

LEILA GONÇALVES DE LIMA

**CORRELAÇÃO *IN VITRO IN VIVO* NÍVEL A EMPREGANDO-SE FORMULAÇÕES DE
LIBERAÇÃO MODIFICADA CONTENDO FUMARATO DE QUETIAPINA**

BRAGANÇA PAULISTA

2013

LEILA GONÇALVES DE LIMA

**CORRELAÇÃO *IN VITRO IN VIVO* NÍVEL A
EMPREGANDO-SE FORMULAÇÕES DE LIBERAÇÃO
MODIFICADA CONTENDO FUMARATO DE
QUETIAPINA**

ORIENTADOR: PROF. DR. DANIEL ROSSI DE CAMPOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

BRAGANÇA PAULISTA

2013

QV 38 Lima, Leila Gonçalves de.
L698c Correlação in vitro in vivo nível a empregando-se
formulações de liberação modificada contendo fumarato de
quetiapina / Leila Gonçalves de Lima. -- Bragança Paulista,
2013.
xii, 71 p.

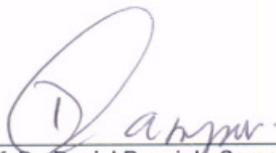
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade São
Francisco.

Orientação de: Daniel Rossi de Campos.

1. Quetiapina. 2. Bioequivalência. 3. Meios
biorelevantes. 4. Classificação biofarmacêutica. 5. Correlação
in vitro – in vivo. I. Campos, Daniel Rossi de. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

LIMA G., Leila, "Correlação in vitro in vivo – nível A empregando-se formulações de liberação modificada contendo fumarato de quetiapina ". Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em quinze de Fevereiro de 2013 pela Banca examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Daniel Rossi de Campos
Universidade São Francisco



Profª Dra. Silvana Aparecida Calafatti Carandina
Universidade São Francisco



Prof. Dr. Leonardo de Souza Teixeira
Instituto de Ciências Farmacêuticas

AGRADECIMENTOS

Há tantos a agradecer...

Ao bondoso DEUS pela oportunidade desta vida, do aprimoramento e evolução no decorrer do tempo, que pode oscilar em minutos, horas, anos, décadas e, até mesmo, vidas.

Aos meus pais, alicerces máximo e sabedoria suprema no auxílio para conclusão deste trabalho.

Ao meu irmão e meus familiares pela compreensão nos momentos de ausência.

Aos queridos amigos agradeço pelo apoio e incentivo nas horas difíceis.

Ao Edson Antônio Bernes Junior, eterno mentor na minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Daniel Rossi de Campos, pela majestosa orientação e confiança depositada em mim para a condução desse trabalho.

Aos professores da Pós-Graduação em Farmacologia, pela oportunidade de aprimoramento.

As empresas Aché Laboratórios Farmacêuticos, Laboratórios Eurofarma e Sanofi Aventis Farmacêutica pelo apoio na condução desse projeto.

Aos voluntários que gentilmente participaram desse estudo.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho, eternos agradecimentos.

***“Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas”
(Antoine de Saint- Exupéry)***

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento *in vitro* e *in vivo* de duas formulações de liberação modificada de quetiapina por meio de perfis de dissolução em meios com características biorelevantes e um estudo de bioequivalência, bem como estabelecer um modelo de correlação *in vitro* – *in vivo* (CIVIV) nível A.

Para a avaliação *in vitro* do comportamento das formulações contendo quetiapina foram realizados os ensaios de perfil de dissolução em meios com diferentes valores de pH, cujos valores de pH foram 1.2, 4.5 e 6.8. Realizou-se a comparação entre as formulações teste e referência através do emprego do fator de semelhança (f_2), que corresponde a uma medida entre as percentagens dissolvidas de ambos os perfis.

Para avaliação *in vivo* foi realizado um estudo piloto (n=16), dose única, em jejum com desenho cruzado e randomizado. As concentrações plasmáticas de quetiapina foram determinadas por LC-MS/MS. O estudo foi planejado e conduzido conforme preconizado no protocolo clínico, obtendo-se os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e ASC_{0-t} , cujos valores do intervalo de confiança (I.C 90%) para as razões das médias geométricas foram de 83,79% a 120,77% e de 96,55% a 111,34%, respectivamente, estando assim contidos dentro dos limites de confiança (80% - 125%) estabelecidos para demonstrar a bioequivalência entre as formulações.

A CIVIV estabelecida neste estudo foi nível A, que é o nível de correlação mais alto que pode ser obtido através de uma relação entre as frações absorvidas (F_a), das formulações teste e referência dos estudos de bioequivalência, com as percentagens dissolvidas (F_d) nos meios de dissolução. Avaliou-se o modelo de correlação linear que melhor se ajustou aos dados por meio do emprego de regressões ordinal e ponderada ($1/x^2$). O meio de dissolução cujo valor de pH era 1.2 apresentou-se com as melhores características biorelevantes em relação aos demais meios avaliados. As frações absorvidas foram obtidas das curvas de concentração plasmática *versus* tempo empregando-se o modelo de Wagner-Nelson (Deconvolução) e os valores de concentrações plasmáticas foram previstos (Convolução) empregando-se o modelo de GOHEL M *et al* (2005).

O modelo de CIVIV estabelecido apresentou-se adequado para prever o comportamento da formulação teste *in vivo*, visto que os critérios de validação do modelo linear, empregando-se a formulação referência, foram plenamente contemplados (EMAMI, 2006; FDA, 1997).

Palavras-chave: quetiapina, bioequivalência, meios biorelevantes, classificação biofarmacêutica, correlação *in vitro* – *in vivo*.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the in vitro and in vivo behavior of two extended release formulations of through dissolution profiles in media with biorelevant features and a bioequivalence study, as well as establishing a correlation model in vitro - in vivo (IVIVC) level A.

For in vitro evaluation of the behavior of formulations containing quetiapine dissolution profile test were performed in media with different pH values, which pH values were 1.2, 4.5 and 6.8. A comparison was performed between the test and reference formulations through the similarity factor (f_2) which corresponds to a measurement between the percentages of dissolution for both profiles.

For the in vivo evaluation a pilot study ($n = 16$) was conducted with a fasting, single dose and a randomized crossover design. Quetiapine plasma concentrations were determined by LC-MS/MS. The study was planned and conducted as recommended in the clinical protocol, obtaining pharmacokinetic parameters of C_{max} , AUC_{0-t} , whose values of the confidence interval (90%) for the ratios of the geometric means were 83,79% at 120,77% and 96,55% at 111,34%, respectively and are well contained within the confidence limits (80% - 125%) established to demonstrate bioequivalence between formulations.

The CIVIV established in this study was level A, which is the highest level of correlation that can be achieved through a relationship between the fractions absorbed (F_a) of the test and reference formulations of bioequivalence studies with the percentages dissolved (F_d) in media of dissolution. The linear correlation model was evaluated considering the best adjusted to the data through the use of ordinal and weighted regressions ($1/x^2$). The dissolution media which value was pH 1.2 showed the best biorelevant characteristics in relation to the others evaluated media. The fractions absorbed were obtained from curves of plasma concentration versus time using the Wagner-Nelson Model (Deconvolution) and the plasma concentration values were predicted (Convolution) by model Gohel, M et al (2005).

The CIVIV model established was appropriate to predict the behavior of the test formulation in vivo, since the validation criteria of the linear model, by the reference formulation, were completely covered. (EMAMI, 2006; FDA, 1997)

Keywords: quetiapine, bioequivalence, biorelevant media, biopharmaceutical classification, in vitro - in vivo correlation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC _{0-inf}	Área sob a curva de zero ao infinito
ASC _{0-t}	Área sob a curva de zero a t
BPC	Boas Práticas Clínicas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPFC	Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade
BPL	Boas Práticas de Laboratório
CIVIV	Correlação <i>in vitro in vivo</i>
C _{max}	Concentração Máxima
CV	Coeficiente de variação
EMEA	European Medicines Agency
EQFAR	Equivalência Farmacêutica
F	Biodisponibilidade
F _a	Fração absorvida
F _d	Fração dissolvida
FDA	Food and Drug Administration
FFSOLI	Forma farmacêutica sólida oral de liberação imediata
FFSOLM	Forma farmacêutica sólida oral de liberação modificada
HPLC	High-performance liquid chromatography
IC 90%	Intervalo de confiança 90%
LC-MS/MS	Liquid chromatography – mass spectrometry
Log P	Lipossolubilidade
PE	Erro de previsão
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RE	Resolução
rpm	Rotações por minuto
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
T _{1/2}	Tempo de meia-vida de eliminação
MDT	Tempo médio de dissolução

TGI	Trato gastrointestinal
Tmax	Tempo necessário para atingir a concentração máxima
MRT	Tempo médio de residência
USP	United States Pharmacopeia
WHO	World Health Organization

LISTA DE TABELAS

		página
Tabela 1	Efeito potencial de excipientes sobre os valores de parâmetros farmacocinéticos.....	18
Tabela 2	Valores de f_2 considerados para avaliação das formulações.....	41
Tabela 3	Concentrações plasmáticas (ng/mL) dos medicamentos teste e referência dos 16 voluntários.....	43
Tabela 4	Parâmetros farmacocinéticos obtidos no estudo piloto com 16 voluntários para as formulações teste e referência.....	44
Tabela 5	Razão das médias dos parâmetros C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ (dados transformados em logaritmo natural).....	44
Tabela 6	Frações absorvidas para a formulação referência.....	46
Tabela 7	Porcentagem do fármaco absorvido (<i>in vivo</i>) e a porcentagem de fármaco dissolvido (<i>in vitro</i>).....	47
Tabela 8	Regressão linear ordinal e ponderada para descrever a CIVIV.....	49
Tabela 9	Concentrações plasmáticas previstas e observadas para a formulação teste.....	50
Tabela 10	Valores de C_{max} e ASC_{0-18h} previstos observados no estudo piloto para a formulação teste.....	50
Tabela 11	Valores de C_{max} e ASC_{0-18h} previstos e os valores de C_{max} e ASC_{0-18h} observados para a formulação referência.....	52

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1	Correlação <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i> linear do nível A..... 5
Figura 2	Correlação <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i> nível B..... 6
Figura 3	Correlação <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i> nível C..... 7
Figura 4	Classes de fármacos de acordo com a Classificação Biofarmacêutica – SCB..... 8
Figura 5	Expectativa de CIVIV de acordo com a Classificação Biofarmacêutica – SCB..... 9
Figura 6	Representação esquemática dos diversos aspectos da disponibilidade do fármaco para efeito sistêmico..... 10
Figura 7	Principais aparatos descritos na farmacopéia..... 11
Figura 8	Perfil de dissolução entre duas formulações denominadas referência e teste..... 13
Figura 9	Parâmetros farmacocinéticos..... 20
Figura 10	Concentrações plasmáticas de um fármaco administrado sob forma de comprimido convencional e de liberação prolongada..... 23
Figura 11	Fórmula estrutural do fumarato de quetiapina..... 25
Figura 12	Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 1.2..... 39
Figura 13	Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 4.5..... 40
Figura 14	Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 6.8..... 40
Figura 15	Concentração plasmática <i>versus</i> tempo das formulações referência e teste de fumarato de quetiapina após administração em dose única em jejum (n = 16 voluntários).. 42
Figura 16	Frações absorvidas <i>versus</i> tempo das formulações referência e teste..... 45

Figura 17	Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 1.2.....	47
Figura 18	Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 4.5.....	48
Figura 19	Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 6.8.....	48
Figura 20	Concentração plasmática <i>versus</i> tempo observados e previstos para as formulações teste e referência (dados ordinais).....	51
Figura 21	Concentração plasmática <i>versus</i> tempo observados e previstos para as formulações teste e referência (dados log transformados).....	51

SUMÁRIO

	página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4. RESULTADOS	39
5. DISCUSSÃO.....	53
6. CONCLUSÕES.....	58
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
8. ANEXO I	68
9. ANEXO II	71

1. INTRODUÇÃO

A experiência advinda dos estudos biofarmacêuticos e/ou biofarmacotécnicos, que consiste no estudo da influência dos fatores físico-químicos ligados ao fármaco e da forma farmacêutica sobre os efeitos do medicamento no organismo, comprovou que o conceito de qualidade de um medicamento vai além dos aspectos técnicos considerados essenciais. Aspectos como a identidade, a pureza, o teor, a potência, entre outros, sendo indispensável que o medicamento libere o fármaco na quantidade e velocidade adequadas ao objetivo terapêutico pretendido (STORPIRTIS *et al.*, 1999).

Os estudos relacionados aos processos de liberação, dissolução e biodisponibilidade adquiriram nos últimos anos importância vital no desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos no Brasil. Tornaram-se, também, fundamentais para a comprovação de aspectos relacionados a equivalência farmacêutica, biodisponibilidade relativa, e equivalência terapêutica de medicamentos, conceitos essenciais para o desenvolvimento, produção e registro de medicamentos genéricos (PINHO e STORPIRTIS, 2001; PORTA *et al.*, 2002).

Atualmente adota-se a correlação *in vitro in vivo* (CIVIV) como ferramenta eficaz para prever o comportamento da formulação *in vivo* a partir de dados de dissolução. Para viabilizar tal correlação testes prévios, como o perfis de dissolução em meios de dissolução biorelevantes, são realizados com o intuito de simular o perfil farmacocinético do fármaco previamente a submissão desta formulação ao estudo de biodisponibilidade (CAMPOS *et al.*, 2011).

Ressalta-se, ainda, que o emprego de modelos *in vitro* vem sendo discutido no âmbito regulatório e acadêmico nos últimos anos. Destaca-se também que as indústrias farmacêuticas têm realizado vários estudos visando o desenvolvimento e validação de modelos *in vitro* correlacionáveis com os resultados obtidos *in vivo*. Esta possibilidade é muito importante sob ponto de vista ético, pois colabora na redução dos estudos que envolvem seres humanos em pesquisa com medicamentos (SKELLY *et al.*, 1990; WHO, 2006).

Enfim, a busca de maneiras mais econômicas e que, principalmente, envolvam menor inclusão de voluntários ou pacientes para a avaliação do desempenho de novos fármacos e/ou novas formulações vem crescendo impulsionadas pelo Conceito da Classificação Biofarmacêutica (AMIDON *et al*, 1995; FDA, 2000). A avaliação de formulações por meio de estudos *in vitro* (solubilidade, permeabilidade e perfil de dissolução) permitiria ainda a redução nos custos de desenvolvimento de medicamentos genéricos, similares e novos, e desta forma o acesso da população a medicamentos com o mesmo padrão de qualidade e segurança dos assegurados pelos estudos (*in vivo*).

1.1 Correlação *in vitro in vivo* (CIVIV)

A CIVIV refere-se ao 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. 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, percentagem do fármaco dissolvido sob condições experimentais determinadas). A relação entre as duas propriedades, biológica e físico-química é, então, expressa quantitativamente (BRASIL b, 2002).

Considerando-se que os medicamentos sólidos de uso oral são aqueles que podem apresentar maiores problemas em relação a biodisponibilidade, torna-se imperativo avaliar o impacto desses fatores sobre a dissolução do fármaco, a partir da forma farmacêutica, realizando-se testes *in vitro* que permitam visualizar como a dissolução ocorre em função do tempo (ARANCÍBIA A., 1991). Esse teste, conhecido como perfil de dissolução, derivou-se do teste de dissolução de um único ponto incluído na maioria das farmacopéias, e tem sido utilizado como ferramenta no desenvolvimento de formulações, uma vez que evidencia diferenças na dissolução causadas por fatores ligados ao fármaco, aos excipientes e à técnica de fabricação

empregada (DEL COMUNE *et al.*, 1996; YUGUE *et al.*, 1996; STORPIRTIS *et al.*, 1998).

Para se obter um perfil de dissolução, deve-se realizar várias coletas do meio de dissolução, em tempos adequados, determinando-se a percentagem de fármaco dissolvido a cada tempo. É importante empregar método para quantificação do fármaco previamente desenvolvido e validado. A partir da curva resultante, pode-se determinar a cinética do processo de dissolução, bem como calcular diversos parâmetros, tais como o tempo de latência da forma farmacêutica (tempo para o início do processo de desagregação) e a eficiência de dissolução (CÁRCAMO, 1992; FERRAZ *et al.*, 1998; PORTA *et al.*, 2002).

Entretanto, o fato de se obter a semelhança entre os perfis de dissolução (*in vitro*) não garante que os produtos serão bioequivalentes. Em alguns casos, o candidato a genérico pode ter comprovado a equivalência farmacêutica em relação ao de referência, apresentar perfil de dissolução considerado semelhante ao referência e, mesmo assim, não passar pelo teste de bioequivalência (*in vivo*). Tal fato motiva muitas empresas a utilizarem um teste piloto *in vivo*, com menor número de voluntários (seis, por exemplo), como ferramenta para avaliar o comportamento da formulação que está sendo desenvolvida, antes de submetê-la ao teste de bioequivalência (MARQUES, 2004). No entanto, cabe ressaltar que o estudo piloto pode apresentar um poder estatístico não significativo para o teste, o que ocorre devido ao baixo número de voluntários levando ao aumento da variabilidade dos dados obtidos, principalmente quando se considera as propriedades intrínsecas do fármaco, como, por exemplo, variabilidade do fármaco pela via de metabolização.

A CIVIV, geralmente, é estabelecida para fármacos cuja solubilidade é fator limitante para a absorção (Classe II – SCB, tema a ser discutido no item 1.2) e para formulações de liberação modificada. Assim, as correlações estabelecidas são lineares e definidas como de nível A, B ou C (EMAMI, 2006). Esses três níveis de correlação podem ser definidos e classificados em ordem decrescente de importância. O conceito de correlação é baseado na habilidade desta em refletir o perfil completo de concentração plasmática *versus* tempo, obtido após a administração da forma farmacêutica.

1.1.1 Correlação de Nível A

É o nível de correlação mais alto que pode ser obtido. Representa uma relação ponto a ponto entre a dissolução *in vitro* do fármaco, a partir da forma farmacêutica, e a velocidade de entrada do mesmo no organismo *in vivo* (algumas vezes referido como dissolução *in vivo*). Neste nível de correlação, as curvas de dissolução *in vitro* e *in vivo* são diretamente sobreponíveis, ou podem ser sobrepostas utilizando-se uma constante (fator de escala). A descrição matemática de ambas é a mesma. Esta relação é mais facilmente obtida para formas farmacêuticas de liberação modificada, que possuem liberação *in vitro* essencialmente independente do meio de dissolução comumente utilizado nos testes. Entretanto, isto não é requisito para uma correlação de nível A (BRASIL b, 2002).

Essa correlação é, geralmente, obtida por um procedimento que envolve duas etapas: deconvolução da curva de concentração plasmática *versus* tempo para obtenção da curva da fração de fármaco absorvida *versus* tempo (curva de velocidade de absorção), seguida da comparação entre a fração do fármaco absorvida e a dissolvida *in vitro*, para os mesmos tempos (CAMPOS *et al*, 2011).

A obtenção da curva de fração absorvida *versus* tempo pode ser obtida pelo método de Wagner-Nelson, que consiste em um método que possibilita realizar a caracterização do processo de absorção para modelos monocompartimentais através da técnica de equilíbrio de massa. Este é realizado para estabelecer a quantidade de fármaco que foi absorvida e atingiu a circulação sistêmica a qualquer tempo após a sua administração, sendo a quantidade de fármaco absorvida igual a quantidade de fármaco no organismo mais a quantidade de fármaco eliminada por todas as vias de eliminação (GAI *et al*, 2011).

As vantagens da correlação de nível A são:

a) 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*. Deste modo, modificações do local ou método de fabricação,

alteração de fornecedor de matéria-prima, pequenas alterações de formulação ou na potência do produto, usando a mesma formulação básica, podem ser avaliadas sem a necessidade de estudos adicionais em seres humanos;

b) Definição de um procedimento de controle de qualidade preditivo do comportamento do medicamento *in vivo*;

c) Os limites extremos do padrão de controle de qualidade *in vitro* podem ser obtidos por métodos de convolução ou deconvolução (BRASIL b, 2002).

A convolução é o processo onde se realiza a conversão do perfil de dissolução (*in vitro*), de onde se obtém a fração dissolvida (Fd), em perfil de concentração plasmática (*in vivo*). Desta forma o processo de deconvolução configura o processo inverso a este, ou seja, realiza-se a conversão do perfil de concentração plasmática, de onde se obtém a fração absorvida (Fa), em perfil de dissolução. A maior vantagem de métodos baseados na convolução para CIVIV é que não são necessários estudos *in vivo* adicionais, uma vez que a partir do perfil de dissolução torna-se possível prever o comportamento da formulação *in vivo* (MELO, R. S., 2012). No entanto, a avaliação por deconvolução tende a ser mais precisa uma vez que o ponto de partida são os dados *in vivo*, desta forma para alguns tipos de fármacos esta avaliação se torna mais preditiva.

A Figura 1 apresenta uma correlação linear do nível A.

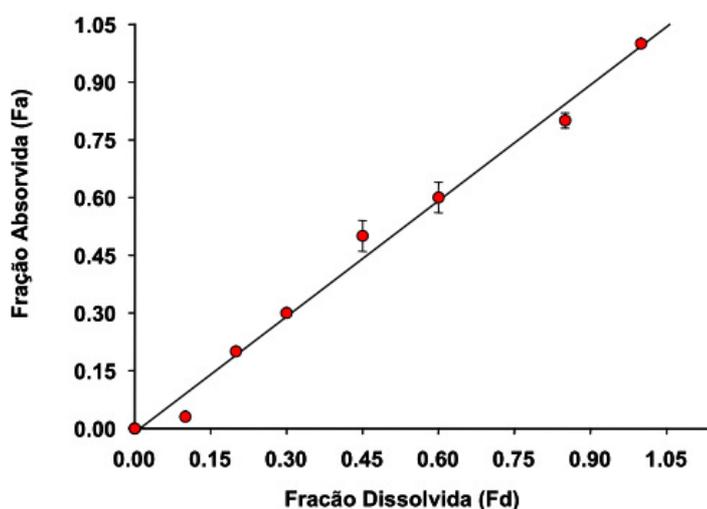


Figura 1 – Correlação *in vitro* – *in vivo* linear do nível A obtido de CAMPOS, 2008.

1.1.2 Correlação de Nível B

A correlação de nível B utiliza os princípios da análise de momento estatístico. Nesse modelo de correlação, conforme demonstrado na Figura 2, o tempo médio de dissolução *in vitro* ($MDT_{in vitro}$) é comparado ao tempo médio de residência (MRT) ou ao tempo médio de dissolução *in vivo* ($MDT_{in vivo}$). Da mesma forma que o nível A, o nível B utiliza todos os dados *in vitro* e *in vivo*, mas não é considerada uma correlação ponto a ponto, porque não reflete inteiramente a curva de nível plasmático, uma vez que uma série de diferentes curvas *in vivo* podem produzir valores similares de tempo de residência médio. Por esta razão, diferentemente da correlação de nível A, não se pode considerar somente a correlação de nível B para avaliar modificações da formulação, alteração do local de fabricação, alteração do fornecedor, dos excipientes, entre outros (EMAMI, 2006; BRASIL b, 2002).

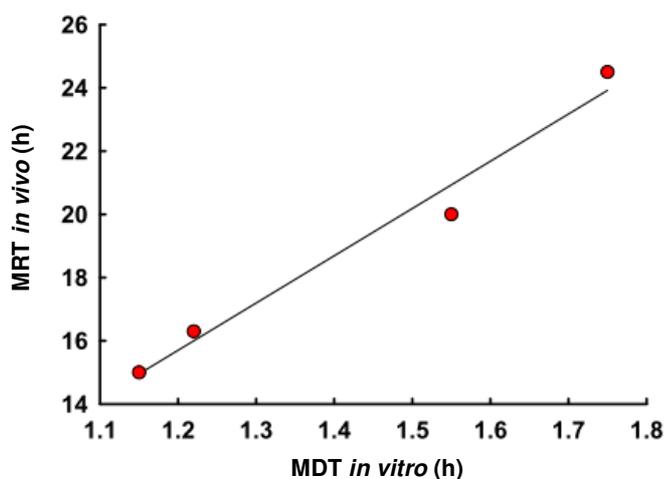


Figura 2 – Correlação *in vitro* – *in vivo* nível B obtido de SCHLIECKER *et al*, 2004.

1.1.3 Correlação de Nível C

Esta categoria relaciona um ponto de dissolução (T50%, T90%, etc.) a um parâmetro farmacocinético tal como ASC, C_{max} ou T_{max} (Figura 3). Representa uma correlação de um único ponto. Não reflete o formato completo da curva de concentração plasmática *versus* tempo, um fator crítico para definir o desempenho dos

produtos de liberação modificada. Uma vez que este tipo de correlação não permite prever o real desempenho do produto *in vivo*, ela é útil somente como orientação no desenvolvimento de formulações ou como um método de controle de qualidade da rotina de produção do medicamento. Devido às suas limitações, tem utilidade restrita em prever o desempenho do fármaco *in vivo* e está sujeita às mesmas restrições que a correlação de nível B, em relação a sua capacidade de avaliar alterações do produto e do local de fabricação, bem como de fornecer os extremos do padrão do controle de qualidade (EMAMI, 2006; BRASIL b, 2002).

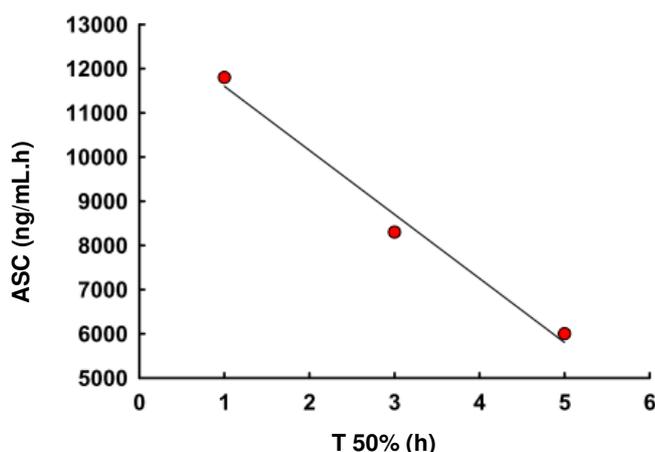


Figura 3 – Correlação *in vitro* – *in vivo* nível C obtido de SCHLIECKER *et al*, 2004.

1.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)

O sistema de classificação biofarmacêutica fundamenta-se na absorção de fármaco através da membrana intestinal, a uma velocidade que é proporcional à sua concentração na superfície da membrana, sendo a dissolução "*in vivo*" um fator crítico neste processo (AMIDON *et al.*, 1995; BARRETO *et al.*, 2002). Este sistema é uma ferramenta científica para classificação de fármacos, baseada na sua solubilidade em água e permeabilidade intestinal, caracterizando os fármacos em quatro categorias:

- I. Elevada solubilidade e elevada permeabilidade;
- II. Reduzida solubilidade e elevada permeabilidade;
- III. Elevada solubilidade e reduzida permeabilidade;
- IV. Reduzida solubilidade e reduzida permeabilidade.

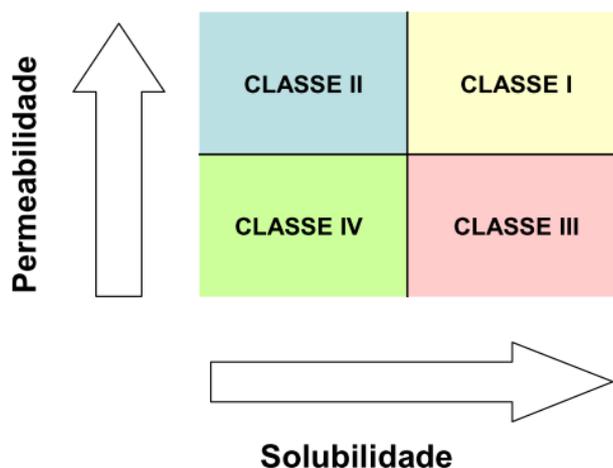


Figura 4 - Classes de fármacos de acordo com a Classificação Biofarmacêutica – SCB (adaptado de AMIDON *et al*, 1995).

Os ensaios de solubilidade são conduzidos de acordo com o guia de bioisenção do FDA (2000) que preconiza que a maior dosagem do fármaco seja solúvel em 250 mL de tampões cujos pHs estejam entre 1 e 7.5.

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 $37 \pm 1^\circ\text{C}$. De acordo com a atual legislação deverão ser testadas, no mínimo, três condições de pH (1.2, 4.5 e 6.8), visto que tais faixas de pH representam o ambiente do trato gastrointestinal (estômago, porção inicial e final do intestino) (BRASIL, 2011).

Os ensaios de permeabilidade, geralmente, são conduzidos empregando células CaCo - 2 (células de adenocarcinoma de cólon humano) ou MDCK (células de rim canino – “Madin-Darby”). MIDHA *et al* (2007) sugeriram que fármacos que apresentassem valores de F acima de 85% também poderiam ser considerados de alta permeabilidade. Esse valor de biodisponibilidade também é preconizado pelo guia de bioisenção da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005).

A CIVIV dos dados não é muito clara para fármacos do grupo IV, devendo ser efetuada a determinação experimental da absorção “*in vivo*”. Para fármacos do grupo

III, a permeabilidade é o fator limitante de absorção, não sendo, neste caso, os dados “*in vitro*” de grande utilidade. Para os fármacos do grupo II, a solubilidade é o fator limitante da absorção e os dados e estudos “*in vitro*” podem ser bastante úteis. (CAMPOS *et al*, 2011). Tais informações estão representadas na Figura 5

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Fator limitante da absorção
I	Alta	Alta	Esvaziamento gástrico/Nenhuma relação com velocidade de dissolução
II	Baixa	Alta	Dissolução <i>in vivo</i>
III	Alta	Baixa	Permeabilidade/Esvaziamento gástrico
IV	Baixa	Baixa	Dissolução <i>in vivo</i> Problemas para absorção oral

Figura 5 – Expectativa de CIVIV de acordo com a Classificação Biofarmacêutica – SCB (adaptado de CAMPOS *et al*, 2011).

A quetiapina quando encontrada em sua maior dosagem sob a forma farmacêutica de liberação modificada, é classificada no grupo II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, visto que é fracamente solúvel em água e a sua absorção é limitada pela sua velocidade de dissolução e solubilidade (TRSLINC, 2011). No entanto, a quetiapina em sua menor dosagem (50mg) é classificada no grupo I do SCB, visto que se apresenta altamente solúvel e permeável o que também se confirma pela equação de número de dose (dose/solubilidade/250mL) (DOO-MAN *et al*, 1993; YASIR *et al*, 2010), obtendo-se um valor inferior a 1, o que demonstra a alta solubilidade do fármaco na dosagem de 50mg.

Problemas de biodisponibilidade com determinados fármacos podem ser reflexo de que a absorção ocorre durante um período de tempo limitado após a ingestão, o que implica, igualmente, que o processo de dissolução no trato gastrointestinal (TGI) seja limitado pelo tempo, devendo assim, ser estudado o tempo crítico para se atingir percentagem ótima de fármaco dissolvido no local de absorção (AMIDON *et al*, 1995;

BARRETO *et al.*, 2002; DRESSMAN *et al.*, 1998; PANCHAGNULA, 2000; SHARGEL & YU, 2002).

1.3 Equivalência Terapêutica

As respostas terapêuticas, determinadas por um fármaco administrado pela via gastrointestinal, dependem de componentes da formulação, de características físico-químicas do fármaco, da concentração plasmática gerada e pela ligação do fármaco ao receptor. Tais componentes são resumidos pelas etapas biofarmacêutica, farmacocinética e farmacodinâmica (Figura 6).

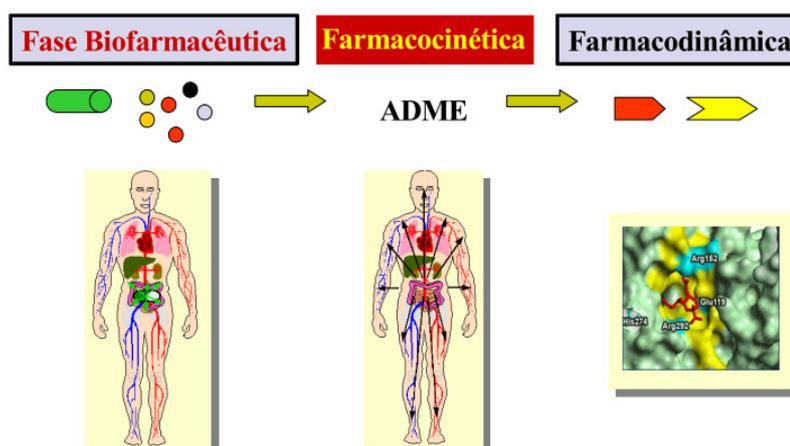


Figura 6 - Representação esquemática dos diversos aspectos da disponibilidade do fármaco para efeito sistêmico. ADME – absorção, distribuição, metabolismo e excreção. CAMPOS, D. R., 2008

Assim, para que duas formulações sejam definidas como equivalentes terapêuticas essas devem apresentar os mesmos efeitos em relação à eficácia e segurança após a administração da mesma dose molar, sendo que tais efeitos são avaliados por meio de estudos de bioequivalência, ensaios farmacodinâmicos, ensaios clínicos e/ou estudos *in vitro*. Além disso, as formulações devem ser equivalentes farmacêuticas (BRASIL, 2007).

1.4 Estudos *in vitro* – Equivalência Farmacêutica e Perfil de Dissolução

1.4.1 Equivalência farmacêutica

Os ensaios de equivalência farmacêutica são realizados para garantir que duas formulações cumpram com os requisitos farmacopéicos descritos na Farmacopéia Brasileira ou de outro código autorizado pela autoridade sanitária. Na falta de monografia farmacopéica oficial, os ensaios devem ser conduzidos utilizando-se método fornecido pela empresa (BRASIL, 2010).

Os principais ensaios descritos em monografias farmacopéicas são: peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, dissolução (considerando tolerância – Q), teor e uniformidade de conteúdo. Além disso, referente ao estudo de dissolução, geralmente é descrito o aparato recomendado, agitação, meio de dissolução e volume. O equipamento onde os ensaios são realizados é denominado dissolutor, o qual acopla sistemas de agitação denominados pá ou cesto. O sistema com pá é denominado aparato 2 e o sistema com cesto, aparato 1 (Figura 7). A agitação do sistema geralmente é de 50 a 70 rpm para o aparato 2 e 75 a 100 rpm para o aparato 1 (MARQUES, 2002).

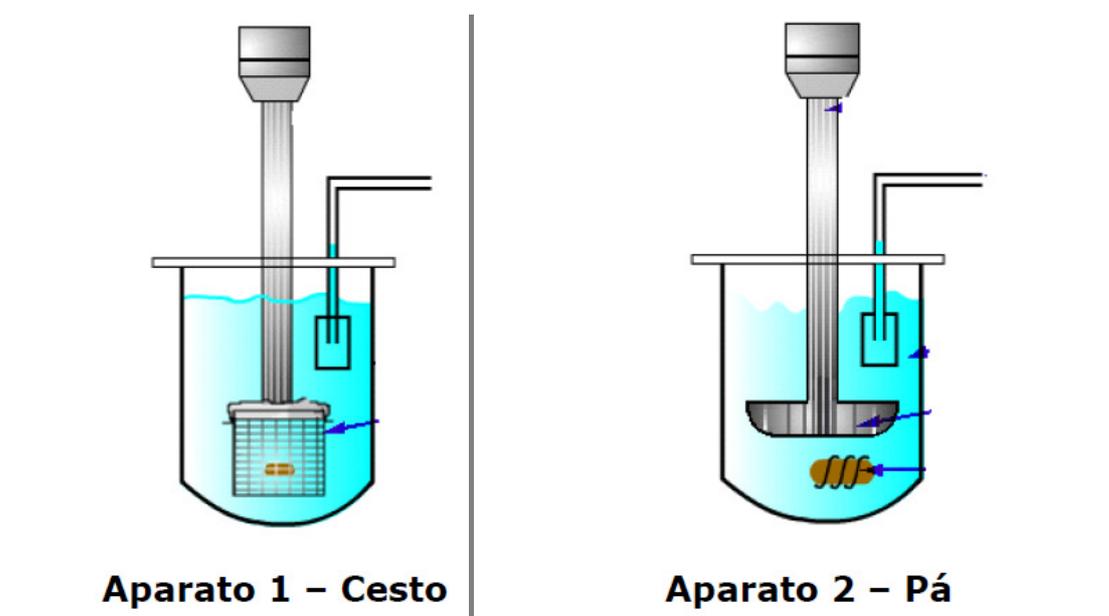


Figura 7: Principais aparatos descritos na farmacopéia (cesto e pá) CAMPOS D.R.,2008

O teste de equivalência farmacêutica, que implica na execução de testes físicos e físico-químicos comparativos entre o produto candidato a genérico e seu respectivo medicamento de referência, é realizado internamente pela Indústria ou por centro prestador de serviço em equivalência farmacêutica (EQFAR) ambos devidamente habilitados para realização de tal teste. Este teste é requerido baseando-se em:

- Razões de caráter ético, em que não se deve expor seres humanos a testes de bioequivalência, sem a garantia prévia de que os lotes dos medicamentos a serem utilizados no estudo cumprem com os requisitos de qualidade normatizados pelas Boas Práticas de Fabricação (BPF) vigentes no país (BRASIL, 2010).

- Nem todos os medicamentos dispõem de monografias descritas em compêndios oficiais, o que requer que o fabricante do medicamento estabeleça os testes a serem realizados e valide os métodos analíticos a serem utilizados (os métodos serão covalidados posteriormente pelo EQFAR, caso a empresa não disponha de laboratório habilitado para execução desses testes) (BRASIL, 2010).

- A constatação de que o teste de bioequivalência será realizado entre medicamentos cujo teor de fármaco não apresente diferença maior do que 5% e que tenham sido fabricados preferencialmente até 6 meses antes da data do teste, aliada à validação dos processos de fabricação e ao cumprimento das BPF vigentes, que é fundamental para assegurar que a intercambialidade entre o genérico e o referência será mantida durante todo o período em que os mesmos se mantiverem no mercado. No caso de medicamentos isentos de bioequivalência, a equivalência farmacêutica passa a ser o principal requisito que sustenta a intercambialidade (BRASIL, 2010).

1.4.2 Perfil de Dissolução

A solubilidade de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral, justificando-se assim, a importância e necessidade dos estudos de dissolução. Os modelos que permitem prever a absorção dos fármacos a partir dos estudos de dissolução estão limitados pela complexidade de fenômenos que ocorrem no TGI, tais como a situação de jejum ou pós-prandial, a fase do ciclo de motilidade, o esvaziamento gástrico, o conteúdo do lúmen intestinal, o mecanismo responsável pela

absorção e permeabilidade do fármaco e alterações físico-químicas da molécula ao longo do TGI (BARRETO *et al.*,2002; DRESSMAN *et al*, 1998).

O estudo de perfil de dissolução comparativo consiste em um ensaio analítico com coletas em múltiplos pontos para a avaliação da dissolução de uma determinada substância ativa comparando duas formulações. Desta forma, avalia-se o perfil de dissolução considerando a porcentagem do fármaco em função do tempo (Figura 8), podendo ser: dissolução rápida (dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em até 30 minutos) ou dissolução muito rápida (dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em até 15 minutos) (BRASIL, 2010).

Assim, para que os ensaios de dissolução permitam prever o comportamento “*in vivo*”, devem ser utilizados meios de dissolução que se assemelhem às condições fisiológicas, devendo ser considerados fatores como condições *sink*, a presença de tensoativos e a influência dos padrões de motilidade na dissolução (FORD & RAJABI-SIAHBOOMI, 2002).

As condições *sink* é um ponto importante uma vez que por definição dada por ABDON H. M. (1989) esta consiste em um meio de dissolução que contenha três vezes o valor de saturação do fármaco dentro de uma faixa de 500-1000 mL, ou seja, representa o meio em que o fármaco/formulação será avaliado.

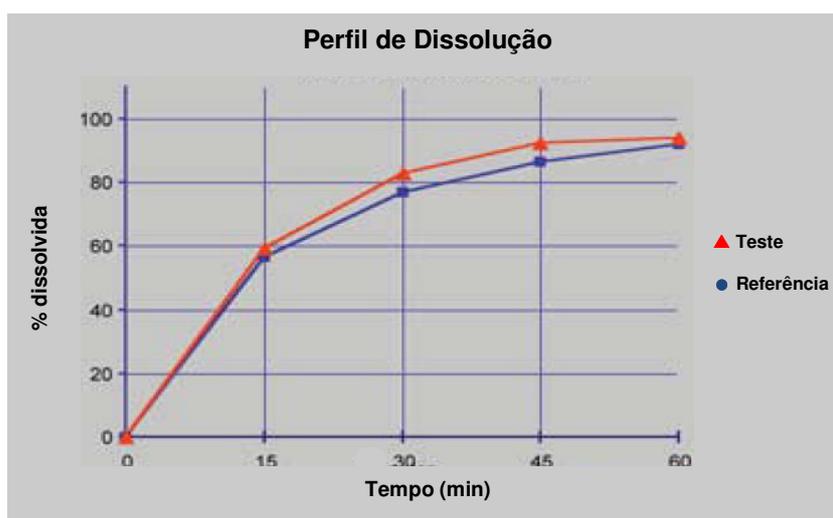


Figura 8: Perfil de dissolução entre duas formulações referência e teste CAMPOS D.R.,2008

1.4.3 Fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos

O processo de absorção pode ser modulado pela velocidade de dissolução do fármaco nos líquidos do trato gastrintestinal (SHARGEL & YU, 1999). Entre os fatores que podem alterar a desagregação da forma farmacêutica e a dissolução do fármaco destacam-se:

a) Processo de obtenção do fármaco e suas propriedades físico-químicas

A existência de polimorfismo, propriedade que certas substâncias apresentam de cristalizar sob distintas formas cristalinas, quimicamente idênticas, mas com diferentes propriedades físicas (ponto de fusão, solubilidade), pode influenciar a biodisponibilidade, a estabilidade química e física do fármaco e ter implicações no desenvolvimento e estabilidade da forma farmacêutica, levando-se em consideração as alterações ocorridas nas características dos cristais (ARANCÍBIA & PEZOA, 1992; STORPIRTIS *et al*, 2004).

Dois polimorfos de um mesmo composto podem ser tão diferentes em estrutura cristalina e propriedades como dois compostos distintos, sendo que essas diferenças manifestam-se enquanto o fármaco está em estado sólido, ou seja, uma vez obtida a solução as diferentes formas não podem mais ser distinguidas (MARTIN & VILADROSA, 2000; VIPPAGUNTA *et al*, 2000).

Portanto, podem ser esperadas diferenças na ação do fármaco, em termos farmacológicos e terapêuticos devido à presença de polimorfos em formas farmacêuticas sólidas, assim como em suspensões (ANSEL *et al*, 2000; MARTIN & VILADROSA, 2000). Outro fator importante é que o polimorfo menos estável tende a se transformar no polimorfo mais estável (transição polimórfica), o que pode ocorrer em função do tempo e da temperatura de armazenamento, do tipo de processo de compressão utilizado e da redução do tamanho de partículas. Aparentemente, essa diferença é irrelevante. Entretanto, tais compostos podem apresentar atividades biológicas distintas ou diferenças significativas em relação à intensidade da ação farmacológica (SHARGEL & YU, 1999; ANSEL *et al*, 2000)

Além disso, existem os fármacos que são comercializados na forma de racemato (mistura de enantiômeros), isto se deve, inicialmente, à falta de tecnologia apropriada

(de síntese ou analítica) e à razão econômica, já que é menos dispendioso produzir racematos do que enantiômeros puros (WELAGE *et al*, 2001).

Segundo NOEL *et al* (2004), a influência do estereoisomerismo na farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco é inegável. Porém, quando a discussão envolve seu impacto nos estudos de bioequivalência, não há consenso, existindo basicamente duas correntes. Uma defende a necessidade de se analisar todos os parâmetros farmacocinéticos de cada estereoisômero separadamente, alegando a disponibilidade de técnicas analíticas. A outra considera as metodologias analíticas para compostos quirais complexas, e posiciona-se de forma contrária à exigência de testes específicos. Esta corrente baseia-se no desenho dos estudos de bioequivalência, onde o medicamento genérico deve ter a mesma composição quiral do medicamento inovador e na pressuposição de que todos os processos de absorção passiva e ativa (lineares) devem afetar os dois enantiômeros de forma igual.

De acordo com MIDHA *et al* (1998), o fator determinante desta questão é o metabolismo de primeira passagem. De forma prática, se conclui que os métodos estereoseletivos devem ser utilizados em duas situações peculiares:

a) Quando há elevado metabolismo de primeira passagem do enantiômero ativo (eutômero), gerando modificações significativas na razão entre as concentrações dos estereoisômeros R e S, sugere-se a medida da concentração plasmática do eutômero (por método estereoseletivo) além da medida da concentração total, por método não estereoseletivo;

b) Quando há baixo metabolismo de primeira passagem do eutômero, mas um determinado valor para a razão entre as concentrações plasmáticas de R e S é importante para o efeito terapêutico, sugere-se a medida das concentrações de ambos isômeros, individualmente.

Outros fatores ligados às propriedades físico-químicas do fármaco que também devem ser considerados:

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

- higroscopicidade: as formas anidras dos fármacos apresentam atividade termodinâmica maior em relação aos seus hidratos correspondentes e, conseqüentemente, maior solubilidade e velocidade de dissolução em relação às formas hidratadas (STORPIRTIS *et al*, 2004).

- solubilidade: somente o fármaco dissolvido nos líquidos do trato gastrointestinal pode ser absorvido, o que requer determinada hidrossolubilidade; entretanto, o fármaco deve apresentar também certa lipossolubilidade para atravessar as membranas biológicas que são de natureza lipoprotéica; os compostos relativamente insolúveis têm absorção incompleta ou irregular (SHARGEL & YU, 1999).

b) Natureza dos excipientes que compõem a formulação

Os excipientes presentes em uma formulação farmacêutica podem afetar a dissolução do fármaco e, conseqüentemente, a velocidade e quantidade pelas quais o mesmo estará disponível para ser absorvido (STORPIRTIS *et al*, 2004). Tal fato ressalta a importância da avaliação do impacto das alterações efetuadas na formulação, após o registro do medicamento como genérico, em relação ao perfil de dissolução do fármaco contido em formas farmacêuticas sólidas, o que, muitas vezes, pode requerer a realização de novo teste de bioequivalência (BRASIL, 2011).

Cabe ressaltar que, em relação aos excipientes, a legislação atualmente em vigor (BRASIL, 2007), preconiza que para o registro de medicamentos genéricos os excipientes empregados na fórmulação podem ou não ser idênticos aos empregados na formulação de seus respectivos medicamentos de referência. Dessa forma, é possível que dois produtos sejam considerados equivalentes farmacêuticos, mas apresentem formulações diferentes em relação à composição quali e quantitativa dos excipientes (DIGHE, 1999). Porém, a bioisenção baseada no sistema de classificação biofarmacêutica considera as formulações com excipientes que não apresentem impacto sobre a biodisponibilidade do fármaco (BRASIL, 2011).

Alguns componentes das formulações, como amido e outros desintegrantes tendem a favorecer a dissolução. Outros como o talco e o estearato de magnésio, que atuam como deslizante e lubrificante, respectivamente, dificultam a dissolução e devem ser adicionados em quantidades mínimas. Também são importantes, no caso de comprimidos revestidos e drágeas, as diferenças no tipo e composição do revestimento,

uma vez que há vários polímeros atualmente disponíveis comercialmente e empregados para exercer distintas funções, desde a gastroresistência até a formação de matrizes que modulam a liberação do fármaco. Esses fatores afetam diretamente os processos de desagregação do medicamento nos líquidos do trato gastrointestinal, influenciando a dissolução e, conseqüentemente, a absorção do fármaco (STORPIRTIS e RODRIGUES, 1998).

c) Tecnologia de fabricação

Os processos envolvidos na fabricação dos medicamentos também podem influenciar a dissolução e a biodisponibilidade. Comprimidos obtidos por compressão direta, granulação via seca ou via úmida podem apresentar comportamentos *in vitro* e *in vivo* diferentes. Aspectos como forma e condições de secagem do granulado, tempo de mistura ou agitação, velocidade e força de compressão também podem alterar significativamente o desempenho da forma farmacêutica no organismo. Nesse sentido, torna-se relevante destacar que com o aparecimento no mercado de excipientes com características especiais de compressibilidade, as empresas tendem a substituir o processo de granulação via úmida pela compressão direta. Entretanto, no caso de medicamentos já registrados e comercializados, essa alteração deve ser cuidadosamente avaliada quanto ao possível impacto nas características de dissolução e biodisponibilidade (SHARGEL & YU, 1999).

Na Farmacopéia Americana, o teste de dissolução que consta na monografia do produto é aquele que foi desenvolvido pela empresa inovadora. Em alguns casos, será incluído, posteriormente, outro teste de dissolução para o medicamento genérico, desde que a empresa fabricante comprove que, apesar de seu produto ser bioequivalente ao inovador, o teste de dissolução que consta da referida monografia não é adequado para controlar a qualidade do seu produto (MARQUES & BROWN, 2002).

1.4.4 Relação entre desenvolvimento farmacotécnico, perfil de dissolução e biodisponibilidade

Considerando-se que os medicamentos sólidos de uso oral são aqueles que podem apresentar maiores problemas em relação a biodisponibilidade, torna-se

mandatário avaliar o impacto desses fatores sobre a dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica, realizando teste *in vitro* que permita visualizar como a dissolução ocorre em função do tempo, conforme ilustrado na Tabela 1 (SHAH *et al*, 1996).

Durante o desenvolvimento de um medicamento genérico na forma farmacêutica sólida, a empresa deve buscar reproduzir, a partir de seu produto, o mesmo perfil de dissolução obtido com o medicamento de referência (CHOW & LIU, 1992; SHAH *et al*, 1996).

Tabela 1 – Efeito potencial de excipientes sobre os valores de parâmetros farmacocinéticos (adaptado de Shargel *et al*, 2002)

Excipiente	Exemplo	K _a	T _{max}	ASC
Diluente	Celulose microcristalina	↑	↓	↑
Desintegrante	Amido	↑	↓	↑
Agente para liberação modificada	Metilcelulose	↓	↑	↓

K_a: constante de velocidade de absorção

No caso do medicamento inovador, o método e as especificações relativos à dissolução são estabelecidos, definitivamente, após a realização do ensaio que determina sua biodisponibilidade absoluta (fração da dose administrada efetivamente absorvida por via extravascular, tendo como referência, quando possível, a mesma dose administrada por via intravenosa) e dos ensaios clínicos que comprovam a eficácia clínica e a segurança do medicamento (FDA, 1995).

Desse modo, otimiza-se e se valida o teste que será empregado no controle de qualidade rotineiro, lote a lote, após registro e autorização de comercialização do produto, e que deverá ser discriminativo para qualquer alteração que ocorra e que possa afetar a dissolução do fármaco (MARQUES & BROWN, 2002; SKOUG *et al*, 1996).

1.5 Estudo *in vivo* – Estudos de Bioequivalência

Os termos disponibilidade fisiológica ou biodisponibilidade se refere a quantidade de fármaco disponível no organismo para gerar o efeito terapêutico. Os estudos de biodisponibilidade são empregados principalmente para a determinação da biodisponibilidade absoluta de medicamentos inovadores, avaliação da bioequivalência entre medicamentos, avaliação das alterações na formulação de medicamentos e desenvolvimento de medicamentos de liberação modificada (SHARGEL *et al.*, 2002)

Dois medicamentos são considerados terapeuticamente equivalentes se eles são farmacologicamente equivalentes, ou seja, para serem equivalentes farmacêuticos estes medicamentos devem conter o mesmo fármaco, isto é, mesmo sal ou mesmo éster da mesma molécula terapeuticamente ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos, devem cumprir com as mesmas especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira e, na ausência destas, com as de outros códigos autorizados pela legislação vigente, ou ainda, com outros padrões aplicáveis de qualidade, relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução quando for o caso. E, após administração da mesma dose molar, seus efeitos em relação à eficácia e segurança são essencialmente os mesmos, o que se avalia por meio de estudos de bioequivalência apropriados, ensaios farmacodinâmicos, ensaios clínicos ou estudos *in vitro* (BRASIL a, 2002).

Birkett (2003) definiu bioequivalência como: "dois produtos farmacêuticos são bioequivalentes se eles são farmacologicamente equivalentes e suas biodisponibilidades (taxa e extensão da disponibilidade) após a administração na mesma dose molar são similar a um nível em que seus efeitos, a respeito da eficácia e segurança, possam ser esperados ser essencialmente os mesmos. A equivalência farmacêutica implica a mesma quantidade de uma mesma substância ativa, na mesma forma de dosagem, pela mesma via de administração e pelos mesmos padrões comparáveis."

Conforme preconizado no Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência (BRASIL a, 2002) o termo biodisponibilidade é, na verdade, uma contração de disponibilidade biológica. Considera-se biodisponibilidade como sendo 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.

Conforme exposto anteriormente sendo a biodisponibilidade a extensão de fármaco absorvido e a velocidade do processo de absorção o cálculo desta se dá utilizando os seguintes parâmetros farmacocinéticos: área sob a curva de concentração plasmática do fármaco *versus* tempo (ASC_{0-t}) e a concentração plasmática máxima atingida após a administração da dose (C_{max}), que está relacionada ao tempo, denominado T_{max} . (Figura 9)

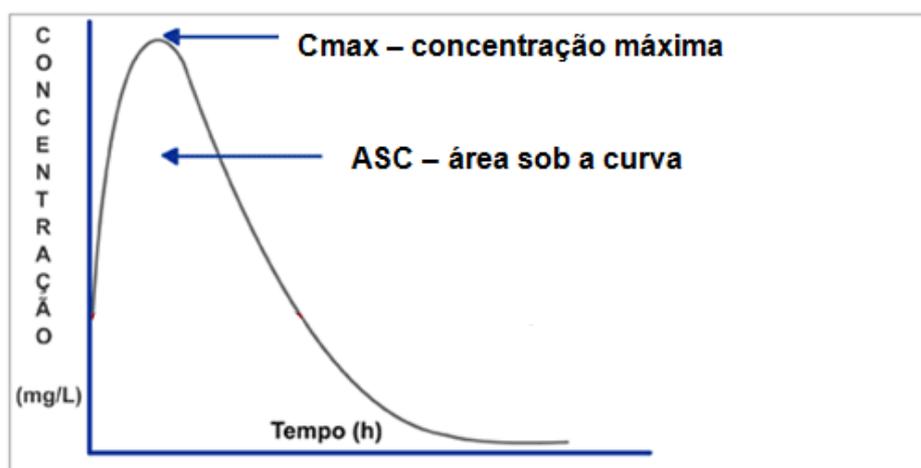


Figura 9: Parâmetros farmacocinéticos (adaptado de ANVISA, 2011)

Tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, se estabeleceu 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 (BRASIL, 2006).

Tal fato, aliado ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade (BPF), fornecem as bases técnicas e científicas para a intercambialidade entre o genérico e seu medicamento de referência, uma vez que, nesse caso, ambos

podem ser considerados equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (STORPIRTIS *et al*, 2004).

Para o medicamento genérico, o fabricante deve investir no desenvolvimento farmacotécnico de um produto que cumpra com as mesmas especificações *in vitro*, em relação ao medicamento de referência. Entretanto, se aceita que a formulação e o processo de fabricação não sejam idênticos, o que geralmente ocorre devido aos diferentes equipamentos e fornecedores de matérias-primas empregados por distintos fabricantes, desde que essas diferenças não comprometam a bioequivalência entre os produtos (DIGHE, 1999).

Essa constatação torna-se clara quando se considera o preconizado na legislação vigente (BRASIL, 2011) para os casos de isenção de testes de bioequivalência para o registro de determinados medicamentos genéricos, como por exemplo, as soluções aquosas injetáveis por via intravenosa. Nessas formas farmacêuticas, o fármaco já está dissolvido e toda a dose será administrada diretamente na corrente circulatória do paciente, o que implica em 100% de biodisponibilidade. Para um genérico desse tipo, a comprovação da equivalência farmacêutica e das BPFC é suficiente para garantir a intercambialidade com o medicamento de referência.

Outro exemplo de isenção corresponde a determinadas soluções aquosas de administração oral, que apresentam o fármaco já dissolvido, e em condições de ser absorvido pelo organismo. Para tais medicamentos não é necessário requerer a comprovação da bioequivalência do genérico em relação ao referência para fins de registro, uma vez que a bioinequivalência é altamente improvável, desde que a formulação do genérico não contenha qualquer substância que possa alterar a absorção do fármaco, em relação à formulação do medicamento de referência (BRASIL, 2011).

Portanto, as preocupações em termos de biodisponibilidade, bioequivalência e intercambialidade recaem sobre medicamentos apresentados sob formas farmacêuticas para as quais existem muitos fatores que podem alterar a liberação, a dissolução e a absorção do fármaco no organismo. Tais fatores devem ser amplamente estudados

durante o desenvolvimento farmacotécnico do produto, o que, no entanto, não exclui a necessidade da realização do teste de bioequivalência (BANAKAR, 1992).

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 (SHARGEL & YU, 1999).

BRASIL, 2006 preconiza que as provas de bioequivalência de medicamentos genéricos de formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI) devem ser realizadas, usando-se o esquema de dose única, administradas a voluntários, em jejum. Já para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação modificada (FFSOLM) é indicado que adicionalmente ao estudo em jejum, estudos com alimentação devem ser realizados para esta forma farmacêutica.

Segundo NOEL *et al* (2004) é necessário reconhecer que pode existir uma certa confusão no uso da terminologia FFSOLM, até mesmo porque não há definição legal deste termo na legislação brasileira, bem como nas legislações mexicana e europeia, por exemplo. As FFSOLM são subdivididas em dois grupos:

- Liberação retardada: são formas de dosagem na qual a liberação do fármaco não se inicia, imediatamente após a administração, o exemplo mais clássico são as formulações gastro-resistentes.
- Liberação Prolongada: são aquelas que reduzem, pelo menos à metade, a frequência de tomada ou aumentam significativamente a adesão ou a performance terapêutica, quando comparadas as formas de dosagens convencionais. A definição do FDA é um pouco diferente, sendo considerada uma forma de liberação prolongada aquela que permite uma redução da frequência de dosagem, sem especificar o tamanho desta redução. Neste contexto é importante notar que os termos “liberação controlada”, “liberação estendida” e liberação sustentada” são sinônimos de “liberação prolongada”.

Cabe ressaltar que no caso de formas farmacêuticas orais de liberação retardada, que apresentam revestimento gastro-resistente, devem ser realizados estudos com alimentação somente quando houver indicação na Lista 1- Forma de Administração (acessível no portal da ANVISA) (BRASIL, 2006)

Considera-se formulação de “liberação prolongada” aquela em que a constante de velocidade de absorção é menor do que numa formulação convencional, levando a um aumento de Tmax e diminuição de Cmax, conforme representado na Figura 10.

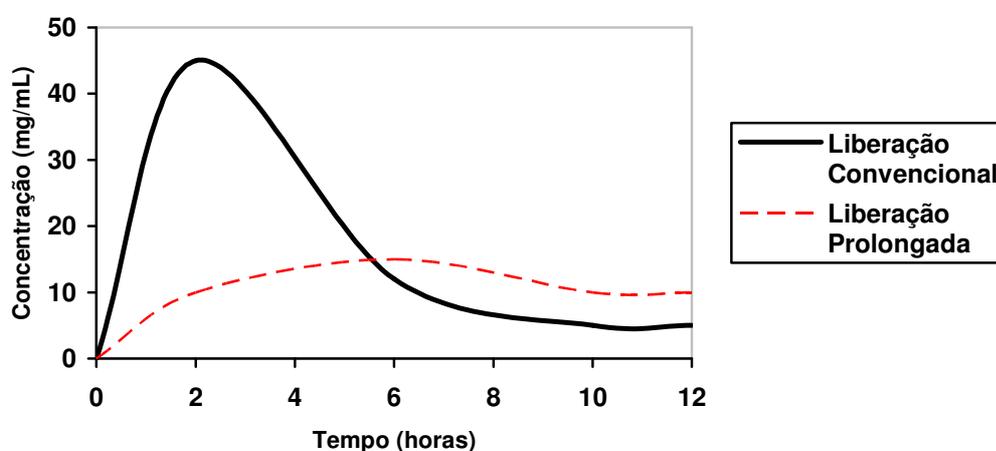


Figura 10 – Concentrações plasmáticas de um fármaco administrado sob forma de comprimido convencional e de liberação prolongada. Notam as diferenças de Tmax e Cmax. Adaptado de SHARGEL & YU,1999.

Em função da sua farmacocinética, esse tipo de formulação oferece as seguintes vantagens:

1. Redução da frequência de administração, no decorrer do tratamento (simplificação da posologia);
2. Diminuição da flutuação dos níveis plasmáticos, com o conseqüente aumento da eficácia e/ou segurança do tratamento;
3. Maior adesão ao tratamento por parte do paciente, em função os benefícios dos itens anteriores. (NOEL *et al*, 2004)

De acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2006), adicionalmente o estudo em jejum, estudos com alimentação devem ser realizados para as formas de liberação

modificada. Por outro lado, a ANVISA, assim como o FDA, não recomenda a realização de estudos com doses múltiplas, alegando que o estudo em dose única é mais sensível para avaliar as possíveis diferenças entre as formulações teste e referência.

Assim como há especificações para a realização de estudos de bioequivalência com formas farmacêuticas sólidas orais de liberação modificada, há também para realização deste estudo para fármaco que apresentam farmacocinética não-linear. A farmacocinética não linear é caracterizada pela não correlação entre as doses administradas e as concentrações plasmáticas obtidas, ou seja, verifica-se que as alterações nas doses administradas não determinam modificações proporcionais em alguns parâmetros farmacocinéticos. Este fato pode ocorrer por saturação em diferentes processos farmacocinéticos, podendo ser na etapa de absorção, distribuição ou eliminação (GAI *et al*, 2011).

SANTOS *et al* (2004) considera que um fármaco possui cinética não-linear, quando uma mudança na dose resulta numa mudança desproporcional nas concentrações do fármaco no sangue, sejam as concentrações dos fármacos no sangue, sejam as concentrações obtidas, após doses múltiplas, ou após uma dose única. Algumas características desses fármacos são:

- A eliminação do fármaco não segue uma cinética de primeira ordem (mudança na constante aparente de eliminação com o aumento da dose);
- A meia-vida de eliminação é aumentada com o aumento da dose;
- A área sob a curva não é proporcional a dose.

Como dito anteriormente os parâmetros farmacocinéticos considerados para quantificação do processo de absorção são: ASC, C_{max} e T_{max} (NOEL *et al*, 2004). Esse comportamento não-linear pode resultar de fatores associados à absorção, distribuição e eliminação. (LUDDEN, 1991).

Tal comportamento de não linearidade do fármaco pode ser causado pela saturação de processos enzimáticos responsáveis pelo metabolismo pré sistêmicos, pela saturação parcial ou total de enzimas responsáveis pela eliminação sistêmica do fármaco e pela saturação do sistema carreador responsável pelo transporte do fármaco para a circulação sanguínea (SANTOS *et al*, 2004).

Além dos fatores relacionados anteriormente, pode haver falha em demonstrar a bioequivalência entre dois medicamentos considerados equivalentes farmacêuticos devido a fatores relacionados diretamente à natureza do teste de bioequivalência. Entre eles destaca-se a característica de absorção do fármaco. Existem fármacos que apresentam maior variabilidade em relação a parâmetros relacionados à absorção, o que dificulta o estabelecimento da bioequivalência entre produtos ou até mesmo entre dois lotes de um mesmo produto (BODDY *et al*, 1995; SHAH *et al*, 1996; TOTHFALUSI *et al*, 2001).

Quanto maior a variabilidade, maior deverá ser o número de voluntários sadios empregado no teste de bioequivalência, sendo que o cálculo do número adequado de voluntários a serem incluídos no estudo deve ser realizado com base em dados de coeficiente de variação (CV) dos parâmetros de absorção a serem considerados, constantes na literatura, ou derivados de estudos prévios (CHOW & LIU, 1992; BRASIL, 2006).

1.6 Fumarato de Quetiapina

O fumarato de quetiapina é um agente psicotrópico pertencente a uma classe química, os derivados da dibenzotiazepina. O nome químico é 2-[2-(4-dibenzo [b,f] [1,4]thiazepin-11-yl- 1piperaziny) ethoxy]-ethanol fumarate (2:1) (sal). Sua fórmula estrutural é $C_{42}H_{50}N_6O_4S_2 \cdot C_4H_4O_4$ e seu peso molecular é 883.11 (sal fumarato). (RXLIST, 2011) A fórmula estrutural segue na figura 11:

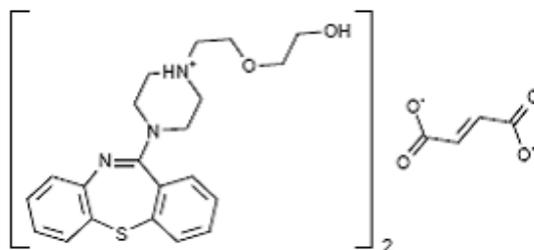


Figura 11: Fórmula estrutural do fumarato de quetiapina (RXLIST, 2011)

O fumarato de quetiapina é um pó cristalino branco à quase branco e é moderadamente solúvel em água. Sendo a quetiapina uma base fraca sua solubilidade é dependente do pH, ou seja, é solúvel em meios aquosos ácidos, mas a solubilidade do fármaco diminui com o aumento do pH do meio, o que pode resultar na liberação do fármaco dependente do pH do sistema de liberação (formulação) no qual o fármaco estará inserido. (KUCHEKAR e BOLDHANE, 2009)

A quetiapina é um agente antipsicótico, com eficácia e tolerabilidade estabelecida para o tratamento de esquizofrenia, assim como o tratamento de episódios maníacos agudos associados ao distúrbio bipolar I. O efeito antipsicótico da quetiapina é considerado por alguns, ser mediado através das atividades antagonistas nos receptores de dopamina e serotonina. Especificamente, o D1 e D2 de dopamina, o alfa 1 adrenérgicos e alfa 2 adrenérgicos, e os subtipos 5-HT1A e 5-HT2 dos receptores de serotonina são antagonizados. A quetiapina também tem efeito antagonista no receptor H1 da histamina. A forma farmacêutica de liberação prolongada de quetiapina foi desenvolvida para promover uma administração facilitada, sendo única e diária. Essa forma farmacêutica é aprovada na Europa e nos Estados Unidos da América para os tratamentos acima descritos (BALDWIN e SCOTT, 2009).

A quetiapina é bem absorvida e extensivamente metabolizada após administração oral. A quetiapina liga-se em aproximadamente 83% das proteínas plasmáticas. No estado de equilíbrio, a média de C_{max} e ASC de norquetiapina é aproximadamente 21 a 27% e 46 a 56%, respectivamente daquela observada pela quetiapina. A eliminação de quetiapina é principalmente pelo metabolismo hepático. A meia-vida de eliminação da quetiapina e da norquetiapina são de aproximadamente 7 e 12 horas, respectivamente. (NEMEROFF *et al*, 2002; SEROQUEL XRO[®], 2011)

A farmacocinética da quetiapina e da norquetiapina são lineares dentro da faixa terapêutica de dose aprovada. A cinética da quetiapina não difere entre homens e mulheres. A concentração plasmática máxima e a área sob a curva de concentração plasmática para a forma farmacêutica de liberação prolongada de quetiapina administrado em dose única diária é comparável a todas as atingidas com a mesma dose total diária da forma farmacêutica de liberação imediata de quetiapina administrada duas vezes ao dia. (NEMEROFF *et al*, 2002)

A farmacocinética de quetiapina em forma de liberação prolongada é linear e proporcional as outras dosagens disponíveis (400 – 800 mg/dia). (MEDICINES EVALUATION BOARD, 2009)

A quetiapina alcança pico de concentração plasmática aproximadamente 6 horas após administração, em estudo de bioequivalência conduzido por ESTEVEZ-CARRIZO *et al* (2011), o Tmax encontrado foi de 5 horas (2,5 a 10 horas), assim como no artigo BALDWIN E SCOTT (2009) onde é descrito que o Tmax do fármaco é de 5 horas. A biodisponibilidade de quetiapina administrada em dose única diária com a forma farmacêutica de liberação prolongada mostrou-se ser comparável à administração de duas doses diárias do medicamento em forma de liberação imediata. Uma alimentação com altos índices de gordura (aproximadamente 800 a 1000 calorias) apresentou um aumento estatisticamente grande nos parâmetros de Cmax e ASC de 44% a 52% e 20% a 22%, para os comprimidos de 50 mg e 30 mg, respectivamente. Em comparação, uma refeição leve (aproximadamente 300 calorias) não teve nenhum efeito no Cmax e ASC da quetiapina.

A quetiapina é amplamente distribuída pelo corpo com um volume de distribuição aparente de 10±4L/kg. 83% do fármaco se liga às proteínas plasmáticas nas concentrações terapêuticas. Após administração de uma dose única de 14C-quetiapina, menos de 1% da dose administrada é excretada como inalterada, indicando que a quetiapina é extensivamente metabolizada pelo fígado. Aproximadamente 73% da quetiapina radioativada é excretada na urina e 21% nas fezes. A média de fração da dose de quetiapina livre e seu maior metabólito excretado na urina é menor que 5% (BALDWIN, 2009; NERMEROFF *et al*, 2002).

Conforme acima exposto vale elucidar que a quetiapina é extensivamente metabolizada pelo fígado (primeiramente sulfoxidação pelo CYP 3A4) e tem apenas um metabólito ativo (norquetiapina). Investigações *in vitro* estabeleceram que CYP3A4 é a principal enzima responsável pelo metabolismo da quetiapina mediado pelo citocromo P450. A norquetiapina é primariamente formada e eliminada via CYP3A4. A quetiapina e diversos de seus metabólitos (incluindo a norquetiapina) foram considerados inibidores fracos das atividades do citocromo P450 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A4 *in vitro*. *In vitro* a inibição da CYP é observada apenas em concentrações de aproximadamente

5 a 50 vezes mais altas que aquelas observadas na faixa da dose eficaz usual de 300 a 800 mg/dia em humanos (BALDWIN, 2009; SEROQUEL XRO[®], 2009)

O tempo de meia-vida de quetiapina e norquetiapina é aproximadamente 7 e 12 horas, respectivamente. (NERMEROFF *et al*, 2002). O tempo de meia-vida encontrada no estudo de bioequivalência realizado por ESTEVEZ-CARRIZO *et al*. (2011), foi de 6,43 horas (1,46 a 23,88 horas).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o comportamento *in vitro* e *in vivo* de duas formulações de liberação modificada de quetiapina 50 mg por meio de estudos de bioequivalência e perfis de dissolução em meios com características biorelevantes.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o comportamento das formulações referência e teste em diferentes meios de dissolução;

Verificar se há uma correlação *in vitro* – *in vivo* nível A empregando os dados de dissolução do medicamento referência e os dados resultantes do estudo de bioequivalência;

Prever o comportamento da formulação teste por meio do modelo de correlação *in vitro* – *in vivo* estabelecido;

Validar a aplicação do modelo por meio do resultado do estudo *in vivo* (Bioequivalência).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Tendo em vista que o presente estudo foi realizado com duas formulações, sendo uma produzida pela AstraZeneca do Brasil Ltda. dita como medicamento de referência nacional e o outro produzido por uma indústria nacional cujo objetivo é se tornar um medicamento genérico, ou ainda similar, é possível afirmar, através da comparação dos componentes declarados em bula que ambas, que possuem a mesma formulação qualitativa, sendo esta composta por (quantidade equivalente a 1 comprimido):

Fumarato de quetiapina 57,56 mg (equivalente a quetiapina 50mg)

Excipientes q.s.p. 1 comprimido

Excipientes: povidona, fosfato de cálcio dibásico, celulose microcristalina, lactose monoidratada, amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio, hipromelose, macrogol, dióxido de titânio.

3.1 Estudo *in vitro*

Para avaliação do comportamento das formulações contendo quetiapina *in vitro* foi realizado o teste de perfil de dissolução em três meios com diferentes pH, sendo estes: pH 1.2, 4.5 e 6.8, uma vez que tais meios simulam o ambiente do trato gastrointestinal, no qual o medicamento sofrerá o processo de absorção.

O perfil de dissolução, que foi determinado através do método validado internamente pelo fabricante da formulação teste, consiste na utilização do dissolutor aparato II (pá), utilizando o meio tampão sob 50 rpm, em 900 mL, sendo os pontos de coletas recomendados 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16 e 18 horas, sob 37°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) de temperatura.

Para o preparo do meio de dissolução, no determinado pH podendo este variar entre pH 1.2, 4.5, 6.8 foram dissolvidos 40,83g de Fosfato de Potássio monobásico e 5,37g de hidróxido de sódio em 6000mL de água deionizada e homogeneizado, verificando o pH desejado e ajustando com hidróxido de sódio 1%, se necessário.

Para a obtenção da fase móvel foi preparado uma mistura de acetonitrila (grau HPLC) na proporção (70:30, v/v), homogeneizado e filtrado em membrana 0,45µm.

As condições cromatográficas utilizadas foram coluna Gemini C18 110 A 250 x 4,6mm 5µm, fluxo de 1,0 mL/min, temperatura 30°C, detecção por UV a 220nm, volume de injeção de 5 µL, tempo de retenção de aproximadamente 6,5 minutos e tempo de corrida de 9 minutos.

Para atingir o tempo de estabilização do sistema a coluna foi condicionada com a fase móvel por aproximadamente 30 minutos e em seguida foi verificada a estabilidade por meio do monitoramento da linha de base.

Como procedimento adotou-se a injeção do padrão 100% no mínimo 5 vezes. Em seguida o cálculo do DPR (Desvio Padrão Relativo) foi realizado para as replicatas das injeções, sendo o DPR desejado $\leq 2,0\%$. Em seguida realizou-se a injeção do padrão de recuperação 2 vezes, devendo este estar dentro da faixa de especificação de 98,0 à 102,0%. E em seguida realizou-se a injeção da amostra e foi registrada a área do pico principal.

Para o preparo dos padrões foram pesados analiticamente cerca de 32,0 mg de Padrão primário e 32,0 mg de Padrão secundário. O padrão de fumarato de quetiapina foi transferido para balão volumétrico de 25 mL ao qual foi adicionado 10 mL de metanol e levado ao ultrassom até completa solubilização do padrão, completando assim o volume do balão com metanol o qual em seguida foi homogeneizado. Em seguida foi pipetado 5,0 mL desta solução para um balão volumétrico de 100 mL, ao qual foi completado o volume do balão com o meio de dissolução sofrendo nova homogeneização seguida da filtração através de membrana 0,45µm. A concentração aproximada Quetiapina base foi 0,056 mg / mL.

Para o preparo das amostras foi colocado simultaneamente, 1 comprimido em cada cuba do dissolutor (6 cubas), contendo 900mL de meio de dissolução, nas condições pré estabelecidas descritas acima. Em seguida foi retirado uma alíquota +/-5 mL e filtrada através de membrana 0,45µm.

De acordo com o preconizado na legislação vigente (BRASIL, 2010), que dispõe o método sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo, realizou-se a comparação entre as formulações teste e

referência através do fator de semelhança (f2) que corresponde a uma medida de semelhança entre as percentagens dissolvidas de ambos os perfis, que pode ser calculado pela equação a seguir:

$$f_2 = 50 \times \log \left[\left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right]$$

onde: n = número de tempos de coleta considerados para fins de cálculo de f2; Rt = valor de percentagem dissolvida no tempo t, obtido com o Medicamento de Referência ou Comparador; Tt = valor de percentagem dissolvida do medicamento Teste ou da formulação alterada, no tempo t.

Conforme disposto ainda na referida resolução para avaliação do perfil de dissolução diz-se que duas formulações são semelhantes quando o valor do f2 estiver compreendido entre 50 a 100. Para este cálculo de f2, se deve utilizar, no mínimo, os três primeiros pontos, excluindo o tempo zero e incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução.

Para formas farmacêuticas de liberação prolongada, a coleta de amostra deve ser representativa do processo de dissolução em, por exemplo, 1, 2 e 4 horas e depois a cada duas horas até que ambos os medicamento apresentem dissolução de 80% da substância ativa ou o platô seja alcançado.

Ainda referente a comparação entre os perfis de dissolução para que estes sejam considerados semelhantes os medicamentos teste e de referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes, além disso os tempos de coleta devem ser os mesmos para as duas formulações. O número de pontos de coleta deve ser representativo do processo de dissolução até que se obtenha platô na curva, sendo obrigatória a quantificação de amostras de, no mínimo, cinco tempos de coleta.

3.2 Estudo *in vivo*

A realização do teste de bioequivalência deve ser precedida, necessariamente, pela realização do teste de equivalência farmacêutica. A comparação dos perfis de dissolução do fármaco a partir dos medicamentos em estudo, antes da realização do teste de bioequivalência, também é necessária e recomendável. Entretanto, como abordado anteriormente, a demonstração da semelhança entre os perfis de dissolução por si não qualifica os produtos como bioequivalentes (SHARGEL & YU, 1999).

Para que o estudo de bioequivalência apresente resultados confiáveis é necessário que o mesmo seja bem planejado e conduzido. Esse planejamento envolve as etapas: clínica, analítica e estatística (STORPIRTIS *et al*, 2004).

Na etapa clínica deve ser elaborado um protocolo de estudo a ser aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, estabelecido o cronograma de coleta das amostras, de acordo com o tipo de forma farmacêutica (liberação imediata ou modificada) e a meia-vida de eliminação do fármaco. Os critérios de inclusão e exclusão de voluntários do estudo devem ser suficientes para selecionar voluntários saudáveis, evitando que características fisiológicas dos indivíduos interfiram nos resultados. A forma pela qual as amostras serão coletadas, processadas, armazenadas e transportadas também faz parte do planejamento da etapa clínica (SHARGEL & YU, 1999).

Um item fundamental para a boa condução da fase clínica é um protocolo clínico bem desenhado, para que isso ocorra há definido um Guia para Elaboração de Protocolo de Estudo (BRASIL a, 2003), no qual deve conter: título do projeto, número e data do protocolo, investigador principal, investigador clínico, responsável pela etapa analítica, responsável pela etapa estatística, local das instalações, objetivo do estudo, delineamento do estudo, população do estudo, reações adversas, considerações éticas, método analítico, tratamento estatístico, critérios de aceitação dos desvios do protocolo e apêndices.

Para avaliação *in vivo* foi realizado um estudo piloto intitulado: “Estudo piloto para avaliação da biodisponibilidade comparativa de duas formulações contendo fumarato de quetiapina - comprimido revestido de liberação prolongada de 50 mg produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda. (medicamento teste) *versus* Seroquel

XRO[®] - comprimido revestido de liberação prolongada de 50 mg distribuído pela AstraZeneca do Brasil Ltda. (medicamento referência) em voluntários sadios do sexo masculino e feminino em condição de jejum.”

O Protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local (ANEXO II). O estudo foi conduzido em dois centros de bioequivalência certificados pela ANVISA, seguindo os padrões internacionais de Boas Práticas Clínicas (ICH), Boas Práticas de Laboratório e regulamentações locais (Resolução CNS nº196/96) e também com os princípios enunciados na Declaração de Helsinque (1964) e nas revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset West (1996) e Edinburg (2000).

Foram selecionados 16 voluntários sadios sendo 8 do sexo feminino e 8 do sexo masculino, com idades entre 18 e 43 anos incluídos no estudo após avaliação clínica completa. Os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos no Protocolo foram atendidos e os voluntários foram considerados aptos para o estudo, baseado na história médica, dados demográficos, história medicamentosa, exames físicos, sinais vitais e resultados dos exames laboratoriais e de urina. Antes do estudo cada voluntário assinou um termo de consentimento livre e esclarecido.

O estudo foi de dose única, randomizado, aberto, cruzado, balanceado, dois tratamentos, dois períodos com um intervalo entre os tratamentos (*washout*) de no mínimo sete dias, isto para que ocorra a total eliminação do fármaco entre os períodos evitando efeito residual no estudo, sendo este cálculo baseado no tempo de meia vida do fármaco. O estudo de bioequivalência visava comparar a taxa e a extensão da absorção da formulação teste *versus* a formulação de referência.

Após um jejum noturno de dez horas os voluntários receberam uma dose única (50 mg) de uma das formulações (referência ou teste) de fumarato de quetiapina comprimido revestido de liberação prolongada com um copo de água (200 mL). O consumo de água foi liberado após duas horas e o almoço foi servido após quatro horas da administração do medicamento. A administração da medicação foi realizada acordo com a lista de randomização, na qual o voluntário é alocado para um dos tratamentos (teste ou referência).

O cronograma de coleta das amostras foi executado até 36 horas sem desvios obtendo-se um total de 23 amostras de sangue (7,5 mL cada) coletados em tubos contendo heparina lítica como anticoagulante.

Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3.500 rpm por dez minutos a 4°C e em seguida o plasma foi separado em duas alíquotas e armazenado a -20°C para análise.

Após a conclusão da etapa clínica deu-se início das atividades da etapa analítica, aquela em que o fármaco é quantificado nas amostras e deve, por essa razão, ser realizada de forma a não deixar dúvidas sobre os resultados obtidos. Durante o planejamento da etapa analítica devem ser estabelecidos o analito a ser quantificado (fármaco inalterado, metabólito ou profármaco), a matriz biológica utilizada (sangue total, plasma, soro ou urina) e o método analítico adequado. O método de quantificação deve ser específico para cada analito, exato e relativamente simples, de modo a minimizar os erros. Conforme disposto na legislação vigente toda a metodologia deve estar devidamente validada antes da realização do estudo, apresentando todos os parâmetros de validação previamente estabelecidos (BRESSOLE *et al*, 1996; CAUSON, 1997).

O método analítico para quantificação da quetiapina foi desenvolvido e previamente validado no local seguindo diretrizes internacionais e abrangeu a determinação da linearidade, precisão e exatidão intra e inter dia, seletividade, limite de quantificação, recuperação e estabilidade em diferentes condições. A matriz biológica empregada foi o plasma humano e como padrão interno adotou-se a clozapina. A extração aplicada neste método foi precipitação tendo como solvente o metanol.

As concentrações plasmáticas do fumarato de quetiapina foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS)

Considera-se que a etapa estatística começa, na realidade, antes do início do estudo, com o cálculo do número adequado de voluntários para o fármaco em questão e a elaboração da lista de randomização. Também faz parte do planejamento da etapa estatística, o tratamento a que serão submetidos os dados gerados na etapa analítica (SHARGEL & YU, 1999).

Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados empregando-se modelo não compartimental, utilizando *Winnonlin*[®] 5.2 (Pharsight, EUA). C_{max} e T_{max} foram determinados para cada voluntário e cada tratamento. ASC_{0-t} foi calculada utilizando o método dos trapezóides. A ASC_{0-inf} (extrapolada) foi calculada como ASC_{0-t} + Ct/Kel, onde Ct é a última concentração medida (não zero). Para calcular a constante de eliminação (Kel) os valores de concentração plasmática (y) *versus* tempo (x) foram transformados em logaritmo natural (Ln) e submetidos a uma análise de regressão. Kel foi a inclinação da reta multiplicada por -1 e a meia-vida aparente (t_{1/2}) foi calculada como 0.693/ Kel.

A partir dos valores obtidos para concentrações plasmáticas do estudo de bioequivalência foi possível a avaliação estatística contemplando o delineamento cruzado (crossover) 2x2, aberto, aleatório, para dois tratamentos (medicamentos teste e referência), dois períodos e duas sequencias (TR - teste referência e RT – referência teste). Neste delineamento, cada indivíduo recebeu as duas formulações do mesmo fármaco em períodos distintos, sendo as sequências de medicamentos atribuídas aleatoriamente aos indivíduos e de forma balanceada visando minimizar os efeitos de sequência e período, pelo qual foi possível obter os parâmetros farmacocinéticos para a avaliação da biodisponibilidade de cada formulação e consequente comparação estatística para avaliação da bioequivalência.

Os resultados para obtenção da bioequivalência foram calculados por meio do software *Winnonlin*[®] empregando-se a análise de variância (ANOVA) para o cálculo do intervalo de confiança de 90% (IC 90%) das razões teste/referência para ASC_{0-t} e C_{max} (dados transformados em logaritmo). Dois produtos são considerados bioequivalentes quando o intervalo de confiança de ASC_{0-t} e C_{max} estão entre 80% e 125%.

Ao término dessas três fases acima descritas é elaborado o relatório técnico do estudo, sendo este composto pelo relatório clínico, relatório analítico e relatório estatístico (BRASIL b, 2003).

3.3 Correlação *in vitro in vivo*

Conforme preconizado no Guia para Estudos de Correlação *In vitro In vivo* (BRASIL b, 2002) adotou-se neste estudo a correlação nível A, que é o nível de correlação mais alto que pode ser obtido.

Foi estabelecida uma relação *in vitro – in vivo* entre as frações absorvidas das formulações Teste e Referência dos estudos de bioequivalência em jejum com as percentagens dissolvidas nos meios de valores de pH 1.2, 4.5 e 6.8. Avaliou-se o modelo de correlação linear que melhor se ajustou aos dados por meio do emprego de regressões ordinal e ponderada ($1/x^2$).

As frações absorvidas foram obtidas das curvas de concentração plasmática *versus* tempo empregando o modelo de Wagner-Nelson (deconvolução) para o estudo de bioequivalência em jejum. A equação que descreve o modelo de deconvolução está apresentada abaixo (EMAMI, 2006):

$$\text{Wagner-Nelson: } F_t = \frac{C_t + K_{el} \cdot \int_0^t C dt}{K_{el} \cdot \int_0^\infty C dt}$$

Sendo: C_t - concentração plasmática no tempo t , K_{el} – constante de eliminação, $\int_0^t C dt$ – integral da concentração plasmática de 0 a t , $\int_0^\infty C dt$ – integral da concentração plasmática de 0 ao infinito.

As concentrações plasmáticas *versus* tempo foram previstas, empregando-se os dados de dissolução (Convolução), por meio do modelo de GOHEL M *et al* (2005).

$$C_{(t+1)} = \frac{\left[\frac{2 \times \Delta Fab \times Dose}{Vd} \right] + C_{(t)} (2 - K_{el} \times \Delta t)}{(2 + K_{el} \times \Delta t)}$$

Sendo: $C_{(t+1)}$ – concentração plasmática no tempo $t+1$; ΔFab – variação da fração absorvida; $Dose$ – dose empregada no estudo; Vd – volume de distribuição; $C(t)$ – concentração plasmática no tempo t ; K_{el} – constante de velocidade de eliminação; Δt – variação do tempo.

O erro de previsão (PE) para cada parâmetro farmacocinético, conforme equação abaixo, não deve ser superior a 15% (EMAMI J, 2006; FDA, 1997)

$$PE(\%) = \frac{\text{parâmetro previsto} - \text{parâmetro observado}}{\text{parâmetro observado}}$$

4. RESULTADOS

4.1 Estudo *in vitro*

Para cada meio (pH: 1.2, 4.5 e 6.8) foram realizados os perfis de dissolução comparativo entre o medicamento referência e teste, conforme elucidado nas Figuras 12, 13 e 14. Os valores obtidos no teste de dissolução, a partir dos quais foi possível a obtenção dos perfis abaixo descritos, encontram-se descritos no ANEXO I. Empregou-se parâmetros clássicos de dissolução, isto é, aparato II (pá), rotação de 50 rpm e volume de 900 mL.

Os ensaios de dissolução empregando o aparato II em meios com características biorelevantes (pH 1.2, 4.5 e 6.8) demonstraram que os perfis de dissolução das formulações teste e referência apresentaram comportamentos semelhantes *in vitro*. Entretanto, no meio pH 1.2 (ácido) a dissolução ocorreu mais rapidamente visto que em 12 horas obteve-se uma dissolução próxima a 100%, tanto para a formulação teste como referência. Nos demais meios (pH 4.5 e 6.8) a dissolução de 100% foi obtida em 18 horas.

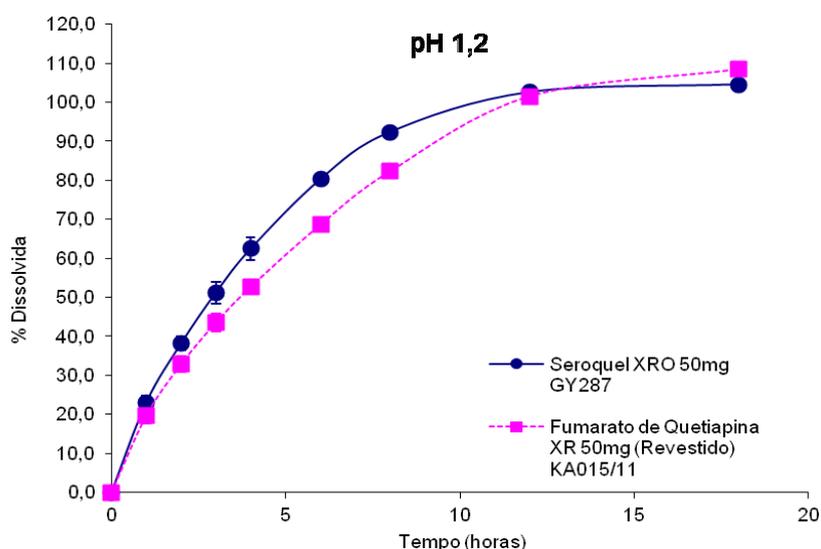


Figura 12. Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 1.2.

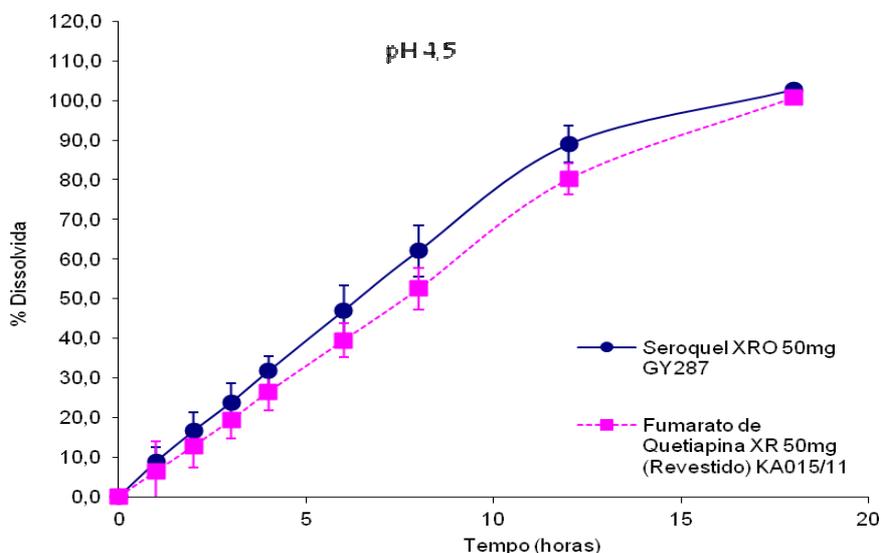


Figura 13. Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 4.5.

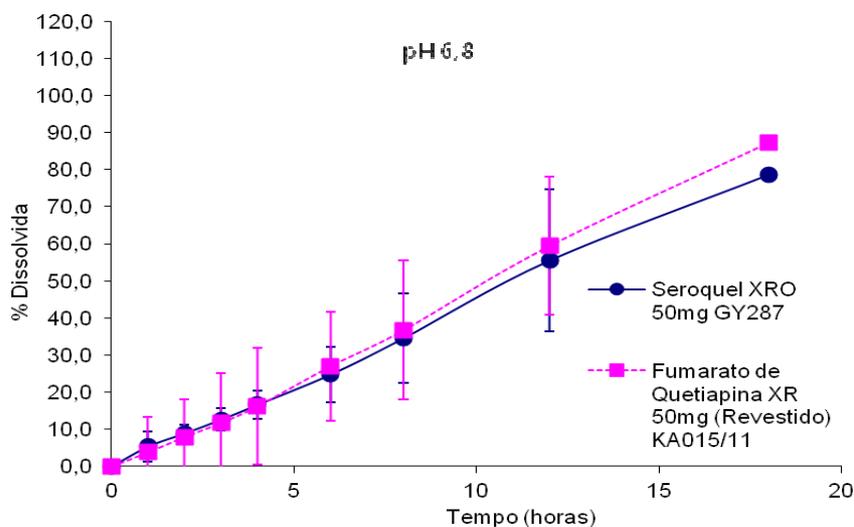


Figura 14. Perfil de dissolução comparativo (medicamento referência x teste) no meio de dissolução pH 6.8.

As semelhanças entre as formulações teste e referências, nos meios de dissolução avaliados, foram comprovados por meio do cálculo do parâmetro f_2 , que apresentou valores superiores a 50, como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de f2 considerados para avaliação das formulações.

pH	Tempo (h) para obtenção de f2	Seroquel XRO (referência)	Fumarato de Quetiapina (teste)	f2 (≥ 50)
1.2	8	92,6	82,6	55,5
4.5	18	102,7	99,7	63,1
6.8	18	71,4	89,0	56,8

Apesar do critério para avaliação do perfil de dissolução (f2) demonstrar as semelhanças entre as formulações teste e referência nos meios avaliados, observou-se que a cinética de dissolução das formulações são diferentes nos 3 meios. No pH 1.2 a cinética de dissolução é, visualmente, muito próxima de 1^o ordem, isto é, caracterizada pela alta solubilidade do fármaco no meio, e, nos meios pH 4.5 e 6.8, pode-se inferir que a cinética é de ordem zero, devido a baixa solubilidade do fármaco nesses meios, verificou-se que no pH 1.2 (no tempo de 8 horas) para ambos medicamentos (teste e referência) atingiram o fator de semelhança enquanto que nos demais meios (pH = 4.5 e 6.8) o f2 foi obtido em 18h.

Para a avaliação do perfil de dissolução, verificou-se que no pH 1.2 (até o tempo de 8 horas) ambas formulações (teste e referência) atingiram o fator de semelhança, demonstrando assim que neste meio foi possível estabelecer a CIVIV, sendo que na ausência desta correlação provavelmente o meio que tenderia a apresentar características mais discriminativa entre as formulações seria o meio do pH 6.8. Nos demais valores de pH (4.5 e 6.8) verificou-se que o f2 foi atingido somente após 18h, não refletindo desta forma o T_{max} obtido no estudo *in vivo* (de aproximadamente 7h).

Por se tratar de uma formulação de liberação modificada não é possível atribuir uma classificação para o perfil de dissolução (rápida ou muito rápida), visto que o objetivo de tal formulação é retardar/modular a liberação do fármaco em função do tempo.

4.2 Estudo *in vivo*

O estudo foi realizado conforme preconizado no protocolo clínico e no decorrer das internações foram notificados 34 relatos de eventos adversos não sérios, sendo 16 no primeiro período e 18 no segundo período. A maior parte desses relatos é de intensidade leve e não relacionado com o medicamento em estudo.

A Figura 15 apresenta a disposição cinética do fármaco fumarato de quetiapina após administração, em dose única e em jejum, das formulações teste e referência. Assim como a Tabela 3 apresenta as concentrações plasmáticas médias obtidas neste estudo.

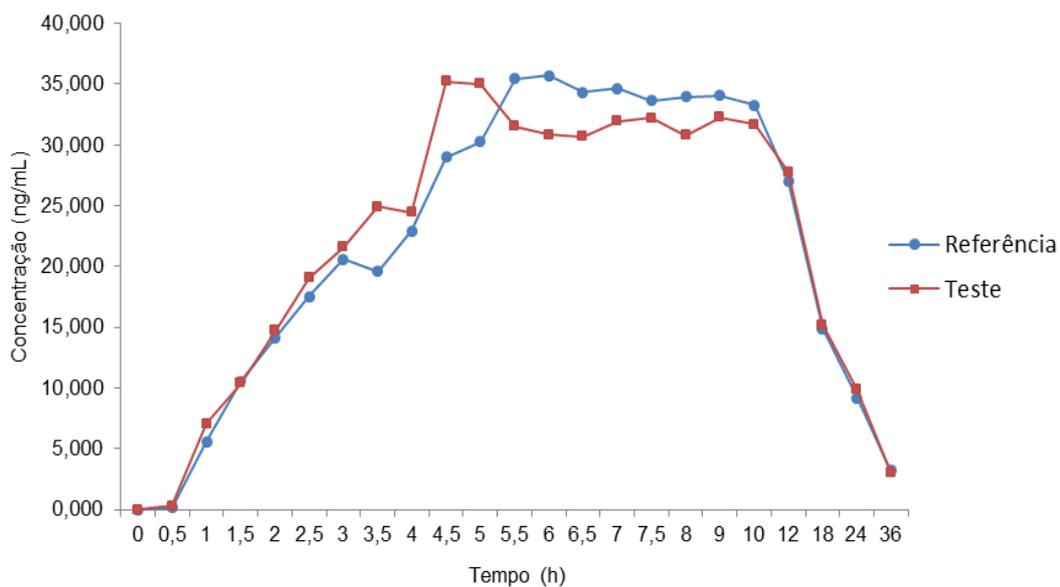


Figura 15 - Concentração plasmática média *versus* tempo das formulações referência e teste de fumarato de quetiapina após administração em dose única em jejum (n = 16 voluntários).

Tabela 3. Concentrações plasmáticas médias (ng/mL) dos medicamentos teste e referência dos 16 voluntários

Tempo (horas)	Referência (média)	Teste (média)
0,00	0,000	0,000
0,50	0,160	0,319
1,00	5,566	7,037
1,50	10,572	10,372
2,00	14,160	14,711
2,50	17,512	19,084
3,00	20,603	21,614
3,50	19,612	24,936
4,00	22,944	24,475
4,50	28,990	35,246
5,00	30,250	35,046
5,50	35,431	31,538
6,00	35,726	30,824
6,50	34,342	30,673
7,00	34,629	31,938
7,50	33,636	32,238
8,00	33,974	30,806
9,00	34,090	32,266
10,00	33,282	31,688
12,00	27,027	27,768
18,00	14,862	15,226
24,00	9,172	9,885
36,00	3,194	3,057

A Tabela 4 apresenta dos parâmetros farmacocinéticos, obtidos por meio da aplicação do modelo não-compartimental, a partir das concentrações plasmáticas do fármaco para as formulações teste e referência.

Tabela 4: Parâmetros farmacocinéticos obtidos no estudo piloto com 16 voluntários para as formulações teste e referência.

Parâmetros	Referência	Teste
Kel (h^{-1})	0,094	0,095
Tmax (h)	7,061	6,285
T _{1/2} (h)	7,361	7,265
Cmax (ng.ml ⁻¹)	40,698	40,940
ASC _{0-t} (ng.h.mL ⁻¹)	529,271	548,768
ASC _{0-∞} (ng.h.mL ⁻¹)	567,772	579,892

A Tabela 5 apresenta o intervalo de confiança, coeficiente de variação intra-sujeito e o poder do teste, referente aos parâmetros Cmax, ASC_{0-t} e ASC_{0-∞} dos produtos teste e referência, além da média geométrica e os intervalos de confiança 90% (IC 90%) para os parâmetros ASC_{0-t}, ASC_{0-∞} e Cmax. Como os valores dos IC 90% se apresentaram dentro dos limites de confiança de 80% e 125% as formulações foram consideradas bioequivalentes.

Tabela 5. Razão das médias dos parâmetros Cmax, ASC_{0-t} e ASC_{0-∞} (dados transformados em logaritmo natural).

Parâmetros	Teste / Referência			
	Média Geométrica	IC (90%)	CV intra (%)	Poder do teste (%)
Cmax	100,594	(83,79 – 120,77)	29,98	64,92
ASC _{0-t}	103,684	(96,55 - 111,34)	11,48	99,89
ASC _{0-∞}	102,135	(94,22 – 110,71)	13,00	99,92

O estudo foi planejado e conduzido de maneira adequada, com a obtenção dos parâmetros farmacocinéticos Cmax, ASC_{0-t} e ASC_{0-∞}, cujos valores do intervalo de confiança (90%) contidos no limite preconizado.

4.3 Correlação *in vitro in vivo*

O modelo de Wagner-Nelson foi empregado para a obtenção das frações absorvidas da formulação referência. As frações absorvidas ($F_a\%$) *versus* tempo (h) para a formulação referência podem ser observadas na Figura 16 e na Tabela 6.

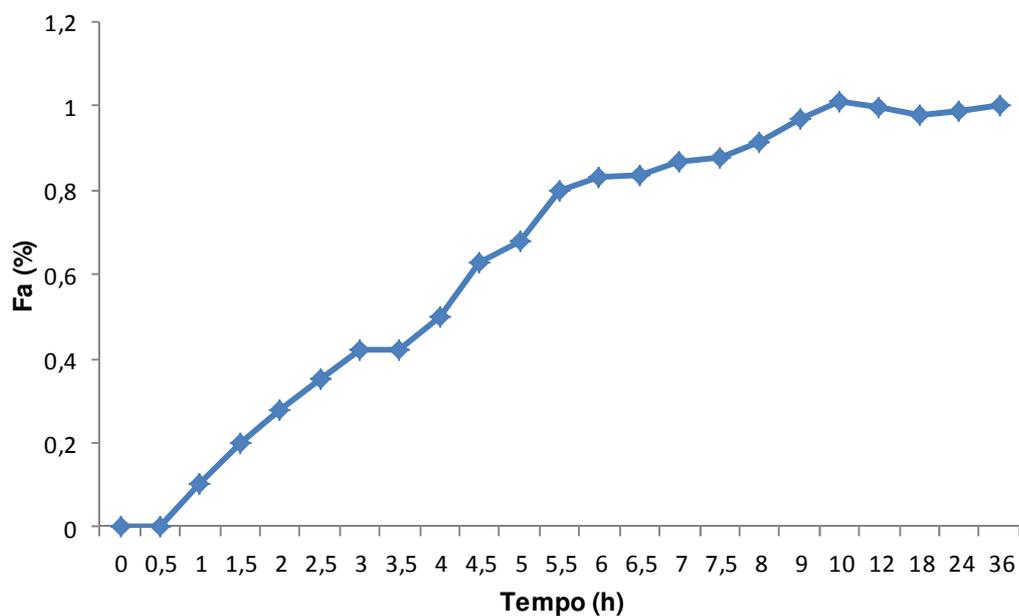


Figura 16. Fração absorvida *versus* tempo da formulação referência.

Tabela 6. As frações absorvidas para a formulação referência.

Tempo (h)	Fa (%)
0	0
0,5	0,002985
1	0,102738
1,5	0,200503
2	0,276229
2,5	0,351160
3	0,423268
3,5	0,421415
4	0,498967
4,5	0,629581
5	0,677407
5,5	0,799052
6	0,833524
6,5	0,836525
7	0,870100
7,5	0,879667
8	0,912671
9	0,969881
10	1,010097
12	0,995168
18	0,977116
24	0,990072
36	1

A Tabela 7 apresenta a percentagem do fármaco absorvido (*in vivo*) e a percentagem de fármaco dissolvido (*in vitro*) nos meios pH 1.2, 4.5 e 6.8 para a formulação referência.

Tabela 7. Percentagem do fármaco absorvido (*in vivo*) e a percentagem de fármaco dissolvido (*in vitro*)

Tempo (h)	pH 1.2		pH 4.5		pH 6.8	
	% fármaco absorvido	% fármaco dissolvido	% fármaco absorvido	% fármaco dissolvido	% fármaco absorvido	% fármaco dissolvido
1,0	10,2	23,1	10,2	8,8	10,2	5,4
2,0	27,6	38,2	27,6	16,7	27,6	8,9
3,0	42,3	51,2	42,3	23,9	42,3	12,6
4,0	49,9	62,5	49,9	31,8	49,9	16,6
6,0	83,3	80,3	83,3	47,0	83,3	24,8
8,0	91,2	92,4	91,2	62,1	91,2	34,6
12,0	99,5	102,6	99,5	89,0	99,5	55,5
18,0	97,7	104,5	97,7	102,8	97,7	78,6

Os dados de fração absorvida foram correlacionados com as percentagens dissolvidas em função do tempo nos meios pH 1.2, 4.5 e 6.8 para a formulação referência, conforme pode ser verificado nas Figuras 17, 18 e 19.

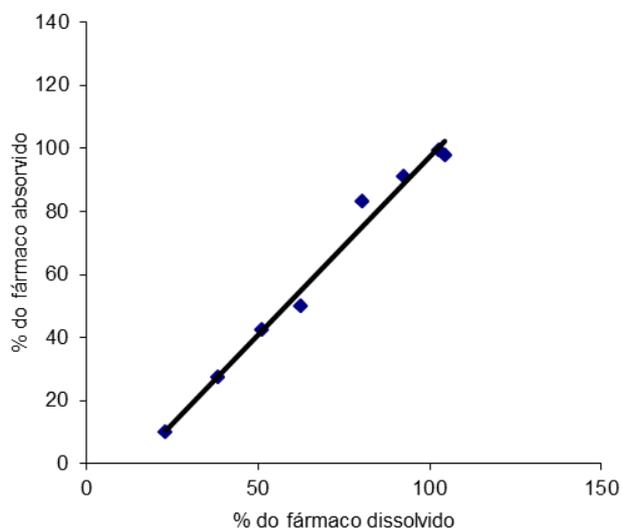


Figura 17: Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 1.2

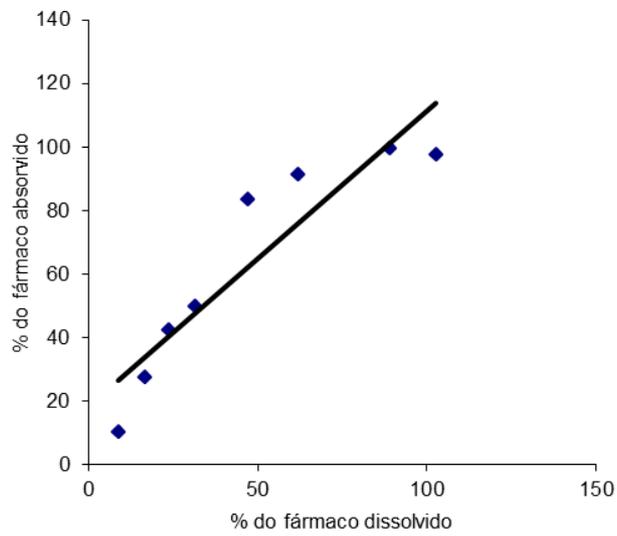


Figura 18: Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 4.5

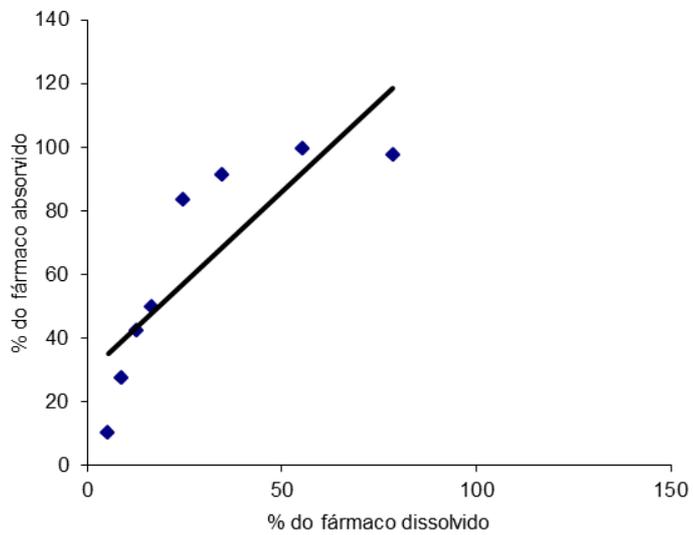


Figura 19: Fração absorvida correlacionada com as percentagens dissolvidas em função do tempo no meio pH 6.8.

A Tabela 8 demonstra que o modelo de correlação linear foi obtido somente com o meio de dissolução de pH 1.2 e que o modelo de regressão linear ponderado ($1/x^2$) foi o mais adequado para descrever a relação *in vitro* - *in vivo*.

Tabela 8 – Regressão linear ordinal e ponderada para descrever a CIVIV

pH	Regressão Linear Ordinal (R ²)	Regressão Linear Ponderada (1/x ²) (R ²)
1.2	0.9854	0.9977
4.5	0.85	----
6.8	0.7081	----

O meio pH 1.2 determinou um modelo linear de correlação nível A entre as frações absorvidas *in vivo* e as frações dissolvidas *in vitro* para a formulação referência. A equação obtida foi:

$$Y = 1.136341.X - 16.0782 \text{ (R}^2 = 0.9977\text{)}$$

A equação acima foi empregada para prever as frações absorvidas a partir das frações dissolvidas no meio pH 1.2 para a formulação teste (Figura 10). As concentrações plasmáticas foram previstas empregando-se o modelo de Gohel *et al* (2005). Nesse modelo foram empregados os parâmetros farmacocinéticos estabelecidos para a formulação referência (Tabela 4). Como as coletas no perfil de dissolução ocorreram até 18h, a ASC calculada para o emprego do modelo de CIVIV foi de zero a 18h. Ainda na Tabela 9 encontram-se as concentrações plasmáticas previstas e observadas para a formulação teste até o tempo de coleta de 18h.

Tabela 9. Médias das concentrações plasmáticas (Cp) previstas e observadas para a formulação teste

Tempo(h)	Cp previstas	Cp observadas
0	0	0
1	5,40	7,03
2	14,05	14,7
3	20,70	21,6
4	25,75	24,4
6	31,83	30,8
8	33,61	30,8
12	28,87	27,7
18	17,60	15,2

A Tabela 10 apresenta os valores de Cmax e ASC_{0-18h} previstos e os valores de Cmax e ASC_{0-18h} observados no estudo piloto para a formulação teste.

Tabela 10 - Valores de Cmax e ASC_{0-18h} previstos e observados para formulação teste

	Valor previsto	Valor observado	PE(%)
Cmax	33.617 ng/mL	35.246 ng/mL	-4.62
ASC _{0-18h}	440.54 ng.h/mL	433.4 ng.h/mL	1.64

Observa-se que para o parâmetro Cmax a diferença entre os valores observados e previstos (PE) é de -4.62% e para o parâmetro ASC_{0-18h} é de 1.64%.

As Figuras 20 e 21 apresentam os dados de concentração plasmática *versus* tempo observados e previstos para as formulações teste e referência (dados ordinais e log transformados). As curvas de concentrações plasmáticas observadas e previstas para a formulação referência sobrepostas nas Figuras 20 e 21 demonstram a validação interna do modelo de CIVIV estabelecido.

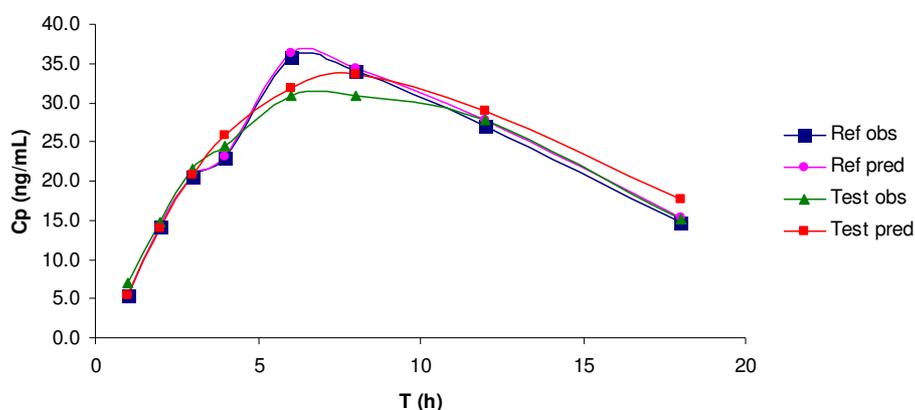


Figura 20: Concentração plasmática *versus* tempo observados e previstos para as formulações teste e referência (dados ordinais)

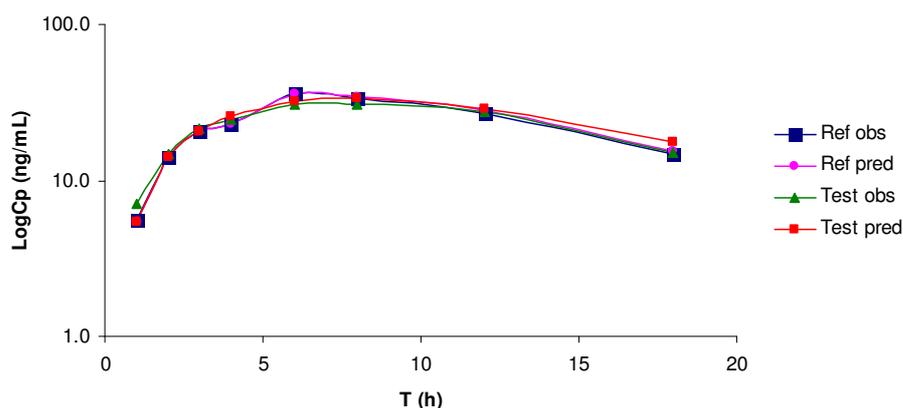


Figura 21: Concentração plasmática *versus* tempo observados e previstos para as formulações teste e referência (dados log transformados)

Considerando-se os dados da Tabela 5 (C_{max} e ASC) foi possível determinar a bioequivalência entre a formulação teste e a referência. A Tabela 11 demonstra a razão entre C_{max} previsto da formulação teste *versus* C_{max} observado da formulação referência e a razão entre ASC prevista da formulação teste *versus* a ASC observada da formulação referência.

Tabela 11 – Razão entre valores de Cmax e ASC_{0-18h} previstos e observados para a formulação referência.

	Valor previsto	Valor observado	PE(%)
T/R - Cmax	0.94	1.00	-6.00
T/R - ASC _{0-18h}	1.01	1.03	-1.94

Observa-se que para as razões T/R a diferença entre os valores observados e previstos é de -6.00% para Cmax e -1.94% para ASC_{0-18h}.

5. DISCUSSÃO

Este trabalho, conduzido com o fumarato de quetiapina, possibilitou a partir dos conceitos biofarmacêuticos a obtenção de resultados comparáveis entre os ensaios de dissolução (*in vitro*) e os dados do estudo de bioequivalência (*vivo*).

Recentemente, os trabalhos de CAMPOS (2008) e ROUINI *et al* (2008) demonstraram que formulações de liberação imediata e que contenham fármacos classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade), apresentam correlação *in vitro in vivo* linear, visto que nesse caso a solubilidade apresenta-se como fator limitante para a absorção. Neste trabalho, a formulação empregada, apresentava liberação modificada, fato esse que permitiu o emprego de um modelo de correlação linear – nível A, já que a formulação limitou a liberação do fármaco e, conseqüentemente, a absorção. Assim, apesar da quetiapina ser classificada como fármaco classe II (SCB), considerando-se a dose de 50mg e a solubilidade de 1 mg/mL (TSRLINC, 2011), sua classificação biofarmacêutica passou a ser I possibilitando a obtenção de tal correlação linear. Considerando-se ainda a dose de 50mg, a solubilidade de 1mg/mL e a equação de número de dose (dose/solubilidade/250mL) (DOO-MAN *et al*, 1993; YASIR *et al*, 2010), pode-se obter um valor inferior a 1, o que demonstrou a alta solubilidade do fármaco na dosagem de 50mg. Os dados de literatura demonstraram que a biodisponibilidade do fármaco é próximo de 100% (RXLIST, 2011)

Os ensaios de perfil de dissolução foram realizados no aparato II por ser esse o aparato mais empregado na avaliação *in vitro* de formulações. Entretanto, como se trata de uma formulação de liberação modificada, poderia ser empregado outro aparato, como o aparato III para a mesma avaliação. Porém, nesse caso seria necessário utilizar no aparato III uma frequência de quedas por minutos (dpm – dips *per minute*) compatíveis com a rotação por minuto (rpm) do aparato II (YU *et al*, 2002).

Objetivando relacionar os tempos de coletas *in vitro* e *in vivo*, empregou-se coletas até 18 horas para a construção do modelo linear nível A, visto que o modelo de CIVIV estabelecido teve como principal objetivo avaliar o perfil de absorção das formulações teste e referência.

O volume de meio utilizado para os ensaios foi de 900 mL e a agitação de 50 rpm, já que essa velocidade é usualmente empregada para ensaios em aparato II (MARQUES, 2002), bem como reflete as características do sistema gastrointestinal de acordo com KATORI *et al* (1995). Além disso, por se tratar de fármaco classe I (SCB), o volume do meio não se apresenta como fator de saturação do meio (condições sink) e, desta forma, poderia ter sido empregado volume inferior a 900mL, caso fosse empregado o aparato III (cubas de 250ml) ou cubas de 500mL no aparato II.

Os ensaios de dissolução foram conduzidos em meios com características biorelevantes (pH 1.2, 4.5 e 6.8), mimetizando o sistema gastrointestinal, *in vitro* e os resultados obtidos demonstraram que as formulações teste e referência apresentaram comportamentos semelhantes *in vitro* ($f_2 > 50$). Por se tratar de formulação de liberação modificada, a qual permanece por longo período no sistema gastrointestinal, o meio pH 6.8 poderia ter apresentado melhor característica biorelevante, entretanto a correlação linear foi obtida no meio pH 1.2. Tal resultado pode ser explicado, considerando-se a característica físico-química da quetiapina, a qual apresenta maior solubilidade em meio ácido (KUCHEKAR, 2009), bem como se deve considerar a rápida absorção *in vivo* do fármaco (alta permeabilidade). A característica biorelevante do meio de dissolução pode ser definida como a capacidade desse meio de mimetizar *in vitro* o comportamento *in vivo* da formulação.

Os perfis foram comparados empregando-se o parâmetro f_2 (SHAH *et al*, 1998), visto que esse método é o mais empregado na literatura internacional para a comparação de curvas de percentagens dissolvidas em função do tempo, bem como é o único recomendado pela legislação vigente (BRASIL, 2010). Além disso, por se tratar de uma formulação de liberação modificada, diferenças inferiores a 10% entre as frações dissolvidas das formulações teste e referência ($f_2 > 50$), se apresenta como um indicativo *in vitro* de bioequivalência *in vivo* (Campos, 2008).

Estudos farmacocinéticos ou de bioequivalência com o objetivo de se estabelecer CIVIV, geralmente, empregam de 12 a 24 voluntários (EMAMI, 2006). O presente estudo de bioequivalência em jejum foi conduzido com 16 voluntários por se tratar de um estudo piloto, cujo objetivo foi exclusivamente a avaliação da formulação.

Assim, um número de voluntários reduzido foi aplicado para esta avaliação da disposição cinética das formulações teste e referência. Este tamanho amostral determinou um baixo poder do teste para o parâmetro C_{max} (64,92%), pois de acordo com coeficiente da variação (CV) obtido (29,98%) seriam necessários 52 voluntários para se obter um poder de 80% (admitindo-se uma diferença de 5% entre as formulações teste e referência), conforme preconizado na legislação vigente. (BRASIL c, 2003).

O cronograma de coletas utilizado para descrever o perfil farmacocinético da quetiapina apresentou 23 pontos de coletas e teve como último ponto, o tempo de 36 horas, com o objetivo de garantir a caracterização completa do período de eliminação do fármaco. Conforme a base de dados MICROMEDEX (2011) e a bula do medicamento Seroquel XRO[®] a quetiapina presente em uma liberação modificada apresenta comportamento similar quando encontrada em uma liberação imediata administrada duas vezes ao dia. O T_{max} para este fármaco é de aproximadamente 2,5 a 10 horas (média 6 horas) e meia-vida de eliminação de 7 horas também foram utilizados para a definição dos tempos de coletas.

O método bioanalítico utilizado foi desenvolvido e validado para a rotina de análise de fármacos em fluídos biológicos e todos os procedimentos realizados para o estabelecimento do método e uma eventual revalidação do mesmo. Os resultados reportados incluem todas as medidas de controle de qualidade realizadas durante as corridas analíticas assim como os resultados obtidos a partir da quantificação das amostras do estudo. A validação pré-estudo foi realizada anteriormente ao início da etapa clínica do estudo.

Conforme disposto na legislação vigente (BRASIL d, 2003) o método analítico foi desenvolvido e previamente validado e abrangeu a determinação da linearidade, precisão e exatidão intra e inter dia, seletividade, limite de quantificação, recuperação e estabilidade em diferentes condições. Neste estudo piloto em jejum o LQ foi igual a 0,400 ng/ml permitindo a completa quantificação das concentrações plasmáticas obtidas dos voluntários.

De acordo com os resultados obtidos no estudo em jejum foi possível demonstrar que as formulações são bioequivalentes tanto para a velocidade quanto para a

extensão de absorção (Tabela 4). Assim, os valores das médias geométricas e dos intervalos de confiança (IC90%) para os parâmetros C_{max} e ASC_{0-t} apresentaram-se dentro dos limites de confiança estabelecidos de 80 – 125% (BRASIL c, 2003), mesmo empregando-se um número reduzido de sujeitos de pesquisa, visto que se trata de fármaco de baixa variabilidade intra-sujeito *in vivo*, conforme descrito nos resultados do estudo (Tabela 5).

O modelo de deconvolução de Wagner-Nelson foi utilizado já que a cinética *in vivo* da quetiapina pode ser descrita por meio de um modelo monocompartimental, isto é, caracterizado por uma única reta descendente caracterizando a etapa de eliminação. A correlação *in vitro in vivo* linear foi possível apenas considerando as frações dissolvidas no meio pH 1.2. A equação demonstrou que o coeficiente angular ($a = 1.13634$) apresenta valor próximo de 1, demonstrando uma relação 1:1 entre os dados *in vitro* e os dados *in vivo*. O coeficiente linear ($b = -16.0782$) apresenta valor negativo demonstrando *lag time* na absorção do fármaco. (JANTRATID *et al*, 2009).

Os meios pH 4.5 e 6.8 não permitiram uma correlação linear visto que determinaram uma velocidade de dissolução mais lenta que a absorção do fármaco. Esse dado corrobora com o comportamento físico-químico da quetiapina, qual apresenta menor solubilidade em pH superior a 1.2. Esse comportamento pode ser verificado nos perfis de dissolução conduzidos com as formulações, visto que há uma linearização progressiva da dissolução nos meios pH 4.5 e 6.8.

O modelo de CIVIV estabelecido apresentou um valor de r² superior a 0.99 demonstrando uma relação linear entre as frações absorvidas *in vivo* e dissolvidas *in vitro* da quetiapina (EMAMI, 2006). A convolução dos dados foi conduzida empregando-se o modelo descrito por Gohel *et al* (2005). Esse modelo com características de aplicabilidade mais simples do que outros modelos descritos em literatura (EMAMI, 2006; FDA, 1997; USP, 2012), mostrou-se adequado para estabelecer a CIVIV para formulações de liberação modificada de quetiapina, já que este fármaco é classe I (SCB). Modelos mais complexos são, geralmente, empregados no caso de formulações de liberação modificada que contenham fármacos classe III (SCB), visto que nesse caso a permeabilidade é limitada *in vivo*, isto é, há locais de alta e baixa permeabilidade do fármaco ao longo do intestino delgado (BALAN *et al*, 2001).

Aplicando-se a CIVIV nível A estabelecida, observou-se que a concentração máxima e a área sob a curva prevista para a formulação teste apresentaram erro de previsão (PE) inferiores a 15% como preconizado no guia de aplicação de CIVIV de acordo com EMAMI, 2006 e FDA, 2007. Adicionalmente, os dados previstos de C_{max} e ASC_{0-t} foram empregados para prever a bioequivalência entre as formulações teste e referência. As diferenças entre os dados previstos e observados foram superiores para C_{max} quando comparado com o obtido para ASC_{0-18h} . Tal diferença de -6.00% para a razão T/R do parâmetro C_{max} pode ser explicado considerando-se que o C_{max} é de um parâmetro pontual e dependente da velocidade de absorção. Por outro lado, para a razão T/R do parâmetro ASC_{0-t} a diferença foi de -1.94%, visto que se trata de um parâmetro obtido da integração dos dados de concentração *versus* tempo.

6. CONCLUSÕES

O modelo de CIVIV estabelecido apresentou-se adequado para prever o comportamento da formulação teste *in vivo* a partir dos resultados dos perfis de dissolução *in vitro* do medicamento referência, visto que os critérios de validação do modelo linear foram contemplados plenamente (EMAMI, 2006; FDA, 1997).

Além disso, as formulações foram avaliadas em meios que mimetizaram o sistema gastrointestinal (pH 1.2, 4.5 e 6.8) e o meio pH 1.2 foi aquele que apresentou melhores características biorelevantes para a formulação de liberação modificada de quetiapina (Seroquel XRO[®]).

Foi possível estabelecer uma correlação *in vitro* – *in vivo* nível A, pois os dados obtidos a partir do perfil de dissolução do medicamento referência foram correlacionáveis com os dados resultantes do estudo de bioequivalência, visto que se obteve um coeficiente de correlação com valor superior a 0,99 para o modelo linear estabelecido.

Com a aplicação do modelo de correlação linear nível A obtido foi possível prever as concentrações plasmáticas (*in vivo*) da formulação teste a partir dos dados de porcentagem dissolvida no meio pH 1.2 (*in vitro*).

Com isso pode-se inferir que no âmbito industrial a definição da formulação de liberação modificada que será submetida ao ensaio de bioequivalência deveria ser realizada empregando-se a CIVIV nível A, desde que fosse conduzido um estudo *in vivo* de caracterização farmacocinética da formulação referência, previamente ao início do desenvolvimento galênico. O emprego de um modelo de CIVIV permitiria que recursos financeiros fossem reduzidos no desenvolvimento de novas formulações, bem como considerando questões éticas, em que sujeitos de pesquisa não fossem expostos a ensaios com formulações cujos dados *in vitro* não indicassem a probabilidade de bioequivalência.

Entretanto, destacam-se que outros parâmetros biofarmacêuticos devem ser considerados na escolha da formulação de liberação modificada (teste) a ser avaliada *in vivo*, como por exemplo, o emprego de excipientes com funções semelhantes as

empregadas pela formulação referência, a caracterização do tamanho de partícula do fármaco que será empregado na formulação teste, a existência de polimorfismo, bem como o processo de fabricação que será empregado para a obtenção da formulação teste em escala industrial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDON, H. M. Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence. Easton: Mack Publishing Company, 1989. 554p
2. AMIDON, G.L.; LENNERNÅS, 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. Pharm. Res., New York, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
3. ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN, L.V. - Farmacotécnica - Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos. 6 ed.. São Paulo: Editorial Premier, 2000, 568p.
4. ANVISA. Tratamento das Principais Infecções Comunitárias. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo3/farmacocinetica.htm. Acesso em: 10 set 2011
5. ARANCÍBIA, A. – Calidad biofarmacéutica. Estudios *in vitro* y *in vivo*. Acta Farm. Bonaerense, Buenos Aires, v. 10, n.2, p. 123-133, 1991.
6. ARANCÍBIA, A. & PEZOA, R. — Biodisponibilidade de Medicamentos — Simpósio Internacional I. Santiago. Editorial Universitária. Universidad de Chile. 1992. 309p.
7. BALAN, G.; TIMMINS, P.; GREENE, D.S.; MARATHE, P.H. *In vitro-in vivo* correlation (IVIVC) models for metformin after administration of modified-release (MR) oral dosage forms to healthy human volunteers. J Pharm Sci, v 8, p. 1176-85, 2001
8. BALDWIN, C.M.; SCOTT, L. J. Quetiapine Extended Release: In Schizophrenia. CNS Drug. 1 March 2009 - Volume 23 - Issue 3 - pp 261-269
9. BANAKAR, U.K. - Pharmaceutical Dissolution Testing. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. 437p.
10. BARRETO, M.; BICA, A.; FARINHA, A. Sistemas de classificação biofarmacêutica. Bol. LEF., Lisboa, v.32, p.2-10, 2002.
11. BIRKETT, D.J. Genercis - equal or not? Aust Prescr 26:85-87, 2003

12. BODDY, A. W. *et al* — An approach for widening the bioequivalence acceptance limits in the case on highly variable drugs. *Pharm. Res.*, New York, v.12, n.12, p. 1865-68, 1995.
13. BRASIL. Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196, de 10 de outubro de 1996. Diretrizes e Normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br>. Acesso em: 10 set 2011
14. BRASIL a. Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência - Volume I/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência-Geral de Inspeção e Controle de Medicamentos e Produtos. Brasília: ANVISA, 2002.
15. BRASIL b. Resolução 482, de 19 de março de 2002. Determina a publicação do Guia para Estudos de Correlação *In vitro In vivo*. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 10 set 2011
16. BRASIL a. Resolução 894, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para protocolo e relatório técnico de estudo de bioequivalência anexo. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 10 set 2011
17. BRASIL b. Resolução 895, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para elaboração do relatório técnico de estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 10 set 2011
18. BRASIL c. Resolução 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência anexo. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 11 set 2011
19. BRASIL d. Resolução 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 11 set 2011
20. BRASIL. Resolução 1170, de 19 de abril de 2006. Determina a publicação do Guia para provas de biodisponibilidade relativa/ bioequivalencia de medicamentos. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 11 set 2011

21. BRASIL. RDC nº 16, de 2 de março de 2007. Determina a publicação do “Regulamento Técnico para medicamentos genéricos”. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 10 set 2011
22. BRASIL. Resolução 31, de 11 de agosto de 2010. Determina a publicação do “Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução”. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 11 set 2011
23. BRASIL. Resolução 37, de 3 de agosto de 2011. Determina a publicação do “Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência”. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 11 dez 2011
24. BRESSOLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. — Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.*, Amsterdam, v.686, n.1, p. 3-10, 1996.
25. CAMPOS, D.R. Avaliação *in vitro* – *in vivo* de duas formulações de pantoprazol: estudos farmacocinéticos e perfis de dissolução em meios biorelevantes. 2008.
26. CAMPOS, D. R.; STORPIRTIS S.; GAI, M. N.; GONÇALVES, J. E. Aplicação da Farmacocinética aos Estudos de Correlação de Dados *in vitro in vivo* - Farmacocinética Básica e Aplicada. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. 2011.p. 155-161.
27. CÁRCAMO, C.E. - Control de calidad biofarmaceutico de medicamentos. Santiago: Balgraf, 1992. 302 p.
28. CAUSON, R. — Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: view point and discussion. *J. chromatogr., B: Biom. Appl.*, Amsterdam, v. 689, n.1, p. 175-180, 1997.
29. CHOW, S. C.; LIU, J. P. — Power and sample size determination. In: Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. Chow, S. C.; LIU, J. P. Marcel Dekker: NewYork, p. 126-61, 1992.
30. DIGHE, S. V. — A review of the safety of generic drugs. *Transplant. Proc.*, New York, v.31, suppl. 3A, p.235-245, 1999.

31. DIGHE, S. V. A review of the safety of generic drugs. *Transplant. Proc.*, New York, v.31, suppl. 3A, p.235-245, 1999.
32. DOO-MAN, O.; CURL, R.L.; AMIDON, G.L. Estimating the fraction dose absorbed from suspensions of poorly soluble compounds in humans: a mathematical model. *Pharmaceutical Research*, vol 10, p 264-270, 1993.
33. DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm. Res.*, New York, v.15, n.1, p.11- 22, 1998.
34. DRUGBANK. Disponível em: www.drugbank.com. Acesso em: 10 set 2011
35. EMAMI J. *In vitro - in vivo* correlation: from theory to applications. *J Pharm Pharm Sci.* v.9, n.2, p.169-89, 2006
36. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2nd ed. v.1, New York; Basel: Marcel Dekker, Inc., p.717-728, 2002.
37. ESTEVEZ-CARRIZO, F.E. *et al.* Single-dose relative bioavailability of a new quetiapine fumarate extended-release formulation: a postprandial, randomized, open-label, two-period crossover study in healthy Uruguayan volunteers. *Clinical Therapeutics*, v.33, n.6, 2011, p.738-745
38. FDA, Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation Research (CDER): FDA, 1995.
39. FDA. Guidance for Industry. Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of *In vitro/In vivo* Correlations. Rockville: FDA. 1997. 24p
40. FDA. Guidance for Industry. Waiver of *In vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Rockville: FDA, 2000. 13p.
41. FORD, J.L.; RAJABI-SIAHBOOMI, A.R. Dissolution and dissolution testing. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C.
42. GAI, M. N.; CAMPOS, D. R.; STORPIRTIS S.; GONÇALVES, J. E. Administração Extravascular de Medicamentos em Dose Única. *Farmacocinética Básica - Aplicada*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. 2011. p. 39-49.

43. GOHEL, *et al.* <http://www.pharmainfo.net/reviews/simplified-mathematical-approach-back-calculation-wagner-nelson-method,2005>
44. JANTRATID, E.; MAIO, V.; RONDA, E.; MATTAVELLI, V.; VERTZONI, M.; DRESSMAN, J. B.. Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of *in vivo* performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 37, p 434–441, 2009
45. KATORI N, AOYAGI N, TERAO T. Estimation of agitation intensity in the GI tract in humans and dogs based on *in vitro/in vivo* correlation. *Pharm Res.* v.12, p. 237-43, 2005
46. KUCHEKAR, B.S.; BOLDHANE, S.P. Preformulation and Formulation Studies of Novel pH Independent Controlled Release Drug Delivery System of Quetiapine Fumarate. *Journal of Pharmacy Research*. Vol.2.Issue 1. January, 2009
47. LUDDEN, T.M. – Nonlinear Pharmacokinetics: Clinical Implications. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 20, n. 6, p.29-446, 1991.
48. MARQUES, M.R.C. & BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. *Rev. Analytica*, n.1, p.48-51, 2002.
49. MARQUES, M.R.C. Information and Standards Development Department, US Pharmacopoeia – Comunicação pessoal, 2004.
50. MARTÍN, I.D.; VILADROSA J.L. - Liberación: factores fisicoquímicos. In: BERROZPE, J.D.; LANA O, J.M.; DELFINA, J.M.P. *Biofarmacia y Farmacocinética*. Madrid: Editorial Sintesis, 2000. vol II, cap. 13, p. 276-292
51. MELO, R. S. Validação de correlação *in vitro in vivo* para comprimidos de liberação modificada de diclofenaco de sódio. 159 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – Departamento de Farmácia, 2012.
52. Medicines Evaluation Board. Public Assessment report of medicines evaluation board in the Netherlands, 2008.
53. MICROMEDEX. DrugDex. Disponível em: <http://www.portaldapesquisa.com.br/databases>. Acesso em: 10 set 2011

54. MIDHA, K.K., SHAH, V.P., SINGH, G.J., PATNAIK, R. Conference report: Bio-International 2005. J Pharm Sci. v.96, n.4, p.747-54, 2007
55. NEMEROFF, C. B.; KINKEAD, B.; GOLDSTEIN, J. Quetiapine: preclinical studies, pharmacokinetics, drug interaction and dosing. J. Clin. Psychiatry, v. 63, n 5-11, 2002.
56. NOEL, F. *et al* – Estudos de bioequivalência para fármacos que apresentam estereoisomerismo. Interfarma, v.16, n. 11-12, 2004.
57. NOEL, F. *et al* – Estudos de bioequivalência para formas de liberação modificada. Interfarma, v.16, n.7-8, 2004.
58. PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N.S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. Int. J. Pharm., Amsterdam, v.201, p.131-150, 2000.
59. PINHO, J.J.R.G.; STORPIRTIS, S. Estudo comparativo *in vitro* das propriedades biofarmacotécnicas de comprimidos de cloridrato de metformina comercializados no Brasil. Rev. Bras. Cien. Farm, 35: 95-105, 2001.
60. PORTA, V.; YAMAMICHI, E.; STORPIRTIS, S. – Avaliação biofarmacêutica *in vitro* de cápsulas de fluconazol. Rev. Bras. Cienc. Farm., São Paulo, v.38, n.3, p.333-343, 2002.
61. ROUINI M-R, ARDAKANI YH, MIRFAZAEIAN A, HAKEMI L, BALUCHESTANI M. Investigation on different levels of In Vitro – In Vivo correlation: Gemfibrozil immediate release capsule. Biopharm Drug Dispos. 2008
62. RXLIST. Disponível em: <http://www.rxlist.com/seroquel-xr-drug.htm>. Acesso em: 10 set 2011
63. SANTOS, F.M.; SILVEIRA, G.P.E.; NOEL, F. – Estudos de bioequivalência para fármacos que apresentam farmacocinética não-linear. Interfarma, v. 16, n. 1-2, 2004.
64. SCHLIECKER, G.; SCHMIDT, C.; FUCHS, S.; EHINGER, A.; SANDOW, J.; KISSEL, T. *In vitro* and *in vivo* correlation of buserelin release from biodegradable implants using statistical moment analysis. J. Control Release, 94 (1): 25-37, 2004.
65. SEROQUEL XRO[®]. Bula do medicamento, 2011

66. SHAH, V.P., TSONG, Y., SATHE, P., LIU, J.P. *In vitro* dissolution profile comparison - statistics and analysis of the similarity factor, *f2*. *Pharm Res.* v.15, n.6, p.889-96, 1998.
67. SHAH, V. P. *et al* —Evaluation of orally administered highly variable drugs and drug formulations. *Pharm. Res.*, New York, v.13, p.1590-1595, 1996
68. SHARGEL, L. & YU, A.B.C. — Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 4 ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999. 768p.
69. SHARGEL, L.; YU A.B.C. Biopharmaceutics. In SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. Encyclopedia of pharmaceutical technology. 2nd ed. vol. 1. New York; Basel: Marcel Dekker, Inc., 2002. p.156-176.
70. SKELLY, J.P.; AMIDON, G.L.; BARR, W.H.; BENET, L.Z.; CARTER, J.E.; ROBINSON, J.R.; *et al*. Report of the workshop on *in vitro* and *in vivo* testing and correlation for oral controlled/modifies release dosage forms. *Int. J. Pharm.*, 63 (2): 83-93, 1990
71. SKOUG, J.W. *et al*— Strategy for the development and validation of dissolution tests for solid oral dosage forms. *Pharm. Tech.*, Duluth, v.20, n.5, p.58-72, 1996.
72. STORPIRTIS S. Biofarmacotécnica. Fundamentos de Biodisponibilidade, Bioequivalência, Dissolução e Intercambialidade de Medicamentos Genéricos. São Paulo: [n.s], 1999. 78p.
73. STORPIRTIS S.; RODRIGUES, D. *In vitro* evaluation of dissolution properties and degradation products of omeprazole in enteric coated pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24: 123-129, 1998
74. STORPIRTIS, S. *et al* – A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e referência: bases técnicas e científicas, 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/genericos_referencia.pdf>. Acessado em: 11 set 2011
75. STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas para fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. *Rev. Bras. Cien. Farm*, 35: 1-16, 1999.

76. STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica. São Paulo: [n.s], 2009. 321p.
77. The Netherlands Medicines Evaluation Board Public Assessment Quetiapine Fumarate.
78. TOTHFALUSI, T. *et al* — Evaluation of the bioequivalence on highly-variable drugs and drug products. Pharm. Res., New York, v.18, n.6, p. 728-33, 2001.
79. TSRLINC. Disponível em: www.tsrlinc.com. Acesso em: 10 set 2011
80. USP – United States Pharmacopeia. *In vitro* and *in vivo* evaluation of dosage forms 35.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012.
81. VIPPAGUNTA, S.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. - Crystalline solids. Advanced Drug Delivery Reviews, v.48, p. 3-26, 2000.
82. WELAGE, L.S. *et al* – Understanding the scientific issues embedded in the generic drug approval process. J.AM. Pharm. Assoc, v. 41, p. 856-867, 2001.
83. WHO Technical Report Series, n° 937, 2006 - Annex 8 - Proposal to waive *in vivo* bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral forms. Disponível em: www.who.int. Acesso em: 10 set 2011
84. WHO. Proposal to waive *in vivo* bioequivalence requirements for the WHO Model List of Essential Medicines immediate release, solid oral dosage forms. Suíça: WHO, 2005. 45p.
85. YASIR, M.; ASIF, M.; KUMAR, A.; AGGARVAL, A. Biopharmaceutical Classification System: An Account. International Journal of Pharm Tech Research. v. 2, p. 1681-1690, 2010
86. YU, L. X.; WANG, J. T.; HUSSAIN, A.S. Evaluation of USP apparatus 3 for dissolution testing of immediate-release products. AAPS PharmSci. v.4, n.1, p.E1, 2002
87. YUGUE, R. T.; FERRAZ, H. G.; YUGUE, S. C.; FERNANDES, E.; STORPIRTIS, S. – Perfil de dissolução do cloridrato de diltiazem a partir de formas farmacêuticas sólidas de ação prolongada comercializadas no Brasil. Rev. Farm. Bioquim. Universidade de São Paulo, São Paulo, v.32, n.2, p.77-80, 1996.

8. ANEXO I

Valores obtidos no teste de dissolução:

pH 1.2

Fumarato de Quetiapina XR 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	20,2	19,5	19,5	19,3	20,2	19,5	19,7	1,9
2	33,1	33,4	32,4	31,8	33,2	33,5	32,9	1,9
3	44,6	44,4	42,8	42,5	44,4	42,6	43,5	2,3
4	53,6	53,6	52,7	52,6	51,4	52,5	52,7	1,6
6	69,7	69,4	68,5	66,7	69,2	68,5	68,7	1,6
8	83,0	82,7	82,4	81,1	82,6	82,1	82,3	0,8
12	101,1	102,2	101,1	102,0	100,9	101,9	101,5	0,5
18	109,5	107,5	109,4	108,1	107,9	108,5	108,5	0,8

Seroquel XRO 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	23,3	23,1	23,0	22,3	23,3	23,4	23,1	1,7
2	38,9	38,0	38,0	37,0	39,0	38,4	38,2	1,9
3	53,0	50,8	50,7	49,2	52,7	50,8	51,2	2,7
4	64,8	61,5	62,2	60,5	64,5	61,3	62,5	2,9
6	81,0	79,4	81,2	79,6	81,1	79,4	80,3	1,1
8	92,0	92,9	92,6	91,6	92,0	92,9	92,4	0,6
12	101,5	104,8	101,5	101,2	101,4	105,0	102,6	1,8
18	103,2	107,3	103,2	102,9	102,9	107,5	104,5	2,2

pH 4.5

Fumarato de Quetiapina XR 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	5,7	6,9	6,1	6,4	6,6	7,1	6,5	7,7
2	12,1	13,8	12,2	12,9	12,5	13,5	12,8	5,5
3	18,9	20,7	18,5	19,0	19,1	20,4	19,4	4,6
4	27,3	27,7	24,8	25,2	26,5	27,6	26,5	4,7
6	39,4	41,5	37,5	37,9	39,5	41,4	39,5	4,2
8	53,1	57,5	50,1	51,2	53,3	50,0	52,5	5,3
12	79,4	84,7	76,3	81,8	82,0	77,1	80,2	4,0
18	96,9	104,4	98,8	101,7	104,3	98,6	100,8	3,1

Seroquel XRO 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	8,7	8,7	9,3	8,8	9,1	8,4	8,8	3,8
2	16,7	15,9	17,6	17,2	17,0	15,5	16,7	4,7
3	24,6	22,5	25,1	24,4	24,3	22,4	23,9	4,8
4	32,3	29,7	33,3	32,1	31,9	31,3	31,8	3,8
6	48,6	43,6	50,8	47,4	48,4	43,4	47,0	6,3
8	64,2	57,3	66,9	62,8	64,3	57,1	62,1	6,5
12	92,9	82,4	91,0	89,0	92,9	85,7	89,0	4,7
18	102,8	103,3	101,7	102,4	103,4	103,1	102,8	0,6

pH 6.8

Fumarato de Quetiapina XR 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	3,3	4,1	3,8	3,8	3,5	4,3	3,8	9,5
2	7,0	8,8	7,9	8,1	7,1	8,8	7,9	10,1
3	9,8	13,3	11,9	12,2	10,0	13,4	11,8	13,5
4	13,0	18,7	16,5	17,0	13,4	18,9	16,3	15,8
6	20,1	30,7	26,3	27,9	30,9	26,4	27,0	14,7
8	28,2	43,0	37,1	40,0	28,6	43,7	36,8	18,7
12	45,5	69,2	60,4	65,5	46,3	70,0	59,5	18,6
18	69,1	98,2	89,5	97,8	70,0	99,2	87,3	16,2

Seroquel XRO 50mg

Tempo (h)	1	2	3	4	5	6	Média	%DPR
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	5,2	5,1	5,3	5,5	5,7	5,3	5,4	4,0
2	9,0	8,8	8,7	9,2	9,1	8,7	8,9	2,4
3	12,5	12,4	12,4	13,4	12,6	12,4	12,6	3,0
4	16,1	16,5	16,3	17,8	16,4	16,7	16,6	3,7
6	24,6	24,2	22,5	28,1	25,0	24,3	24,8	7,5
8	35,5	32,0	29,8	41,6	36,1	32,2	34,6	12,1
12	62,7	46,8	44,7	69,0	63,1	46,7	55,5	19,1
18	91,5	65,0	63,6	93,8	92,4	65,3	78,6	19,5

9. ANEXO II



CEP, 27/09/11
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 944/2011 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0828.0.146.000-11

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "ESTUDO PILOTO PARA AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE COMPARATIVA DE DUAS FORMULAÇÕES CONTENDO FUMARATO DE QUETIAPINA e COMPRIMIDO REVESTIDO DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DE 50 MG EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DO SEXO MASCULINO E FEMININO EM CONDIÇÕES DE JEJUM (CAEP 02.019.11)".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Pedro Serafim Junior

INSTITUIÇÃO: Centro Avançado de Pesquisa Clínica

APRESENTAÇÃO AO CEP: 09/09/2011

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 27/09/12 (O formulário encontra-se no site acima).

II – OBJETIVOS.

Avaliar comparativamente a biodisponibilidade de dois produtos contendo fumarato de quetiapina a fim de determinar se são bioequivalentes.

III – SUMÁRIO.

O fumarato de quetiapina é um agente psicotrópico com eficácia e tolerabilidade estabelecida para o tratamento de esquizofrenia, assim como para o tratamento de episódios maníacos agudos associados e para o distúrbio bipolar I. O presente estudo de bioequivalência é do tipo monocêntrico, aberto, aleatorizado, cruzado com dois tratamentos, dois períodos, duas seqüências, com administração oral em dose única, em jejum, nos quais os voluntários recebem, em cada período (com intervalo de sete dias), o produto teste ou o produto de referência, na dose de 50 mg. Serão avaliados 16 voluntários sadios, sendo oito mulheres e oito homens com idade entre 18 e 50 anos, inclusive, e com o índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 30 Kg/m² ou saudável a critério do investigador clínico. As formulações serão administradas em dose única por via oral seguidas de coletas de sangue compreendendo, totalizando aproximadamente 445 mL de sangue de cada indivíduo durante os dois períodos do estudo, incluindo o volume coletado para os exames pré e pós-estudo. As concentrações em plasma de quetiapina serão dosadas por método analítico específico e validado baseado em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS) ou outro detector, a critério do laboratório analítico.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES.

Protocolo adequado e acompanhado da documentação exigida. Os aspectos éticos como voluntariedade, beneficência, não-maleficência, descontinuidade, informação, confidencialidade,



riscos, desconfortos, garantia de publicação e outros foram devidamente contemplados. Os voluntários serão ressarcidos no valor de R\$ 910,00 (novecentos e dez reais) relativo às despesas e tempo despendidos durante o estudo. Além disso, durante um período de três meses a partir da data em que será realizada a primeira internação deste estudo clínico, os voluntários estarão sob cobertura de um seguro de vida em grupo para casos de morte (qualquer causa), invalidez por acidentes (choque anafilático e demais seqüelas) pela seguradora ZZ Seguros. A patrocinadora será a Eurofarma Laboratórios Ltda.

V - PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

VII – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 27 de setembro de 2011.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP