pelo TGI vem aparecendo com maior frequência na literatura, mas os dados ainda são limitados, principalmente devido à complexidade e variabilidade da motilidade intraluminal (SCHILLER *et al.*, 2005).

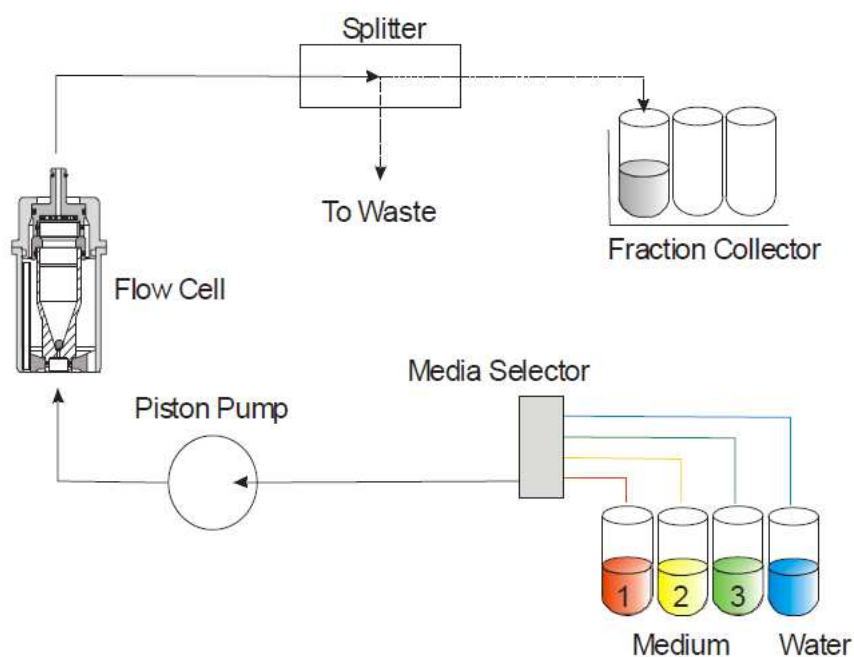
### **3.1.2 Uso do aparato 4 (Célula de Fluxo) no desenvolvimento de métodos biorrelevantes**

A correlação dos dados de dissolução *in vitro* com os perfis de absorção *in vivo* (CIVIV) é um dos principais desafios da pesquisa farmacêutica. Muitas tentativas têm sido feitas no planejamento de testes *in vitro* biorrelevantes levando em conta dados fisiológicos relevantes para melhorar o grau de previsibilidade da performance *in vivo*. Assim, uma simulação adequada das condições fisiológicas relevantes, em particular as alterações de pH ao longo dos sucessivos compartimentos GI, é um dos maiores pré-requisitos para estimar o comportamento *in vivo* de uma formulação em desenvolvimento (GUHMANN, 2013).

Desde a introdução do sistema de células de fluxo (Aparato USP 4), este tem se apresentado como um aparato alternativo aos métodos de pá e cesto convencionalmente utilizados, justamente pelas vantagens que apresenta em relação a sistema de dissolução tradicionais (CHEVALIER *et al.*, 2009; GRECO *et al.*, 2011; SHIKO *et al.*, 2011). A configuração do equipamento permite extração

contínua do fármaco, simulando a absorção através da circulação sistêmica, gerando fluxo intermitente de meio através da célula, onde a forma farmacêutica é colocada (QURESHI *et al.*, 1994).

O aparato de célula de fluxo (Figura 1) é constituído por: um reservatório para o meio de dissolução; uma bomba que faz circular o meio de dissolução através de uma célula de fluxo contínuo de material transparente, montada verticalmente, e munida de um filtro para a retenção das partículas não dissolvidas e um banho termostatizado que permite manter a temperatura de dissolução a 37 °C ( $\pm 0,5$  °C) (MANADAS *et al.*, 2002).



**Figura 1:** Esquema do aparelho de fluxo contínuo. Fonte: (SOTAX, 2012).

O fluxo consiste em um sistema no qual o meio de dissolução é impulsionado para cima passando pela forma farmacêutica dentro da célula e apresenta inúmeras vantagens como: condições de não saturação *sink* para fármacos de baixa solubilidade, fácil mudança de pH durante o teste, fácil coleta das amostras e automação do teste (MARCOLONGO, 2003).

Uma das mais importantes vantagens da célula de fluxo em relação aos sistemas *in vitro* tradicionais como a cesta e a pá, é que o meio e/ou fluxo podem ser alterados facilmente dentre uma mesma análise. Isto facilita o teste de robustez da formulação em relação a variações nas condições de ensaio simulando o ambiente

intraluminal. Além disso, correlações *in vitro* – *in vivo* podem ser facilmente realizadas devido ao perfil gerado correspondendo à liberação em todo o lúmen gastrointestinal (GI) (FOTAKI & REPPAS, 2005).

Outra vantagem relacionada ao sistema é que a hidrodinâmica intraluminal é simulada com maior eficiência comparada a outros sistemas *in vitro*. Considerando que a velocidade do fluxo linear é o parâmetro que define a "agitação" hidrodinâmica do fluido sobre a espécie, e levando em consideração o tempo de trânsito e comprimento do intestino delgado, observa-se que a velocidade axial (estimada) dos fluidos através dos compartimentos do TGI é de cerca de 1,5 a 1,3 cm/min nos estados de jejum e alimentado, respectivamente. Com a utilização do aparato 4, estes valores são facilmente alcançados utilizando fluxos de 8 mL/min ou menos

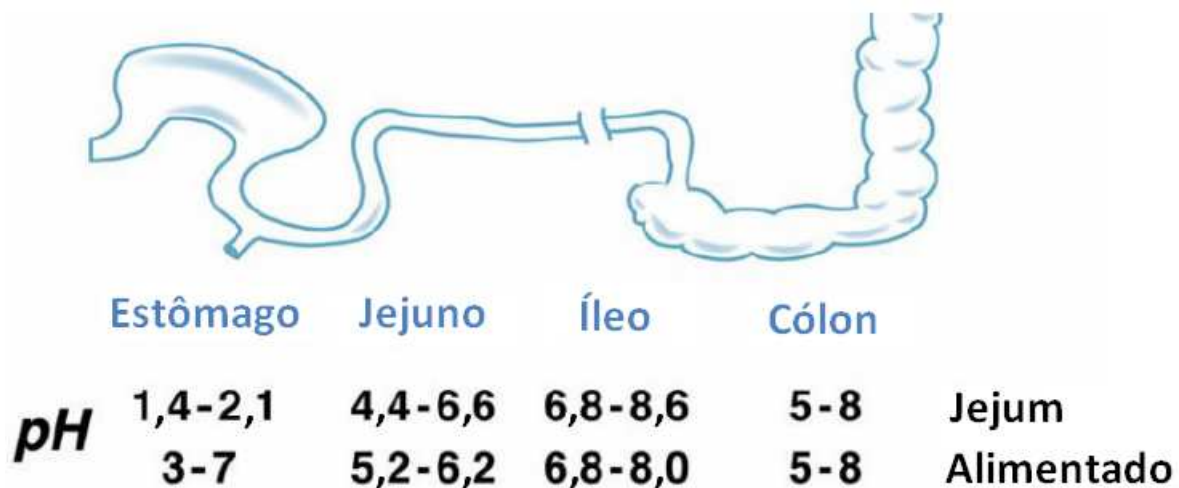
(FOTAKI & REPPAS, 2005). As taxas de fluxo entre 4 e 8 mL/min têm sido propostos para experimentos que simulam estado de jejum e alimentado (WANG *et al.*, 2009).

Com a configuração aberta, como apresentada na figura 1, é possível trabalhar sempre em condições *sink*, o que facilita a dissolução de fármacos de baixa solubilidade, bem como a mudança no meio de dissolução considerando fatores como pH e composição dos compartimentos do TGI. Estudos prévios tem mostrado que os dados obtidos com o sistema de células de fluxo refletem de forma mais eficaz a desempenho *in vivo* de alguns fármacos pouco solúveis (JINNO *et al.*, 2008; OKUMU *et al.*, 2008).

### **3.2 Fisiologia e anatomia do trato gastrointestinal (TGI)**

O TGI é composto pelo estômago, intestino delgado, intestino grosso e cólon (Figura 1). O intestino delgado é o maior dos órgãos citados (2 a 6 m), possuindo microvilosidades, que o tornam responsável por grande parte da absorção. A velocidade de dissolução e a extensão da absorção são influenciadas por diferentes parâmetros encontrados na fisiologia do TGI, como: motilidade gastrintestinal, fluxo sanguíneo, pH, capacidade tamponante, presença de tensoativos e volume luminal. Esses fatores podem ser alterados de acordo com o estado alimentado ou em jejum do indivíduo (FONSECA, 2007). Após a ingestão de uma refeição há mudanças na hidrodinâmica e no volume intraluminal (KLEIN, 2010).

O pH fisiológico e o tempo de esvaziamento do trato gastrointestinal variam ao longo de sua extensão, sofrendo influência da alimentação. No TGI, o pH aumenta do intestino delgado para intestino grosso (pH 6, 7-8). Os ensaios de dissolução de produtos de liberação prolongada de fármacos devem ser efetuadas durante toda a faixa de pH fisiológico (6,7-8) (GHOSH *et al.*, 2009).



**Figura 2:** Trato gastrointestinal humano com pH de cada compartimento (BHAL *et al.*, 2012).

Um medicamento, ao ser ingerido, atinge rapidamente o estômago, passando em seguida ao intestino delgado, contudo o tempo de esvaziamento gástrico pode acelerar ou retardar a velocidade e extensão da absorção do fármaco que ocorre no intestino delgado. O tempo total de trânsito no TGI vai depender de fatores inerentes ao fármaco, do volume gástrico, da temperatura corpórea, entre outros, e da diversidade do indivíduo, como estado alimentado ou em jejum, idade e integridade do TGI. A motilidade gastrointestinal também é relevante, pois é responsável pelo deslocamento do alimento e do medicamento ao longo do TGI com velocidade compatível com sua digestão e absorção (FONSECA, 2007).

Antes de alcançar o cólon, as formas farmacêuticas devem passar pelo estômago e por mais de 6 m do intestino delgado. O pH do trato gastrointestinal aumenta gradativamente do estômago ao íleo. No entanto, o pH do cólon cai para 5,0-8,0 devido à acidificação do conteúdo colônico causada pelos produtos da fermentação bacteriana. O valor relativamente elevado do pH antes e no cólon tem levado ao desenvolvimento e à síntese de polímeros que devem se dissolver em pH maior que 7,0 (ZARONI, 2006).

O pH é um parâmetro de grande importância na absorção dos fármacos, uma vez que estes só são absorvidos na forma não ionizada. A fração de cada forma depende do pH do meio de solubilização e do pKa do ativo. Assim, o pH do estômago pode facilitar a absorção de fármacos ácidos. Os segmentos do trato gastrointestinal diferem entre si em relação a valores de pH, o que permite uma maior ou menor absorção do fármaco, dependendo das características deste e do local onde ele se encontra. É importante destacar que o fármaco, para ser absorvido precisa atravessar as membranas celulares e que estas possuem caráter lipofílico, assim a forma não ionizada será praticamente a absorvida (FONSECA, 2007).

Uma vez que o TGI não é um sistema estático, a extensão em que ocorrem os fenômenos de liberação, decomposição, complexação e transporte através da parede gastrointestinal deve ser adicionalmente ponderada contra a taxa de trânsito da forma farmacêutica/fármaco através do TGI. Para que um fármaco seja bem absorvido, a sua liberação e transporte devem ser completados dentro do tempo limite para que o fármaco/forma farmacêutica atravesse a zona do TGI, onde é absorvido e a decomposição e complexação devem ocorrer mais lentamente do que a liberação ou a absorção (MANADAS *et al.*, 2002).

### **3.3 Estudos de Biodisponibilidade**

A legislação brasileira, tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelece que, para um medicamento ser registrado como genérico, é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência indicado pela ANVISA (STORPIRTIS *et al.*, 2004; BRASIL, 2006).

Equivalentes farmacêuticos são medicamentos que possuem mesma forma farmacêutica, mesma via de administração e mesma quantidade da mesma substância ativa, podendo ou não conter excipientes idênticos, desde que bem estabelecidos para a função destinada. Devem cumprir com os mesmos requisitos da monografia individual da Farmacopeia Brasileira, preferencialmente, ou com os de outros compêndios oficiais, normas ou regulamentos específicos aprovados/referendados pela ANVISA ou, na ausência desses, com outros padrões de qualidade e desempenho (BRASIL, 2010).

Por definição, a biodisponibilidade de um medicamento administrado sob a forma de solução injetável intravenosa é total ou 100%, uma vez que toda dose administrada está disponível para exercer o efeito, enquanto a administração de um medicamento por qualquer outra via implica barreiras potenciais que podem comprometer o aproveitamento total da dose (STORPIRTIS, 2009).

Segundo o FDA, a biodisponibilidade indica a velocidade e extensão pelas quais um fármaco é absorvido a partir de uma forma farmacêutica e torna-se disponível no sítio de ação (FDA, 1992). Definição semelhante foi adotada pela EMA, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, em 1998; entretanto, este órgão considera que a substância na circulação sistêmica está em contínua troca com a substância no local de ação e, assim sendo, pode-se definir que a biodisponibilidade refere-se à extensão e à velocidade pelas quais um fármaco é liberado da forma farmacêutica para a circulação sistêmica (PORTA, 1999).

A biodisponibilidade relativa corresponde à comparação das biodisponibilidades de medicamentos administrados por via extravascular. Conforme descrito anteriormente, ensaios de biodisponibilidade são requeridos para o registro de medicamentos genéricos, empregando-se o critério de aceitação da bioequivalência definidos a partir das razões dos parâmetros relacionados à extensão e à velocidade da absorção, representados como se segue (BRASIL, 2006):

Extensão ou quantidade absorvida:  $ASC_{0-t}(\text{teste})/ASC_{0-t}(\text{referência})$ ;

Velocidade da absorção:  $C_{\max}(\text{teste})/C_{\max}(\text{referência})$ .

Os órgãos regulatórios exigem evidências de biodisponibilidade média relativa expressa como razão entre as médias dos referidos parâmetros farmacocinéticos dos produtos testes e referência, utilizando-se dados logaritmicamente transformados. Os medicamentos serão considerados bioequivalentes quando IC de 90% estiver compreendido entre 80 e 125% (BRASIL, 2006).

Desse modo, o teste de bioequivalência realizado de acordo com as Boas Práticas de Clínica (BPC) e de Laboratório (BPL), empregando-se voluntários sadios, é fundamental para garantir que dois medicamentos que comprovaram a equivalência farmacêutica apresentarão o mesmo desempenho no organismo em relação à biodisponibilidade expressa em termos da quantidade absorvida do

fármaco, a partir da forma farmacêutica administrada e da velocidade do processo de absorção (STORPIRTIS *et al.*, 2004).

### 3.4 Correlação *in vitro* - *in vivo*

A correlação *in vitro* - *in vivo* (CIVIV) é definida pelo órgão regulatório americano (FDA, 1997) como um modelo matemático preditivo que descreve a relação entre uma propriedade *in vitro* de uma forma farmacêutica e uma resposta *in vivo*. Enquanto que a ANVISA define como estabelecimento de uma relação racional entre as propriedades biológicas, ou parâmetros derivados destas, produzidas por uma forma farmacêutica e suas propriedades ou características físico-químicas (BRASIL<sup>a</sup>, 2002). Do ponto de vista biofarmacêutico, a correlação poderia ser definida como a relação entre parâmetros de liberação *in vitro* e parâmetros de absorção *in vivo* (BOSE & WUI, 2013).

As propriedades biológicas mais comumente utilizadas são um ou mais parâmetros farmacocinéticos tais como área sob a curva de concentrações plasmáticas do fármaco versus tempo (ASC) ou concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), obtidos após a administração da forma farmacêutica. A característica físico-química mais empregada é o comportamento de dissolução *in vitro* (isto é, porcentagem do fármaco dissolvido sob condições experimentais determinadas). A relação entre as duas propriedades, biológica e físico-química é, então, expressa quantitativamente (BRASIL<sup>a</sup>, 2002).

Os parâmetros de dissolução *in vitro* geralmente são representados por um teste de dissolução adequado e a curva de absorção *in vivo* é frequentemente determinada pela técnica de deconvolução usando modelos dependentes (WAGNER & NELSON, 1968) ou modelo independente (*USP Subcommittee on Biopharmaceutics* 1988; GIBALDI & PERRIER, 1982).

Quatro níveis de CIVIV podem ser estabelecidos (UPPOOR, 2001; SIRISUTH & EDDINGTON, 2004; BRASIL<sup>a</sup>, 2002; FDA, 1997; SHARGEL, 2005):

O nível A de correlação é o mais alto que pode ser obtido e representa uma relação ponto a ponto entre a dissolução *in vitro* do fármaco, a partir de forma farmacêutica, e a velocidade de entrada do mesmo no organismo *in vivo*. Este nível permite a previsão do desempenho biológico de um medicamento em situações nas quais ocorreram pequenas alterações no processo de produção, após o seu registro.



Neste caso, não haveria necessidade de novos estudos de biodisponibilidade em seres humanos (EMANI, 2006). Diferentemente dos outros níveis, uma correlação ponto a ponto é desenvolvida, utilizando cada concentração plasmática e cada porcentual de dissolução obtido *in vitro*, refletindo inteiramente, deste modo, a curva de níveis plasmáticos. Como resultado, o perfil de dissolução *in vitro* pode servir como um substituto do desempenho do fármaco *in vivo* (BRASIL<sup>a</sup>, 2002).

A correlação de nível B utiliza os princípios da análise estatística de momentos, como o tempo médio de dissolução *in vitro* que é comparado ao tempo médio de residência ou mesmo ao tempo médio de dissolução *in vivo*. A correlação de nível C relaciona um ponto de dissolução *in vitro*, como o tempo necessário para dissolução de 50% ( $t_{50\%}$ ) ou 90% ( $t_{90\%}$ ) do fármaco presente na forma farmacêutica, a um parâmetro farmacocinético *in vivo*, como a ASC e  $C_{max}$  ou tempo para atingir  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ) (BRASIL<sup>a</sup>, 2002).

O quarto nível de correlação, não reconhecido por todos os órgãos regulatórios (ANVISA), é o nível C múltiplo, que é uma correção que envolve um ou diversos parâmetros farmacocinéticos versus a quantidade de fármaco dissolvido em diversos tempos. Este nível de correlação é mais significativo do que o nível C.

### **3.4.1 CIVIV e o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)**

O sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) pode ser usado para determinar especificações de dissolução *in vitro* e também pode fornecer as bases para prever quando a correlação *in vivo-in vitro* (CIVIV) pode ser obtida com sucesso (Brasil<sup>b</sup>, 2002).

De acordo com o sistema, a solubilidade de determinado fármaco é considerada alta quando a maior dose empregada é solúvel em até 250 mL de um meio aquoso numa faixa de pH fisiologicamente relevante (de 1 a 7,5) (COLONESI DA ROSA, 2005). Desta forma um fármaco de alta permeabilidade é, geralmente, aquele cuja biodisponibilidade absoluta é maior que 90% na ausência de instabilidade no trato gastrointestinal ou quando este parâmetro é determinado experimentalmente (Brasil<sup>b</sup>, 2002).

Os compostos que pertencem à Classe I, são compostos com elevada solubilidade e permeabilidade, devem ser rapidamente solubilizados quando incluídos em formas farmacêuticas de liberação imediata e, também, ser

rapidamente transportados através da parede do TGI. Desta forma, os ensaios de dissolução para estas formulações necessitam apenas da verificação de que o fármaco é de fato rapidamente liberado da sua forma farmacêutica num meio aquoso para garantir a bioequivalência (AMIDON *et al.*, 1995; DRESSMAN *et al.*, 1998; MANADAS *et al.*, 2002). Nesta classe é possível a bioisenção (DICKINSON *et al.*, 2008).

A CIVIV também pode ser obtida, se a velocidade de dissolução for menor que a velocidade de esvaziamento gástrico, pois, nestes termos, a etapa limitante da absorção é a dissolução (AMIDON *et al.*, 1995). Deste modo, os fármacos de classe I, em sistemas de liberação controlada, também são candidatos potenciais ao desenvolvimento de CIVIV.

Na classe II, a etapa limitante é a dissolução que pode ser devido à relação dose/solubilidade ou a problemas cinéticos, que ai pode ser relacionado à velocidade de dissolução (DRESSMAN *et al.*, 1998). Neste segundo caso, a CIVIV é esperada se a dissolução *in vitro* refletir a dissolução *in vivo*. A obtenção da CIVIV pode ser dependente do desenvolvimento e avaliação das condições do ensaio de dissolução *in vitro* (AMIDON *et al.*, 1995; DRESSMAN *et al.*, 1998).

Nas classes III e IV que apresentam baixa permeabilidade, o estabelecimento da CIVIV é limitado ou não é esperado (AMIDON *et al.*, 1995). Em função dos fármacos de classe III, que apresentam alta solubilidade, a bioisenção desta classe também vem sendo discutida (DRESSMAN, 2004).

O SCB e utilizado para descrever os fatores chaves para a predição da absorção de fármacos e identificar como mudanças na formulação ou processo poderiam afetar a farmacocinética e, conseqüentemente, a segurança e eficácia (DICKINSON *et al.*, 2008).

As condições fisiológicas do local de administração devem ser consideradas na seleção das condições do teste de dissolução. A complexidade do mecanismo de liberação e a falta de conhecimento sobre as condições, nas quais ocorre à liberação, podem ser uma dificuldade para o delineamento do teste *in vitro* para correlação *in vivo* (SIEWERT, *et al.*, 2003).

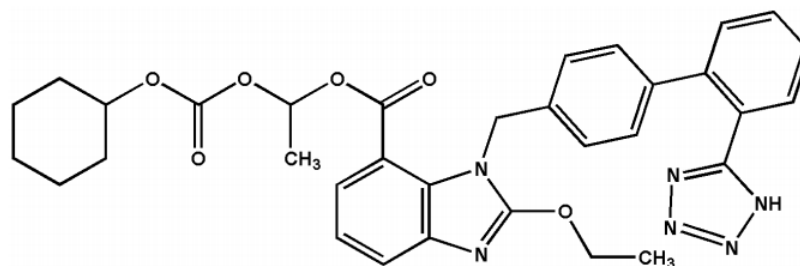
### **3.5 Candesaratana Cilexetila**

A candesartana cilexetila, um antagonista seletivo para o subtipo AT1 de receptor de angiotensina II, foi descoberta no Japão em 1982, sendo indicado para o tratamento de hipertensão arterial em adultos e crianças de 1 a 17 anos de idade. O medicamento em estudo é administrado oralmente em doses diárias variando de 8 mg a 32 mg. Pode ser usado como mono terapia ou associado a outros agentes anti-hipertensivos (SUZUKI, 2010).

Nas últimas décadas, os fármacos anti-hipertensivos têm demonstrado benefícios cardiovasculares, além da redução da pressão arterial. A candesartana cilexetila também é indicado no tratamento da insuficiência cardíaca em adultos com disfunção sistólica ventricular esquerda, para reduzir a mortalidade cardiovascular e para reduzir as hospitalizações por insuficiência cardíaca (MEREDITH, 2007).

Baseado em sua solubilidade em condições de pH fisiológico e sua característica de absorção, segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, este fármaco é pertencente à classe II, ou seja, possui baixa solubilidade e alta permeabilidade. Trata-se de um ácido fraco com pKa 6,0 (SHUKLA & PATEL, 2010).

A baixa solubilidade de candesartana cilexetila em toda a faixa de pH fisiológico resulta em absorção incompleta pelo trato gastrointestinal e, portanto, a biodisponibilidade oral situa-se em torno de 15%. Candesartana cilexetila, é quimicamente descrito como 3-((2'-(2H-tetrasol-5-yl)bifenil-4-yl)metil)-2-etoxi-3H-benzi[d]imidazol-4-ácido carboxílico, fórmula molecular C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, peso molecular de 610,67. Constitui-se de uma mistura racêmica contendo um centro quiral no grupo ciclo-hexil-o-carbonil-o etil éster. A estrutura química está ilustrada na Figura 3 (SUZUKI, 2010).



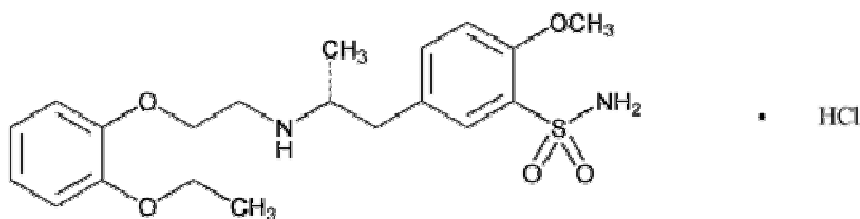
**Figura 3:** Estrutura química da candesartana cilexetila (UNITED, 2013).

Fármacos de classe II como a candesartana cilexetila possuem características problemáticas de dissolução. Uma liberação suficiente e reprodutível para estes compostos pode ser garantida apenas com um alto processo de qualidade de produção (GALIA *et al.*, 1999).

### 3.6 Tansulosina

O cloridrato de tansulosina (Figura 4) é um novo tipo de antagonista altamente seletivo dos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos ( $\alpha$ -AR). O fármaco tem sido utilizado clinicamente para obstrução urinária em pacientes com hiperplasia prostática benigna. O medicamento está disponível no mercado nacional na forma de cápsulas com micro grânulos e comprimidos revestidos, contendo 0,4 mg de ativo (LI DING *et al.*, 2001).

Trata-se de um pó cristalino branco que funde com decomposição a aproximadamente 230°C. É moderadamente solúvel em água e metanol, ligeiramente solúvel em ácido acético glacial e etanol e praticamente insolúvel em éter. A fórmula molecular do cloridrato de tansulosina é  $C_{20}H_{28}N_2O_5S \cdot HCl$ , nome químico (2)-(R)-5-[2-[[2-(O-etoxifenoxi)etil]amino]propil]-2-metoxibenzensulfonamida cloridrato e peso molecular de 444,98 (LI DING *et al.*, 2001).



**Figura 4:** Estrutura química do Cloridrato de Tansulosina (UNITED, 2012).

Desde a sua introdução na década de 90, a tansulosina vem evoluindo para o  $\alpha$ -AR mais comumente utilizado para esta indicação devida a razão eficácia/segurança favorável que é explicado pela combinação entre a relativa seletividade para os subtipos  $\alpha$ 1A-AR e  $\alpha$ 1D-AR, a distribuição seletiva para os tecidos prostáticos e a formulação de liberação modificada (LM) (MICHEL, *et al.*, 2005).

A absorção da tansulosina de cápsulas com dose de 0,4 mg de liberação modificada (LM) é gradual, com biodisponibilidade de 100% em estado de jejum. A farmacocinética é linear, tanto para dose única, quanto para doses múltiplas. O tempo de concentração máxima ( $t_{max}$ ) é de 4-5 horas quando administrado em jejum e de 6-7 horas quando administrado com alimento. Se o medicamento for administrado no estado de jejum, a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e a área sob a curva (ASC) aumentam em torno de 70 e 30%, respectivamente, comparado a quando a administração é realizada após a refeição. Por isso, há uma informação na bula recomendando que tansulosina MR seja administrada após desjejum. A falta de cumprimento desta recomendação pode levar a um aumento de exposição à tansulosina, que pode levar a um maior risco de efeitos adversos relacionados à vasodilatação, como tonturas, dores de cabeça, astenia, taquicardia/palpitação, hipotensão ortostática e síncope (MICHEL, *et al.*, 2005; VAN DIJK *et al.*, 2010).



---

## **CAPÍTULO 1\***

Fábio Pinheiro de Souza, Jaison Carlosso Machado e Nadia Maria Volpato.  
Avaliação Comparativa Entre a Cinética de Absorção *In vivo* e Perfis de Liberação *In vitro* para Candesartana Cilexetila Comprimidos.

---

\* O capítulo foi excluído da dissertação, pois será submetido à publicação conforme Resolução nº 002/2011.





## Resumo

A correlação entre os dados *in vitro* e *in vivo* é frequentemente empregada durante o desenvolvimento farmacêutico com o intuito de reduzir o tempo de pesquisa e aperfeiçoar a formulação. Neste estudo, foram avaliados diferentes metodologias de dissolução, utilizando aparatos 2 (pás) e 4 (células de fluxo), com o intuito de desenvolver uma correlação entre os dados de dissolução e os dados de absorção *in vivo* obtidos através de um estudo de bioequivalência de duas formulações de candesartana cilexetila (CAN) com biodisponibilidades diferentes. Os melhores resultados, tanto em aparato 2 quanto em aparato 4 foram obtidos utilizando tampão fosfato (PBS) pH 6,5 e polissorbato 80 (P80), além da simulação de gradiente de pH utilizando aparato 4. Após aplicação de regressão linear entre os dados *in vitro* - *in vivo*, para as condições de dissolução mais promissoras, obteve-se um coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,959 para o método com aparato 2 em PBS pH 6,5 + P80 0,1%; 0,996 para o método com aparato 4 em PBS pH 6,5 + P80 0,02%; e 0,986 para o método com simulação de um gradiente de pH em aparato 4. O poder preditivo dos métodos foi avaliado utilizando procedimento de validação interna, e os resultados foram considerados satisfatórios.

**Palavras chave:** Candesartana cilexetila; Dissolução; Células de fluxo; Estudos *in vivo*.







































































---

## **CAPÍTULO 2**

Fábio Pinheiro de Souza, Jaison Carlosso Machado e Nadia Maria Volpato.  
Aplicação de um Método de Dissolução Biorrelevante na Predição do Impacto da  
Administração de Tansulosina Cápsulas de Liberação Modificada com Alimentos.

---

\* O capítulo foi excluído da dissertação, pois será submetido à publicação conforme  
Resolução nº 002/2011.



## Resumo

Na administração de medicamentos por via oral, a velocidade e a extensão de absorção de fármacos ao longo do trato gastrointestinal são altamente dependentes de fatores físico-químicos, fisiológicos e de formulação. Dentre os fatores fisiológicos, o efeito dos alimentos merece atenção especial neste estudo. O cloridrato de tansulosina (TAN), se administrado em jejum, apresenta um aumento em torno de 70 e 30% em  $C_{max}$  e a área sob a curva (ASC), respectivamente, comparado a quando a administração é realizada após a refeição. Desta forma, este estudo propõe criação de um modelo de dissolução *in vitro* com o intuito de avaliar se o impacto da alimentação em parâmetros farmacocinéticos da tansulosina está relacionado à liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica. Foi utilizado aparato de dissolução de células de fluxo, com simulação do gradiente de pH *in vitro* nas duas condições de administração e os dados de dissolução/liberação foram comparados à resultados *in vivo*. Após regressão linear e correlação de dados, obteve-se um coeficiente de correção de 0,9751 para o modelo que simulou a condição de jejum e 0,9379 para o modelo que simulou a condição alimentada. Os resultados foram considerados promissores e estes poderiam ser utilizados para avaliar formulações com o intuito de prever o comportamento *in vivo*.

**Palavras-chave:** Tansulosina; Dissolução Biorrelevante; Células de fluxo; Estudos *in vivo*.

















































---

---

## CONSIDERAÇÕES FINAIS



A integração entre os conceitos de biofarmácia, farmacocinética e farmacodinâmica permite a compreensão dos fenômenos decorrentes da exposição de um determinado organismo a um fármaco. Estas áreas de conhecimento consideram, respectivamente, as fases de liberação e dissolução do fármaco, os fenômenos que determinam a variação da concentração do fármaco nos fluidos corporais em função do tempo, e o efeito ou resposta terapêutica.

No que se refere aos ensaios *in vitro*, os testes de dissolução tem um papel importante em várias áreas relacionadas ao desenvolvimento de medicamentos, seja como uma ferramenta de controle de qualidade, monitorando a liberação do fármaco a partir de uma forma farmacêutica lote a lote, ou, em situações especiais, simulando *in vitro* o desempenho *in vivo* do produto, de forma a guiar o desenvolvimento de formulações e as avaliações pré e pós bioequivalência.

A possibilidade de substituição de testes clínicos por ensaios de dissolução *in vitro* vem ganhando cada vez mais relevância dentro dos órgãos regulatórios internacionais, e recentemente também no Brasil, através da inserção de uma resolução que trata da bioisenção de estudos de bioequivalência para alguns fármacos de classe biofarmacêutica I, listados nesta legislação (RDC nº 37 – BRASIL, 2011). Entretanto, as agências europeias (EMA) e americanas (FDA) permitem bioisenções de medicamentos contendo fármacos de classes I, II e III, enquanto a ANVISA iniciou apenas com esta possibilidade, ou seja, em casos de fármacos de classe I.

O sistema de classificação biofarmacêutica também tem direcionado o desenvolvimento e interpretação de dados de dissolução *in vitro*, para que o objetivo de prever o comportamento *in vivo* seja alcançado. Quando se atinge este objetivo, considera-se a metodologia de dissolução como “biorrelevante”, ou seja, o perfil de liberação/dissolução gerado tem uma relação com os parâmetros farmacocinéticos após administração por via oral. Para que isto seja possível, o ideal é que a dissolução seja o passo limitante para a absorção, o que ocorre apenas em medicamentos contendo fármacos de classe II, ou nos casos de fármacos de classe I formulados em formas farmacêuticas onde a velocidade de dissolução for menor que a velocidade de esvaziamento gástrico. Estes últimos são representados pelas formas farmacêuticas de liberação modificada e, nestes termos, a etapa limitante da absorção continua sendo a dissolução.

O presente trabalho se propôs a explorar dois medicamentos que continham estas características clássicas. Primeiramente, foi estudado o caso da candesartana cilexetila, um fármaco de classe II, formulado em comprimidos de liberação imediata. A partir de um resultado de bioinequivalência de duas formulações, fornecido pela indústria farmacêutica Prati-Donaduzzi, estabeleceu-se o desafio de poder observar *in vitro* as diferenças resultantes do estudo *in vivo*. Os resultados prévios de análise de dissolução em aparato 2 (pá) utilizando condições indicadas pelo FDA para controle de qualidade do medicamento não indicavam diferenças de comportamento entre os produtos.

Considerando as características do fármaco, um ácido fraco com solubilidade extremamente baixa e pH-dependente, o aparato de célula de fluxo, mostrou-se ferramenta mais promissora para que uma correlação com dados *in vivo* fosse obtida. Em função do desenho do aparato, que possui um mecanismo constante de reposição de meio de dissolução, ou seja, o meio que entra em contato com a forma farmacêutica é sempre novo, foi possível avaliar a dissolução de CAN com quantidades menores de tensoativo, o que permitiu evidenciar as diferenças entre as formulações, sem que esta avaliação fosse afetada, fisicoquimicamente, pela aproximação da saturação do meio com CAN. Esta condição mostrou-se muito vantajosa em relação aos resultados utilizando o aparato 2, onde o volume de meio era limitado a 1L. Além de manter a condição *sink*, a utilização do aparato 4 possibilitou alteração no pH e na composição do meio no decorrer do teste, simulando desta forma as condições *in vivo* com mais fidelidade.

Estas vantagens se refletiram nos resultados positivos encontrados após regressão linear dos dados de dissolução e absorção. Obteve-se um coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,959 para o método com aparato 2 em PBS pH 6,5 + P80 0,1%; 0,996 para o método com aparato 4 em PBS pH 6,5 + P80 0,02%; e 0,986 para o método com simulação de gradiente de pH em aparato 4, com meios farmacopeicos e 0,971 com a utilização de meios biorrelevantes. Apesar de o coeficiente de correlação resultante do método com aparato 2 apontar para uma correlação linear, esta correlação não foi considerada satisfatória do ponto de vista de previsibilidade, pois vários pontos experimentais ficaram fora do previsto pelo modelo. O oposto se observou nas avaliações em aparato 4, com correlações lineares mais altas e com poder preditivo dentro do especificado pelo FDA.

No segundo trabalho, o cloridrato de tansulosina, um fármaco de classe I, formulado em cápsulas contendo microgrânulos de liberação modificada, foi avaliado quanto ao impacto do alimento na liberação *in vivo* e de que forma isto poderia ser previsto através da configuração de um modelo de dissolução *in vitro*, utilizando meios de dissolução biorrelevantes e aparato de células de fluxo, a qual possibilitaria a simulação da liberação do fármaco nos diferentes segmentos do TGI.

A absorção da tansulosina de cápsulas com dose de 0,4 mg de liberação modificada (MR) é gradual, com tempo de concentração máxima ( $t_{max}$ ) de 4-5 horas quando administrado em jejum e de 6-7 horas quando administrado com alimento. Se o medicamento for administrado no estado de jejum, a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e a área sob a curva (ASC) aumentam em torno de 70 e 30%, respectivamente, comparado a quando a administração é realizada após a refeição (MICHEL, *et al.*, 2005; VAN DIJK *et al.*, 2010).

Assim, considerando os efeitos dos alimentos, que podem induzir direta ou indiretamente alterações nas condições do trato gastrointestinal (GI), incluindo tempo de esvaziamento gástrico e mobilidade intestinal, conteúdo do lúmen, pH, força iônica, osmolaridade, entre outras (QIU *et al.*, 2008), o modelo de dissolução *in vitro* deveria conter estas variáveis, visto que estas alterações podem tanto acelerar a dissolução de fármacos pouco solúveis, e conseqüentemente sua absorção, como retardar ou diminuir a dissolução de fármacos ou formulações onde o fenômeno é pH-dependente. A utilização do aparato de célula de fluxo apresentou-se como uma valiosa ferramenta neste caso, pela hidrodinâmica biorrelevante observada e, principalmente pela possibilidade de simular a liberação do fármaco em todo o trato GI.

A utilização de meios biorrelevantes possibilitou também simular a composição dos diferentes segmentos do TGI. O pH do quimo depois de uma refeição sólida é menor do que o pH do fluido intestinal em jejum, enquanto a capacidade de tampão e osmolaridade mostram um aumento acentuado. Aliado a esses fatores, o acentuado aumento da produção da bile também pode influenciar a biodisponibilidade de um fármaco. Com o intuito de alcançar a maior capacidade de tamponamento e osmolaridade possível, mantendo o pH baixo, para representar as condições do estado alimentado no intestino delgado proximal, FeSSIF contém um tampão acetato. Taurocolato e lecitina estão presentes em concentrações

consideravelmente mais elevadas do que no meio jejum para refletir a resposta biliar na ingestão da refeição (KLEIN, 2010).

As diferenças na composição e pH dos meios modelaram o perfil de liberação de TAN de forma a se correlacionar com os dados de absorção e obter um coeficiente de correlação de 0,9379 para o modelo que simulou o estado alimentado e 0,9751 para o modelo que simulou a condição em jejum. Os resultados foram considerados satisfatórios, dada a complexidade de simular a liberação no TGI alimentado, o qual apresenta uma maior variabilidade na associação em relação ao estado de jejum.

Em resumo, considerando a composição dos meios e a hidrodinâmica do dispositivo, métodos de dissolução biorrelevantes podem ser utilizados para guiar o desenvolvimento de formulações, identificar o efeito dos alimentos sobre a dissolução e biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral, e em alguns casos substituir ensaios clínicos. A importância do desenvolvimento de um ensaio de dissolução preditivo vem aumentando, devido ao fato da maioria dos fármacos desenvolvidos, atualmente, serem de baixa solubilidade, bem como pelos desafios relacionados às formas de liberação modificada de fármacos.

---

---

**REFERÊNCIAS**





ABDOU, H.M. Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence. Easton: Mack Publishing Company, 554p. 1989.

AMIDON, G. L. ; LENNERNÄS, H. ; SHAH, V. P. ; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ARANCÍBIA, A. Calidad Biofarmacéutica. Estudios in vitro e in vivo. *Acta Farm. Bonaense*, Buenos Aires, v. 10, n. 2, p. 123-133, 1991.

AUTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, P. 25 ; 35-46 ; 230-231, 2005.

BANAKAR, U. V. Pharmaceutical dissolution testing. New York: Marcell Dekker, p. 307 – 395. 1992.

BHAL, S. K. Lipophilicity Descriptors: Understanding When to Use Log P & Log D. 2012.

BOSE, A.; WUI, W. T. Convolution and validation of in vitro–in vivo correlation of water-insoluble sustained-release drug (domperidone) by first-order pharmacokinetic one-compartmental model fitting equation. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* v.38, p. 191–200, 2013.

BRASIL<sup>a</sup>, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 482 Guia para estudos de correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV). Diário Oficial da União, Brasília, 19 Mar. 2002.

BRASIL<sup>b</sup>, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 483 Guia para Ensaio de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata (FFSOLI). Diário Oficial da União, Brasília, 19 Mar. 2002.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 1170 – Guia para provas de biodisponibilidade relativa / bioequivalência de medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, 24 Abr. 2006.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 37 – Guia para Bioisenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa. Diário Oficial da União, Brasília, 03 Ago. 2011.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 31 – Guia para realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Diário Oficial da União, Brasília, 11 Ago. 2010.

COLONESI DA ROSA, T. C. Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos. Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Rio de Janeiro. 2005.

CHEVALIER, E., VIANA, M., ARTAUD, A., CHOMETTE, L., HADDOUCHI, S., DEVIDTS, G., CHULIA, D. Comparison of three dissolution apparatuses for testing calcium phosphate pellets used as ibuprofen delivery systems. AAPS Pharm. Sci. Tech. v.10, p.597–605, 2009.

COOK, J. A. A Technique to Estimate In Vivo Dissolution Profiles Without Data from a Solution. The AAPS Journal, Vol. 14, No. 3, 2012.

DICKINSON, P. A.; LEE, W. W.; STOTT, P. W.; TOWNSEND, A. I.; SMART, J. P; HAMMETT, T.; BILLET, L.; BEHN, S.; GIBB, R. C.; ABRAHAMSSON, B. Clinical relevance of dissolution testing in quality by design. The AAPS Journal v. 10, n. 2, p. 280-290, 2008.

DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; REPPAS, C.; SHAH, V. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. Pharmaceutical Research, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.

EMANI, J. *In vitro – in vivo* correlation: From theory to applications. Journal of Pharmacia and Pharmaceutical Sciences. Vol. 9, n. 2, pag. 169-189, 2006.

FARINHA, A., PAIS, J. P., BICA, A. O ensaio de dissolução *in vitro* na avaliação da qualidade biofarmacêutica. LEF - Boletim, Lisboa, v. 4, n. 15, p. 1-7, 1997.

FDA. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: Development, evaluation and application of *In vitro/In vivo* correlations. Rockville 1997.

FOTAKI, N., SYMILLIDES, M., REPPAS, C. *In vitro* versus canine data for predicting input profiles of isosorbide-5-mononitrate from oral extended release products on a confidence interval basis. Eur. J. Pharm. Sci. 24, 115–122, 2005.

FOTAKI, N; VERTZONI, M. Biorelevant Dissolution Methods and Their Applications in *In Vitro-In Vivo* Correlations for Oral Formulations. The Open Drug Delivery Journal. vol 4, 2-13. 2010.

FONSECA, L. B. Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida. Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Farmácia. Dissertação (mestrado) – UFRJ. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2007.

FUKUI, T.; RAHMAN, M.; HAYASHI, K.; TAKEDA, K.; HIGAKI, J.; SATO, T.; FUKUSHIMA, M.; SAKAMOTO, J.; MORITA, S.; OGIHARA, T.; FUKIYAMA, K.; FUJISHIMA, M.; SARUTA, T.; CASE-J Study Group. Candesartan Antihypertensive Survival Evaluation in Japan (CASE-J) trial of cardiovascular events in high-risk hypertensive patients: rationale, design, and methods. Hypertens Res. Dec; 26 (12) 979-90, 2003.

GALIA E., HORTON J., DRESSMAN J. B. Albendazole Generics – A Comparative *In Vitro* Study. Pharmaceutical Research, Vol. 16, N° 12, 1999.

GIBALDI, M. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. 4. Ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 406p. 1991.

Gibaldi M., Perrier D. Pharmacokinetics, 2nd ed. New York: Dekker, 1982.

GHOSH, A; Choudhury, G. K. In vitro-In vivo Correlation (IVIVC): A Review. Journal of Pharmacy Research. vol 2 (8), 1255-1260, 2009.

GRECO, K., BERGMAN, T.L., BOGNER, R. Design and characterization of a laminar flow-through dissolution apparatus: comparison of hydrodynamic conditions to those of common dissolution techniques. Pharmaceutical Development and Technology v. 16, p. 75– 87, 2011.

GUHMANN, M.; THOMMES, M.; GERBER, G.; PÖLLINGER, N.; KLEIN, S.; BREITKREUTZ, J.; WEITSCHIES, W. Design of Biorelevant Test Setups for the Prediction of Diclofenac In Vivo Features After Oral Administration. Pharmaceutical Research v. 30; p.1483–1501, 2013.

JINNO, J., KAMADA, N., MIYAKE, M., YAMADA, K., MUKAI, T., ODOMI, M., TOGUCHI, H., LIVERSIDGE, G.G., HIGAKI, K., KIMURA, T. In vitro-in vivo correlation for wet-milled tablet of poorly water soluble cilostazol. Journal of Controlled Release, v.130, p 29–37, 2008.

KLEIN, S. The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast the In Vivo Performance of a Drug. The AAPS Journal. 2010.

LI DING, LIMIN LI, PING TAO, JIN YANG, ZHENGXING ZHANG. Quantitation of tamsulosin in human plasma by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry Journal of Chromatography B, 767 pg. 75–81, 2002.

MACHADO, J. C.; LANGE, A. D.; TODESCHINI, V.; VOLPATO, N. M. Development and Validation of a Discriminative Dissolution Method for

Atorvastatin Calcium Tablets using in vivo Data by LC and UV Methods. AAPS Pharma Sci. Tech. Vol. 15, No. 1, 2014.

MAEDA, A.; SHINODA, T.; ITO, N., BABA, K.; MIZUMOTO, T. Evaluating tamsulosin hydrochloride-released microparticles prepared using single-step matrix coating. International Journal of Pharmaceutics 408 pag. 84–90, 2011.

MANADAS, R, PINA ME, VEIGA F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 2002; 38:375-99.

MARQUES, M. R. C., BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. São Paulo: Revista Analítica, Ano 1, n 1, p 48-51, 2002.

MICHEL, M.; KORSTANJ, C., KRAUWINKEL, W., SHEAR, M., DAVIES, J., QUARTEL, A. Cardiovascular Safety of the Oral Controlled Absorption System (OCAS) Formulation of Tamsulosin Compared to the Modified Release (MR) Formulation European Urology Supplements 4 pg. 53–60, 2005.

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

MEREDITH, P. A. Candesartan cilexetil - A review of effects on cardiovascular complications in hypertension and chronic heart failure. Curr Med Res Opin. Jul; 23 (7) 1693-705, 2007.

NOVAIS, I. C. Ensaio de dissolução e sua importância no desenvolvimento de novos medicamentos. Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso de Farmácia / FMU. SÃO PAULO, 2007.

OKUMU, A.; DIMASO, M.; LÖBENBERG, R. Dynamic Dissolution Testing To Establish In Vitro/In Vivo Correlations for Montelukast Sodium, a Poorly Soluble Drug. *Pharmaceutical Research*, v. 25, n. 12, 2008.

PFEFFER M, SWEDBERG K, GRANGER C, HELD P, MCMURRAY J, MICHELSON E, OLOFSSON B, OSTERGREN J, YUSUF S, POCOCK S. "Effects of candesartan on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the CHARM-Overall programme". *Lancet* 362 (9386): 759–66, 2003.

PORTA, V.; YAMAMICHI, E.; STORPIRTIS, S. Avaliação biofarmacêutica in vitro de cápsulas de fluconazol. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 38, n.3, p. 333-343, 2002.

QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G.; LIU, L.; PORTER, W. Developing Solid Oral Dosage Forms. *Pharmaceutical Theory & Practice*. p. 392-394, Elsevier, 2008.

QURESHI, S.A., CAILLE, G., BRIEN, R., PICCIRILLI, G., YU, V., MC GILVERAY, I.J. Application of flow-through dissolution method for the evaluation of oral formulations of nifedipine. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 20, p. 1869–1882, 1994.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 1, p. 79-88, 2007.

SHARGEL L, YU A.B.C. *Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics*, 5th ed., Appleton & Lange. USA. 267–269, 2005.

SCHILLER, C. FROHLICH, C.P.; GEISSMAN, T.; SIEGMUND, W.; MONNIKES, H.; HOSTEN, N.; WEITSCHEN, W. Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 22, 971-979, 2005.

SHIKO, G., GLADDEN, L.F., SEDERMAN, A.J., CONNOLLY, P.C., BUTLER, J.M. MRI studies of the hydrodynamics in a USP 4 dissolution testing cell. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 100, p. 976–991, 2011.

SHUKLA, J. B.; PATEL, S. J. Formulation And Evaluation Of Self Micro Emulsifying System Of Candesartan Cilexetil. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2010.

SIEWERT, M.; DRESSMAN, J.; BROWN, C.; SHAH, V. FIP / AAPS Guidelines for dissolution / in vitro release testing of novel / special dosage forms. *Dissolution Technologies*, v. 10, p. 6-15, 2003.

SIRISUTH, N.; EDDINGTON, N. In Vitro-In Vivo Correlation: Definitions and Regulatory Guidance. *International Journal of Generic Drugs*. 2004.

SOTAX - SOLUTIONS FOR PHARMACEUTICAL TESTING. Disponível em: <http://www.sotax.com/fileadmin/sps/Brochures/35years.pdf>. Acesso em: 25/06/2012.

STORPIRTIS, S. Biofarmacotécnica: Fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: 78p. 1999.

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

STORPIRTIS, S. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 321 p.

SUZUKI, H.; ARAKI, R. Cardiovascular outcome of an angiotensin II receptor blocker, candesartan, in Japan. *Drugs Today (Barc)*. Jun;46 (6):427-31. 2010.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 35 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 36 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2013.

UPPOOR, V. R. S. Regulatory perspectives on in vitro (dissolution) / in vivo (bioavailability) correlations. *Journal of Controlled Release*, v. 72, p. 127-132, 2001.

VAN DIJK, M. M., DE LA ROSETTE J. J. M. C. H., MICHEL, M. C. Tamsulosin – modified release and oral controlled absorption system formulations in the treatment of benign prostatic hyperplasia. VAN DIJK, M. M. Balancing clinical outcomes and quality of life aspects in the treatment of LUTS/BPH. Cap.06, p. 71-88. University of Amsterdam (UvA). Disponível em: <http://dare.uva.nl/document/159685>. 2010.

WANG, Q; FOTAKI, N.; MAO, Y. Biorelevant Dissolution: Methodology and Application in Drug Development. *Dissolution Technologies*. 2009.

YATES, T. Consideraciones generales sobre solubilidad y disolución de medicamentos. In: ARANCIBIA, A.; PEZOA, R, eds. *Biodisponibilidad de Medicamentos: Simposio Internacional I*. Santiago: Editorial Universitaria, q992. P. 165-170.

ZARONI, M. Polissacarídeos no Desenvolvimento de Péletes De Teofilina de Liberação Colônica. *Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná*. Curitiba, 2006.