

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Desenvolvimento e Validação de Método de Dissolução
Aplicado a Suspensões Oraís de Nimesulida**

Laís Bastos da Fonseca

Rio de Janeiro
2007

F676d Fonseca, Laís Bastos da.

Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida/ Laís Bastos da Fonseca. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Farmácia, 151 p. il. 31 cm.

Orientador: Nadia Maria Volpato

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia / Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 130-141.

1. Dissolução de suspensões. 2. Nimesulida. 3. Tamanho de Partícula. I. Volpato, Nadia Maria. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida.

CDD615.7

LAÍS BASTOS DA FONSECA

Desenvolvimento e Validação de Método de Dissolução
Aplicado a Suspensões Oraís de Nimesulida

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Nadia Maria Volpato
Co-orientadora: Valeria Pereira de Sousa

Rio de Janeiro
2007

LAÍS BASTOS DA FONSECA

Desenvolvimento e Validação de Método de Dissolução

Aplicado a Suspensões Orais de Nimesulida

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Nádia Maria Volpato
Faculdade de Farmácia – UFRGS

Co-orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Valeria Pereira de Sousa
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Carlos Saraiva Gonçalves
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Dr. Márcio Labastie
Departamento de Medicamentos – INCQS/FIOCRUZ

Prof.^a. Dr.^a. Gisela Dellamora Ortiz
Faculdade de Farmácia – UFRJ

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora e amiga, Dr^a. Nadia Maria Volpato, pela grande dedicação, por todas as oportunidades e pelo grande exemplo de profissionalismo e companheirismo que eu levarei de exemplo por toda a minha vida.

Aos meus pais, meus irmãos e minha avó, pelo amor, carinho e incentivo em todas as horas, além de serem grandes exemplos de caráter e sabedoria.

Ao meu namorado Guilherme, por ser tão companheiro, amigo e por sua infinita paciência.

À professora Dr^a. Valeria Pereira de Sousa, minha co-orientadora, pelas orientações e ensinamentos de grande valia.

Ao Dr. Márcio Labastie (FIOCRUZ – INCQS) pela ajuda e valiosas sugestões tão gentilmente cedidas.

À amiga Eliane, um exemplo de pessoa e profissionalismo, por estar sempre disponível a me auxiliar e por todos os momentos de alegria.

Às amigas Tailane e Bianca, pela grande amizade e apoio constantes em todas as horas.

A todos os amigos do LabCQ: Ana, Vivian, Daniela Decache, Tatiana, Zaida, Maria, Yara, Raquel, Fernanda, Viviane, Vinícius, Professor Maurício, Professora Sheila e principalmente à Carol e à Edilene pelo apoio de sempre.

À Bianca Waruar, pelo auxílio na medição do potencial zeta, além do carinho sempre presente.

À Gláucia pela colaboração de sempre, durante a análise da viscosidade e pelos momentos de descontração e amizade.

À Bárbara, por ser minha “irmãzinha” em todas as ocasiões compartilhadas.

Aos grandes amigos de Mestrado que não eram do LabCQ: Fábio e Ana Karla pelos bons momentos compartilhados; ao Daniel (NPPN) e Arthur (LASBIO) pelos momentos bem humorados e à Mônica (LABECOM) pelo companheirismo.

À CAPES, pela Bolsa de Mestrado.

Ao Farmacêutico Marlos Mello, do Laboratório ROCHE por permitir a utilização do Analisador do tamanho de partículas por difração a laser, e a técnica Rosimeire pela ajuda no manuseio do equipamento.

Aos Laboratórios Farmacêuticos Schering-Plough, Aché e Cifarma, pela doação dos medicamentos, e ao primeiro, pela doação da matéria-prima e do padrão de NMS, sem os quais não seria possível a realização desse trabalho.

À Dr^a. Gisela Dellamora (Coordenadora da Pós-Graduação) pelo auxílio, carinho e dedicação sempre dispensados.

Aos Professores do programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRJ pelos ensinamentos que me permitiram elaborar este trabalho de pesquisa.

Aos meus pais, Renato e Vera que me mostraram
que tudo é possível, basta acreditar e se esforçar,
pois sem trabalho não se consegue nada.

Grandes exemplos de amor, trabalho e honestidade.

“O que está no querer do homem só depende do homem.”

“O difícil não é impossível e até o impossível só é muito difícil.”

“O universo conspira sempre a nosso favor.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

O estudo de dissolução aplicado a suspensões merece atenção, devido à necessidade de se averiguar a velocidade de dissolução de fármacos, a partir desta forma farmacêutica. Para fármacos de classe II, ou seja, de baixa solubilidade e alta permeabilidade, como a nimesulida (NMS), esse estudo se torna indispensável, pois problemas tecnológicos e formulativos podem resultar num comprometimento da biodisponibilidade. Até o momento, para suspensões, este ensaio somente se encontra presente em menos de 6 monografias nas principais farmacopéias internacionais, mostrando uma carência do estudo para esta forma farmacêutica. O teste de dissolução é um ensaio relativamente simples de ser realizado em laboratório, entretanto é importante que as condições empregadas sejam adequadas às formulações, de modo a apresentar relevância para o controle de qualidade dos produtos e, quiçá, predizer o desempenho *in vivo* destes. No presente trabalho, foram testadas diferentes condições para estudar a dissolução de quatro suspensões distintas de nimesulida (RA, TS, TB e TC) existentes no mercado nacional. Esse medicamento não possui monografia constante em nenhum código oficial até o momento. As suspensões foram caracterizadas quanto à viscosidade, ao tamanho de partícula, ao potencial zeta, pH e à densidade, além da determinação do teor total de nimesulida e teor do fármaco dissolvido nas formulações. Na seleção dos meios de dissolução a serem empregados no estudo, foram escolhidos suco entérico simulado (SES) pH 6,8 contendo polissorbato 80 ou laurilsulfato de sódio, tampão fosfato pH 7,4 com polissorbato 80 e solução aquosa de laurilsulfato de sódio. A concentração de tensoativo empregada variou na faixa de 0,5 a 1,5% (p/V). Para os perfis de dissolução, foi empregado aparelho de dissolução de cubas com pás rotatórias, onde foram testadas as velocidades de 25 e 50 rpm. A adição das amostras às cubas foi feita com auxílio de seringa, por diferença de peso, sendo a dose adicionada calculada frente à densidade de cada produto. A espectrofotometria UV-Vis pôde ser empregada na análise quantitativa na dissolução, em substituição a CLAE, uma vez que a metodologia foi prévia e adequadamente validada, pois a grande quantidade de excipientes constituía uma barreira a ser superada. As formulações RA e TS apresentaram distribuição granulométrica semelhante (diâmetro médio, d_m , de 3,4 μm), enquanto TC foi a que apresentou maior tamanho de partícula ($d_m = 27,6 \mu\text{m}$) e TB um tamanho intermediário ($d_m = 7,2 \mu\text{m}$). TB e TC apresentaram-se como suspensões de menor viscosidade, sendo também as de menor densidade. A quantidade de NMS efetivamente dissolvida presente

em todas as suspensões foi ínfima ($< 5 \mu\text{g/mL}$ ou seja inferior a 0,05% do declarado). Foi observada uma forte correlação entre o tamanho de partícula e o perfil de dissolução dos produtos em algumas condições de ensaio. A velocidade de agitação de 50 rpm indica ser mais adequada, pois não proporcionou estagnação do processo como ocorreu com 25 rpm. O meio mais promissor para avaliar a dissolução de suspensões de NMS foi SES pH 6,8 com 1,0% (p/V) de polissorbato 80, uma vez que se mostrou discriminativo para os diferentes produtos estudados, apresentou valor de pH na faixa recomendada e baixa concentração de tensoativo não-iônico.

ABSTRACT

The study of dissolution suspensions dissolution deserves attention due of the need to estimate drug dissolution rate, in pharmaceuticals used in this dosage form. The drugs Class II, such as nimesulide (NMS), which presents low solubility and high permeability, this study is very important because technological and formulation problems may cause a compromise on their bioavailability. Up to this moment, very few works on suspension dissolution test were reported, evidencing a lack of information on that pharmaceutical dosage form. The dissolution tests are simple and can be performed in a laboratory, since the conditions used are adequate for the formulations, in a way that the quality of the products can be controlled and *in vivo* performance could be probably predicted. In the present work, tests with four types of nimesulide commercially available (RA, TS, TB and TC) were performed in order to study their dissolution at different conditions. Until now, that drug has not been given a official monograph in any official code. So, the suspensions were characterized relatively to viscosity, particle size, zeta potential, pH and specific gravity, besides NMS assay and total amount of nimesulide present in the suspensions. The dissolution test studies were performed using the following media: simulated intestinal fluid (pH=6.8), containing polysorbate 80 or sodium lauryl sulfate, buffer phosphate (pH=7.4) with polysorbate 80 and aqueous solution of sodium lauryl sulfate. The surfactants concentration ranged between 0.5 and 1.5% (w/V). For the dissolution profile, the rotating paddle method used, in which the agitation rate tested was either 25 or 50 rpm. The samples were added to the dissolution vessel using a syringe and the amount introduced was calculated by weight difference and to ensure accuracy of the experiment, the added dose was also compared to the density value of each product. The UV-Vis spectrophotometer could be used in the quantitative analysis, in substitution to HPLC for the methodology had been previously and adequately validated, because the amount of excipients had been the greatest challenge to be overcome. The products RA and TS have presented similar size distribution (average diameter $d_m=3.4\mu\text{m}$), while TC had shown the greatest particle size (average diameter $d_m= 27.6\mu\text{m}$) and TB had an intermediate size (average diameter $d_m= 7.2\mu\text{m}$). In addition, TB and TC had presented the lowest viscosity and less dense suspension. The present amount of NMS effectively dissolved in all the suspensions was insignificant (less than 5 mg/mL or either inferior to 0.05% of the declared one). A strong correlation between particle size and the dissolution profile of the products has been observed. The agitation speed of 50 rpm was the most

adequate, because it had not caused the process stagnation, as occurring with 25 rpm. The most promising dissolution media for NMS suspensions was simulated intestinal fluid pH=6.8, containing polysorbate 80 1.0% (w/V), since it was distinguishable for the different formulations investigated, its pH value was in the recommended range and had also presented low concentration of non-ionic surfactant.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Modelo da Camada Dupla	31
Figura 2 – Aplicações do estudo de dissolução <i>in vitro</i> (JAMZAD & FASSIHI 2006)	36
Figura 3 – Modelo de difusão em camada	39
Figura 4 – Estruturas químicas dos tensoativos polissorbato 80 (A), laurilsulfato de sódio (B) e brometo de cetilmetilamônio (C)	46
Figura 5 – Estrutura química da nimesulida	50
Figura 6 – Ilustração do procedimento de adição das suspensões e coleta das amostras do meio no ensaio de dissolução. (A) seringas numeradas com a suspensão a ser adicionada; (B) adição da suspensão à cuba; cânula, filtros e seringas para coleta manual do meio de dissolução; (D) coleta do meio e (E) filtração imediata do meio através de membrana 0,45 µm	74
Figura 7 – Esquema do preparo das amostras para determinação da exatidão. Onde: bv = balão volumétrico; SP = solução padrão; 3x = triplicata de preparo	78
Figura 8 – Curva de titulação potenciométrica do doseamento de NMS matéria prima com NaOH 0,1 N	84
Figura 9 – Cromatograma obtido para NMS empregando as condições da F. Bras. IV (Método para comprimidos): fase móvel H ₂ O:CH ₃ CN (50:50); fluxo 1,2 mL/minuto, coluna C ₁₈ (25 cm) e concentração da amostra de 200 µg/mL	85
Figura 10– Cromatograma obtido para NMS empregando as seguintes condições: fase móvel H ₂ O:CH ₃ CN:HOAc (45:55:1); fluxo 1,2 mL/minuto, coluna C ₁₈ (25 cm) e concentração da amostra de 200 µg/mL	85
Figura 11– Cromatograma obtido com a fase móvel H ₂ O:CH ₃ CN:HOAc (45:55:1) e fluxo 1,5 mL/minuto	86
Figura 12– Cromatograma tridimensional obtido através do detector UV/PDA para uma amostra de NMS suspensão (TS) na concentração de 0,2 mg/mL	86
Figura 13– Pureza Cromatográfica obtida por similaridade	87

Figura 14– Pureza Cromatográfica obtida pela razão cromatográfica	88
Figura 15– Curvas Padrão médias do 1° e 2° dia de testes	89
Figura 16– Distribuição granulométrica normalizada pela quantidade de partículas em função do diâmetro em μm das amostras RA, TS, TB, TC e da matéria-prima	94
Figura 17– Reogramas das medidas de viscosidade das suspensões em função da velocidade empregada no cilindro (spindle)	96
Figura 18– Aparência das suspensões após 3 meses de repouso.	97
Figura 19– Mecanismo de formação do produto colorido (amarelo) da nimesulida em meio alcalino (YAKABE, 1998)	100
Figura 20– Espectro de absorção da NMS (20 $\mu\text{g/mL}$) em meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%; (A) sem NaOH (pH 6,8) e (B) com NaOH (pH 12,0)	101
Figura 21– Curvas Padrão dos diferentes meios, (A) meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%; (B) meio solução aquosa de LSS a 1,0% e (C) meio tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%	104
Figura 22– Suspensão de NMS no fundo da cuba	110
Figura 23– Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0% . (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp)	112
Figura 24– Perfis de dissolução das suspensões em meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5% . (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp)	113
Figura 25– Perfis de dissolução das suspensões em meio solução aquosa de LSS a 1,0% (pH 7,38) . (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp)	114
Figura 26– Perfis de dissolução das suspensões em meio tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0% . (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp)	115
Figura 27– Perfis de dissolução das suspensões em meio SES pH 6,8 com LSS a 0,5% , 25 rpm (valores médios \pm dp)	117
Figura 28– Perfis de dissolução das 4 suspensões de NMS a 25 rpm nos meios SES pH 6,8 com poli 80 a 1% (*) e SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5% (valores médios \pm dp)	118
Figura 29– Estruturas químicas do Polissorbato 80 (A) e LSS (B)	119

Figura 30– Correlação entre o porcentual de NMS dissolvido após 45 minutos de ensaio em 3 diferentes meios a 50 rpm e o tamanho de partícula do fármaco expresso como (A) diâmetro médio e (B) diâmetro modal

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Caracterização da matéria prima de NMS de acordo com a F. Bras. IV (2002a).	83
Tabela 2 – Análise quantitativa (doseamento) da matéria prima de NMS por titulação de neutralização.	83
Tabela 3 – Análise estatística da regressão linear das curvas padrão.	89
Tabela 4 – Resultados do teste de precisão de injeção.	90
Tabela 5 – Resultados do teste de precisão intra e inter-dia.	91
Tabela 6 – Quantidade de NMS contida e dissolvida nas suspensões.	92
Tabela 7 – Resumo da distribuição granulométrica das formulações em estudo e da matéria prima.	94
Tabela 8 – Resultados das medidas de pH e densidade.	95
Tabela 9 – Potencial zeta (média (mV) \pm dp) obtido para as suspensões de NMS em diferentes diluições em água.	98
Tabela 10 – Resultados do teste de gotejamento (média \pm dp).	99
Tabela 11 – Comprimentos de onda de máxima absorção, obtidos para a NMS nos meios empregados na dissolução, após tratamento das amostras com NaOH 1N.	102
Tabela 12 – Resultados comparativos para o doseamento de NMS nas suspensões por dois métodos diferentes (n=3).	102
Tabela 13 – Parâmetros médios provenientes das curvas padrão (5 níveis) utilizadas no doseamento por espectrofotometria das suspensões, para os diferentes meios (n = 2).	105
Tabela 14 – Ensaio de Recuperação em meio SES, pH 6,8, com poli 80 1,5%.	106
Tabela 15 – Ensaio de Recuperação em meio Sol. Aq. LSS 1,0%.	106
Tabela 16 – Resultados da precisão obtidos no doseamento das suspensões nos meios de dissolução, empregando a espectrofotometria no UV-Vis.	107
Tabela 17 – Resultado dos limites de quantificação e detecção, obtidos a partir das curvas analíticas. Valores médios de 4 a 8 curvas.	108

Tabela 18 – Medidas da perda de soluto por adsorção no filtro.	109
Tabela 19 – Quantidade média de amostra adicionada às cubas do dissolutor e respectiva dose de nimesulida adicionada, em função da densidade, da concentração declarada e do teor determinado (n = 30).	111
Tabela 20 – Tabela da solubilidade da NMS em diferentes meios (Silva, 2001; Oliveira, 2003).	116
Tabela 21 – Resultados obtidos para a formulação RA nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).	120
Tabela 22 – Resultados obtidos para a formulação TS nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).	121
Tabela 23 – Resultados obtidos para a formulação TB, nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).	121
Tabela 24 – Cálculos de f1 e f2 para todas as formulações frente ao referência nacional (RA), para todos os meios, no tempo de 60 minutos a 25 rpm.	123
Tabela 25 – Cálculos de f1 e f2, para todas as formulações, frente ao referência nacional (RA), para todos os meios, no tempo de 60 minutos a 50 rpm.	124

Lista de Abreviaturas

Abs – absorvância
AINE – antiinflamatório não esteroideal
ANVISA – agência nacional de vigilância sanitária
bv – balão volumétrico
CH₃CN - acetonitrila
CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência
CMC – concentração micelar crítica
COX – ciclooxigenase
dp – desvio padrão
DPR – desvio padrão relativo
FA – força de atração
FF – forma farmacêutica
FR – força de repulsão
HCl – ácido clorídrico
HOAc – ácido acético glacial
H₂O – água
IR – infra-vermelho (infra red)
NaOH – hidróxido de sódio
poli 80 – polissorbato 80
 λ – comprimento de onda
LSS – lauril sulfato de sódio
MetOH – metanol
MP – matéria prima
NMS – nimesulida
PDA – arranjo de fotodiodos
SES – suco entérico simulado
SESm – suco entérico simulado modificado
SE – solução estoque
SP – solução padrão

SQR – substância química de referência

UV – ultravioleta

Vis – visível

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	26
1.1 – SUSPENSÕES	26
1.1.1 – Sedimentação	27
1.1.2 – Viscosidade	28
1.1.3 – Tamanho das Partículas	29
1.1.4 – Sistemas floculados e defloculados - Potencial zeta	30
1.1.4.1 – <i>Potencial zeta</i>	30
1.1.4.2 – <i>Floculação e defloculação</i>	33
1.1.5 Molhabilidade	34
1.2 DISSOLUÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS	35
1.2.1 Teste de dissolução	37
1.2.2 Teoria da dissolução	38
1.2.3 Fatores que interferem na dissolução e absorção de fármacos	40
1.2.3.1 <i>Fatores fisiológicos</i>	40
1.2.3.2 <i>Fatores relacionados ao fármaco</i>	42
1.2.3.2.1 Solubilidade	42
1.2.3.2.2 Polimorfismo	42
1.2.4 Fatores inerentes à formulação	43

1.2.5	Fatores relacionados ao sistema e ao meio de dissolução	44
1.2.6	Teste de dissolução – desafio para formas farmacêuticas novas ou especiais	47
1.2.6.1	<i>Dissolução de Suspensões</i>	48
1.3	NIMESULIDA (NMS)	49
1.3.1	Propriedades físico-químicas	49
1.3.2	Propriedades farmacodinâmicas e mecanismo de ação	50
1.3.3	Propriedades farmacocinéticas	51
1.3.3.1	<i>Absorção e distribuição</i>	51
1.3.3.2	<i>Metabolismo e excreção</i>	52
1.3.3.3	<i>Classificação biofarmacêutica</i>	52
1.3.3.4	<i>Formas farmacêuticas</i>	53
2	OBJETIVOS	55
2.1	OBJETIVOS GERAIS	55
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
3	MATERIAIS E MÉTODOS	56
3.1	MATERIAIS	56
3.1.1	Equipamentos e acessórios	56
3.1.2	Reagentes	57
3.1.3	Produtos farmacêuticos e substância química de referência (SQR)	57
3.1.3.1	<i>Composição qualitativa das suspensões</i>	58
3.1.3.2	<i>Observações Complementares</i>	59
3.2	MÉTODOS	60

3.2.1 Análise da Matéria-Prima Nimesulida	60
3.2.1.1 <i>Identificação por espectrofotometria no infravermelho (IR)</i>	60
3.2.1.2 <i>Perda por dessecação</i>	60
3.2.1.3 <i>Ponto de fusão</i>	60
3.2.1.4 Análise quantitativa (doseamento) por titulação de neutralização	61
3.2.2 Análise quantitativa de NMS nas suspensões por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	61
3.2.2.1 <i>Estabelecimento das condições cromatográficas</i>	61
3.2.2.1.1 <i>Fase Móvel e Vazão</i>	62
3.2.2.1.2 <i>Volume de Injeção e Detecção</i>	62
3.2.2.2 <i>Validação do Método</i>	62
3.2.2.2.1 <i>Especificidade</i>	62
3.2.2.2.2 <i>Linearidade</i>	62
3.2.2.2.3 Precisão do volume de injeção	64
3.2.2.2.4 <i>Precisão intra e inter dia</i>	64
3.2.2.3 <i>Preparo das amostras das suspensões</i>	64
3.2.2.4 <i>Preparo do padrão</i>	65
3.2.2.5 <i>Determinação da quantidade de NMS dissolvida nas suspensões</i>	65
3.2.3 Caracterização Geral das Suspensões	66
3.2.3.1 <i>Tamanho de Partícula</i>	66
3.2.3.1.1 <i>Preparo do meio de dispersão</i>	67
3.2.3.1.2 <i>Procedimento</i>	68
3.2.3.2 <i>Densidade</i>	68
3.2.3.3 <i>pH</i>	68
3.2.3.4 <i>Avaliação Reológica</i>	68
3.2.3.5 <i>Potencial Zeta</i>	69

3.2.3.5.1	Preparo das amostras	69
3.2.3.5.2	Procedimento	70
3.2.3.6	<i>Teste de gotejamento para suspensão administrada em gotas</i>	70
3.2.4	Dissolução das Suspensões de NMS	71
3.2.4.1	<i>Meios de Dissolução</i>	71
3.2.4.2	<i>Velocidade de agitação e tipo de agitador</i>	72
3.2.4.3	<i>Tempo de ensaio e coleta das amostras</i>	73
3.2.4.4	<i>Realização do ensaio</i>	73
3.2.4.5	<i>Análise quantitativa da NMS por espectrofotometria no UV-Vis</i>	75
3.2.4.5.1	Preparo das amostras	75
3.2.4.5.2	Curva Padrão	75
3.2.4.6	Validação do método espectrofotométrico	76
3.2.4.6.1	Especificidade	76
3.2.4.6.2	Linearidade	76
3.2.4.6.3	Exatidão / Recuperação	76
3.2.4.6.3.1	Procedimento	77
3.2.4.6.4	Precisão	78
3.2.4.6.5	Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)	79
3.2.4.6.6	Adsorção aos filtros	79
3.2.5	Tratamento dos resultados do perfil de dissolução	80
3.2.5.1	<i>Modelo de Weibull</i>	81
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.1	ANÁLISE DA MATÉRIA-PRIMA NIMESULIDA	83
4.1.2	Análise quantitativa de NMS nas suspensões por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	84
4.1.2.1	<i>Estabelecimento das condições cromatográficas</i>	84

4.1.2.1.1 Fase Móvel e Vazão	84
4.1.2.1.2 Detecção	86
4.1.2.2 <i>Validação do Método Cromatográfico</i>	87
4.1.2.2.1 Especificidade / Seletividade	87
4.1.2.2.2 Linearidade	88
4.1.2.2.3 Precisão do volume de injeção	90
4.1.2.2.4 Precisão	91
4.1.2.3 <i>Teor de NMS total e quantidade dissolvida nas suspensões</i>	92
4.2 CARACTERIZAÇÃO GERAL DAS SUSPENSÕES	93
4.2.1 Tamanho de partícula	93
4.2.2 Determinação de densidade e pH	95
4.2.3 Avaliação Reológica	96
4.2.4 Potencial Zeta	98
4.2.5 Teste de Gotejamento	98
4.3 DISSOLUÇÃO DAS SUSPENSÕES DE NMS	99
4.3.1 Validação do método espectrofotométrico aplicado à dissolução	99
4.3.1.1 <i>Especificidade</i>	102
4.3.1.2. <i>Linearidade</i>	104
4.3.1.3 <i>Exatidão / Recuperação</i>	105
4.3.1.4 <i>Precisão</i>	107
4.3.1.5 <i>Limite inferior de detecção e limite inferior de quantificação</i>	108

4.3.2. Adsorção aos filtros	109
4.3.3 Determinação do perfil de dissolução das suspensões de NMS	109
4.3.3.1 <i>Tratamento dos resultados dos perfis de dissolução</i>	120
4.4. DISCUSSÃO GERAL	125
5 CONCLUSÕES	128
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	130
ANEXO I - Espectros de Infra-vermelho	142
ANEXO II – Resultados médios individuais das viscosidades das suspensões	143
ANEXO III – Resultados dos valores médios individuais do % dissolvido e seus respectivos desvios	144

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 SUSPENSÕES

As suspensões são sistemas heterogêneos em que a fase externa ou contínua é líquida ou semi-sólida e a interna ou dispersa é formada por partículas sólidas praticamente insolúveis no veículo (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981).

As suspensões podem ser de uso oral, intramuscular, subcutâneo e tópico, além das preparações oftálmicas. A suspensão oral é uma forma farmacêutica utilizada para fármacos insolúveis nos veículos habitualmente utilizados, fármacos de sabor desagradável e para prolongar ações medicamentosas. Nesse tipo de formulação, o tamanho das partículas dispersas pode condicionar a facilidade de absorção ou a predominância de uma ação local no intestino (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981; MARTIN, 1993a; FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

São sistemas termodinamicamente instáveis, uma vez que as partículas dispersas, em razão de sua grande superfície e energia livre, tendem a agrupar-se por ação da gravidade, reduzindo a área inicial, originando agregados firmes que sedimentam e que podem não ser susceptíveis de serem novamente suspensos (formação de “caking”). Assim, ao se preparar uma suspensão, devem-se levar em conta as propriedades físicas, químicas e farmacológicas das fases dispersa e dispersante. Fatores como viscosidade, densidade da fase dispersante, tamanho das partículas, temperatura de armazenagem, inibição de crescimento de cristais e mudanças polimórficas são de especial significância, pois qualquer alteração nesses parâmetros, durante o tempo de armazenagem do produto, pode afetar a performance da suspensão (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981; LACHMANN, LIEBERMAN, KANING, 1986; MARTIN, 1993a; FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Do ponto de vista galênico, é importante que as suspensões tenham estabilidade física, ou seja, que não decantem rapidamente, que possam ser facilmente homogeneizadas por agitação e que não se observe presença de quaisquer aglomerados de partículas. Tais características dependem da natureza da fase dispersa, do meio dispersante e dos excipientes. Resumindo, existem três objetivos a serem alcançados na formulação de suspensões:

- Garantir adequada dispersão das partículas no veículo;
- Minimizar a consolidação das partículas dispersas;
- Evitar a sedimentação com a finalidade de prevenir o “caking”.

1.1.1 Sedimentação

A estabilidade física de uma suspensão farmacêutica se concentra na manutenção das partículas uniformemente distribuídas na dispersão, pois é notório que um sólido incorporado em um líquido no qual é insolúvel, poderá sedimentar ou flutuar dependendo da diferença entre as densidades (MARTIN, 1993a; NETZ & ORTEGA, 2002). Quanto menor for o tamanho e a densidade das partículas e maior for a viscosidade da fase dispersante, mais lenta será a sedimentação. Geralmente a densidade das partículas é maior do que a da fase líquida (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981).

Um aumento na viscosidade é a estratégia empregada para evitar a sedimentação, como pode ser verificado pela Lei de Stokes, apresentada na equação a seguir, onde está demonstrada a viscosidade cinemática (PRISTA, ALVES, MORGADO, 1981). Esta mostra a relação entre a velocidade de sedimentação (v) e o tamanho das partículas expressa pelo seu raio (r), a

viscosidade do meio (η), as densidades do sólido (ρ_{sol}) e da fase dispersante (ρ_{liq}) e a influência da constante de aceleração gravitacional (g).

$$v = \frac{2r^2(\rho_{sol} - \rho_{liq})g}{9\eta} \quad (\text{Equação 1})$$

De acordo com a equação acima, podemos ver também que a velocidade de sedimentação de uma partícula em suspensão é maior quanto maior for a partícula, mantendo-se todos os outros fatores constantes.

1.1.2 Viscosidade

A viscosidade de um fluido é descrita como sendo sua resistência ao fluxo ou movimento. Na área farmacêutica é apenas um método de caracterização e classificação de fluidos e semi-sólidos. Atualmente, devido à crescente confiabilidade nos testes de dissolução de formas farmacêuticas, estes aumentaram a importância do conhecimento das propriedades de fluxo (AULTON, 2005).

Suspensões são sistemas não newtonianos onde as propriedades reológicas são acentuadamente afetadas pelo grau de floculação, uma vez que a quantidade de fase contínua livre diminui à medida que se torna presa aos flocos dispersos, ou seja, a viscosidade não é constante e depende de diversos fatores: do grau de floculação, da distribuição do tamanho de partícula, da tensão de cisalhamento e da temperatura (NETZ & ORTEGA, 2002; AULTON, 2005; BROOKFIELD, 2005).

Nesses sistemas, o grau de agregação é a característica mais importante, como já citado, pois sistemas dispersos altamente floculados possuem a possibilidade de interação entre os flocos resultando em sistemas estruturados. Assim, suspensões

floculadas irão apresentar comportamento plástico ou pseudoplástico. Se a ruptura e a formação de ligações entre os flocos forem dependentes do tempo, será observado também um comportamento tixotrópico. A formação de estruturas não acontece em suspensão defloculada, portanto, a avaliação reológica será determinada pelo comportamento da fase contínua junto com o efeito da distorção das linhas de fluxo ao redor das partículas.

A medição de viscosidade em sistemas dispersos é realizada em viscosímetros rotatórios, e estes se baseiam na resistência ao fluxo observado, quando um corpo rotatório gira imerso no líquido ou semi-sólido (NETZ & ORTEGA, 2002).

1.1.3 Tamanho das Partículas

Após a administração de um medicamento, a forma farmacêutica deve liberar o fármaco dissolvido a uma velocidade ideal. Esse evento depende de muitos fatores entre os quais o tamanho de partícula. Nas suspensões a grande área superficial do fármaco disperso assegura a alta disponibilidade para dissolução e, portanto absorção. Contudo é importante conhecer e controlar o tamanho de partícula, tanto no que tange à produção de medicamentos contendo sólidos particulados como em relação à eficácia do medicamento administrado (AULTON, 2005).

A determinação do tamanho de partículas é, por conseguinte, de grande importância no estudo de dissolução, e a equação de Noyes-Whitney (equação 3, item 1.2) evidencia a relação, mostrando que a área superficial inicial de uma partícula é diretamente proporcional a sua velocidade de dissolução (SIMÕES *et al.*, 1996; FLORENCE & ATTWOOD, 2003; JINNO *et al.*, 2005). Isso ocorre porque o processo de dissolução é limitado pela cinética de difusão, através da camada aquosa presente entre a superfície

das partículas do fármaco e o meio de dissolução, o que pode ser observado em alguns trabalhos encontrados na literatura, onde fármacos fracamente hidrossolúveis como a própria NMS após a micronização tiveram sua velocidade de solubilização aumentada (CÁRCAMO, 1981; ABDU,1995; MOSHARRAF & NYSTROM,1995; SHARGEL & YU,1999; HÖRTER & DRESSMAN, 2001; CASTELLI *et al.*, 2003). Além disso, fármacos insolúveis são administrados freqüentemente sob a forma de suspensões, rotineiramente, sem o controle do tamanho de partícula, desse modo os testes farmacológicos e toxicológicos podem ser incertos. Em alguns casos o tamanho de partícula influi, inclusive, nos efeitos colaterais, como sangramento gástrico, que é um efeito comum entre os antiinflamatórios (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Diante da influência da granulometria no processo de dissolução, torna-se de grande importância a qualificação de fornecedores da matéria prima, pois a variabilidade no tamanho das partículas depende do fabricante, fato que pode implicar no comportamento da suspensão no que tange à resposta terapêutica (ANSEL, 2000).

Uma das técnicas mais indicadas para a determinação da distribuição granulométrica em suspensões é a de difração a laser, que possui como base a premissa de que o ângulo de difração do laser é inversamente proporcional ao tamanho da partícula por ele incidida. Este método também permite que as partículas em suspensão recirculem em frente ao feixe do laser, garantindo que todas as partículas sejam medidas, refletindo em elevada reprodutibilidade dos resultados (RAWLE, 2004; AZEMA, 2006).

1.1.4 Sistemas floculados e defloculados - Potencial zeta

1.1.4.1 Potencial zeta

Para entender as características de uma suspensão, devem-se compreender as interações que ocorrem entre as partículas. De um modo geral, busca-se maximizar as forças repulsivas entre as partículas para obterem-se suspensões estáveis, uma vez que as forças de repulsão (FR) mútuas entre partículas adjacentes impedem a união de partículas, evitando grandes e rápidas sedimentações.

O tamanho e as forças de atração (FA) na superfície das partículas e no meio de dispersão são os responsáveis pelo comportamento geral da suspensão. Cada partícula possui uma carga elétrica que pode ser de natureza positiva ou negativa. Estas cargas produzem forças de repulsão eletrostática entre as partículas, isto é, se esta for suficientemente alta as partículas permanecem dispersas, caso contrário, elas sedimentam na formulação (GREENWOOD, 2003).

O modelo utilizado para explicar como atuam as forças elétricas na superfície das partículas é o Modelo da Camada Dupla (Figura 1).

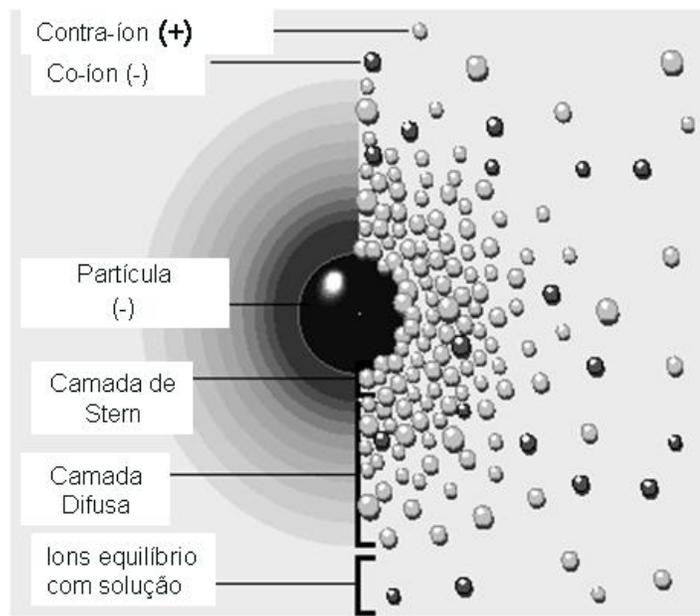


Figura 1 – Modelo da Camada Dupla

De acordo com a figura acima, pressupõe-se que se a partícula for negativa, ao redor dela coexistirão contra-íons, íons de carga oposta, no caso, positiva. Inicialmente, ocorre uma atração eletrostática fazendo com que alguns íons positivos formem uma rígida camada ao redor da partícula, conhecida como camada de Stern. Todavia, outros contra-íons são atraídos para a camada de Stern, gerando um equilíbrio dinâmico e dando origem a uma segunda camada chamada de difusa, que vai ficando mais dispersa, à medida que se distancia da camada de Stern, até entrar em equilíbrio com os demais íons presentes no seio da suspensão.

A camada difusa possui um déficit de íons negativos, estes têm sua concentração aumentada à medida que se distanciam da camada de Stern; portanto, esta camada é vista como uma atmosfera carregada rodeando a partícula. A qualquer distância da superfície, a densidade das cargas será igual à diferença de concentração entre os íons positivos e negativos, sendo maior a densidade quanto mais próxima às partículas.

A partícula negativa e sua atmosfera positiva produzem um potencial elétrico na solução, este tem um valor máximo na superfície e diminui gradualmente à medida que se distancia da camada difusa. A queda do potencial e as distâncias entre as partículas são indicadores da FR entre as partículas.

Um ponto particular é o potencial na junção entre as duas camadas (de Stern e difusa), conhecido como potencial zeta, e que pode ser determinado pela velocidade de migração da partícula em um aparelho de microeletroforese (NETZ & ORTEGA, 2002; FLORENCE & ATTWOOD, 2003). Trata-se de uma maneira efetiva de controlar o comportamento das partículas, pois indica a interação entre o potencial de superfície e as forças de repulsão entre estas (REMINGTON, 1995; GREENWOOD, 2003).

1.1.4.2 *Floculação e defloculação*

O potencial zeta está relacionado às partículas e suas forças de atração e repulsão, já mencionado. Logo quando o potencial zeta é alto (maior que 25 mV) as FR entre 2 partículas excedem as FA, nesse caso temos um sistema defloculado, pois as partículas não se agregam, continuam preservando seu caráter individual. A adição de íons de carga oposta à das partículas, ocasiona uma diminuição do potencial zeta e, se a concentração de íons de carga oposta for suficiente para reduzir as forças elétricas de repulsão, a ponto de as FA predominarem, nestas condições haverá a formação de agregados frouxos, sendo o sistema chamado de floculado. A floculação pode ser controlada pelo uso de espécies iônicas com cargas opostas à carga das partículas dispersas no meio (REMINGTON, 1995; FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Resumindo, nos sistemas defloculados:

- As partículas presentes na suspensão são entidades separadas.
- A velocidade de sedimentação é lenta, desde que cada partícula exista separadamente, e o tamanho de partícula seja mínimo.
- A sedimentação é demorada e ocorre de cima para baixo, formando-se na superfície uma fase límpida.
- Quando em repouso, o sedimento formado normalmente sofre compactação progressiva; com isso, a FR entre as partículas é superada, e o resultado é a formação de “caking”, o qual é muito difícil ou até impossível de ressuspender.
- As suspensões possuem uma aparência agradável, desde que o material particulado se mantenha suspenso por um longo período de tempo (REMINGTON, 1995; NETZ & ORTEGA, 2002).

E nos sistemas floculados:

- As partículas formam agregados frouxos.
- O raio da sedimentação é alto.
- Nesse sistema, as partículas sedimentam rapidamente, e de modo associado impedindo o cálculo da velocidade de sedimentação pela equação de Stokes.
- O sedimento é fracamente compactado, não havendo formação de caking, sendo o agregado de fácil redispersão, refazendo a suspensão original.
- As suspensões não apresentam uma aparência agradável devido à rápida sedimentação (REMINGTON, 1995; NETZ & ORTEGA, 2002).

1.1.5 Molhabilidade

Um passo importante no preparo de uma suspensão é a incorporação das partículas sólidas num veículo líquido onde estas são praticamente insolúveis. O termo molhabilidade define a afinidade que a fase dispersante tem pela superfície do sólido disperso e que está fortemente vinculada com a tensão interfacial do sistema. Ela pode ser facilmente observada pelo ângulo de contato formado entre o pó e a superfície do líquido, demonstrado na seguinte equação (NETZ & ORTEGA, 2002):

$$\cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} / \gamma_{LV} , \text{ onde } \gamma \text{ é a tensão interfacial} \quad (\text{Equação 2})$$

Vale lembrar que a penetração da água nos comprimidos ou grânulos precede à dissolução e que fármacos hidrofóbicos, como a nimesulida, possuem 2 problemas: não são facilmente molhados e, quando molhados, apresentam baixa solubilidade (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Uma baixa molhabilidade é ocasionada devido ao ar aprisionado à superfície hidrofóbica do sólido, fazendo com que as partículas flutuem na superfície, mesmo possuindo alta densidade. Para um líquido molhar um pó completamente deve haver um decréscimo de energia livre da superfície como resultado de um processo de imersão.

Para facilitar a molhabilidade são adicionados às suspensões agentes molhantes que nada mais são que tensoativos. Estes atuam diminuindo a tensão interfacial entre as partículas e o veículo, reduzindo o ângulo de contato, deslocando o ar para fora das partículas, promovendo a molhabilidade e defloculação, aumentando com isso a dispersibilidade do sistema (MARTIN, 1993a; AULTON, 2005).

1.2 DISSOLUÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

A dissolução de um medicamento é o fenômeno pelo qual um fármaco no estado sólido liberado da forma farmacêutica (FF) se solubiliza para que seja absorvido (ABDOU, 1995). Sendo assim, após a administração, por via oral, de uma forma farmacêutica (FF) sólida, ocorre o processo de desintegração, onde o fármaco é liberado da sua FF e passa a se apresentar em partículas menores, seguido pela etapa de desagregação, onde há redução das partículas e, por fim, a dissolução, que nada mais é do que a solubilização do fármaco no meio.

Na indústria farmacêutica, o teste de dissolução tem se tornado cada vez mais importante no desenvolvimento de FF sólidas e semi-sólidas, porque prevê o comportamento de liberação do ativo, além de ser uma ferramenta no controle de qualidade de produtos, pois testes como identificação, pureza, teor e estabilidade não são suficientes para assegurar a eficácia clínica do medicamento, dentre outras aplicações. Todas as aplicações do estudo de dissolução encontram-se na Figura 2.

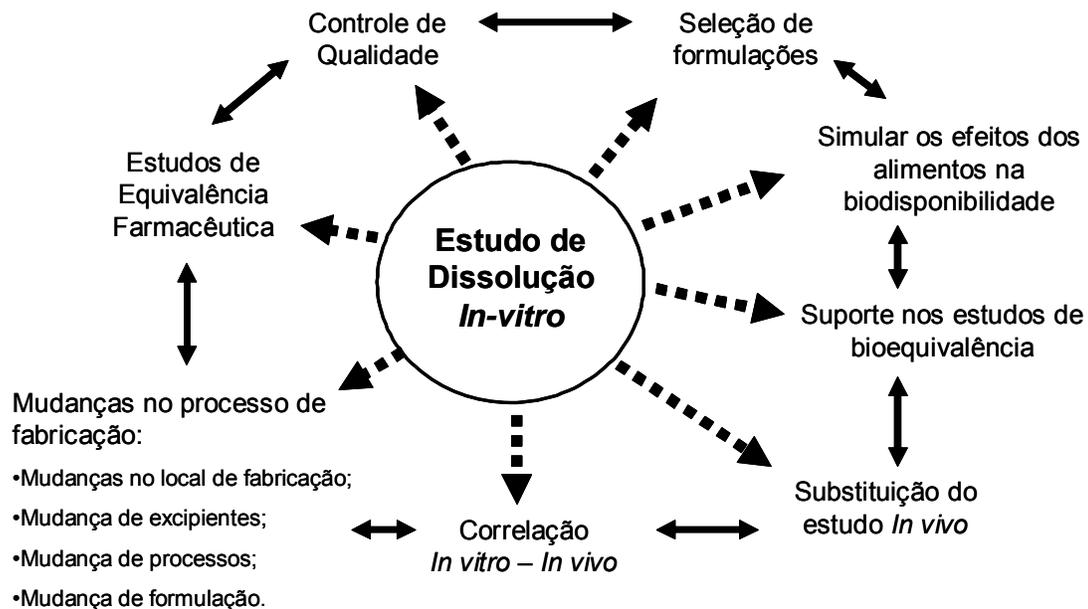


Figura 2 – Aplicações do estudo de dissolução *in vitro* (JAMZAD & FASSIHI, 2006).

Em geral, a dissolução de fármacos pode ser definida por 2 etapas: liberação do fármaco, a partir da sua FF, e o transporte do mesmo para o seio do meio de dissolução.

Vários fatores influenciam a dissolução de ativos, são eles:

- Propriedades físico-químicas do fármaco como solubilidade, forma cristalina, tamanho de partícula, estrutura molecular e as características de difusão no meio de dissolução;
- Características da formulação, excipientes e processos tecnológicos;
- Método de dissolução (FORTUNATO, 2005; JAMZAD & FASSIHI, 2006).

A grande atenção dispensada à cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas deve-se, principalmente, à relação deste fenômeno com a biodisponibilidade de fármacos no organismo (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995; SIEWERT *et al.*, 2003; BROWN *et al.*, 2004), sobremaneira para aqueles pertencentes à classe II do sistema de

classificação biofarmacêutica, ou seja, os que possuem baixa solubilidade em água e alta permeabilidade, de modo que a absorção é limitada pela velocidade de dissolução (AMIDON *et al.*, 1995). Esses fármacos, a partir da sua FF de liberação, podem possuir potenciais problemas formulativos e tecnológicos resultando em relevante alteração da biodisponibilidade. Dessa forma, a dissolução para esses ativos torna-se um grande desafio, necessitando do desenvolvimento e validação de metodologias que sejam discriminativas e que possuam potencial correlação *in vivo-in vitro* (BROWN *et al.*, 2004; JAMZAD & FASSIHI, 2006).

1.2.1 Teste de dissolução

O teste de dissolução tem sido utilizado como uma excelente ferramenta no controle de qualidade lote a lote de formas sólidas, pois permite detectar alterações entre as formulações que poderiam ocasionar uma mudança na liberação do fármaco comprometendo assim o desempenho do medicamento. A meta primordial do ensaio de dissolução *in vitro* seria indicar potenciais problemas de biodisponibilidade numa determinada formulação (BRASIL, 2004).

As metodologias descritas nos compêndios oficiais indicam especificações de dissolução em um único ponto de coleta, ou seja, a partir de um tempo estabelecido na monografia, por exemplo 30 minutos, faz-se uma amostragem e quantifica-se o quanto foi dissolvido, conferindo se está dentro da especificação ou não. As análises de rotina dentro de um laboratório de controle de qualidade são realizadas desta maneira. Para uma análise mais detalhada, de desempenho do produto, onde se avalia um perfil de liberação do ativo em função do tempo, com uma possível correlação *in vivo / in vitro* é necessária a realização de várias tomadas de amostras do meio de dissolução.

O perfil de dissolução, por demonstrar a liberação do fármaco em função do tempo é utilizado no estudo comparativo entre medicamentos genéricos e similares contra o referênciã, para fins de registro frente à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para comparação do perfil de dissolução entre produtos, empregando os fatores de diferença e semelhança, deve-se selecionar no mínimo 5 pontos de coleta sendo apenas 1 ponto acima de 85%. O coeficiente de variação entre os seis aparatos deve ser inferior a 20% nos primeiros tempos, e inferior a 10% nos últimos tempos; o ensaio deve ser feito com 12 unidades do medicamento (BRASIL, 2004).

1.2.2 Teoria da dissolução

A cinética de dissolução foi descrita pela primeira vez em 1987 pela equação de Noyes e Whitney, baseada na segunda lei de Fick, conforme se expõe a seguir:

$$\frac{dC}{dT} = K \times (C_s - C_t) \quad \text{(Equação 3)}$$

Onde:

dC/dT = gradiente de dissolução do fármaco em função do tempo

K = constante de dissolução

C_s = concentração de saturação do fármaco na solução

C_t = concentração do fármaco em solução no tempo t

$C_s - C_t$ = gradiente de concentração

Em 1900, Brunner e Tolloczko modificaram a Equação 3, inserindo a área superficial do fármaco, A , uma vez que esta pode não ser constante:

$$\frac{dC}{dT} = K \times A \times (C_s - C_t)$$

(Equação 4)

Em 1904, Nerst propôs a teoria da difusão em camada que consiste nas etapas de dissolução do fármaco na superfície da partícula sólida e a formação de uma solução saturada ao nível de interface sólido-líquido. O fármaco dissolvido a nível de interface, forma uma camada conhecida como camada estagnante, que se difunde para o seio do solvente, sempre da região de maior concentração do fármaco para a de menor. Essa etapa é considerada como fator limitante, pois a difusão é um processo lento.

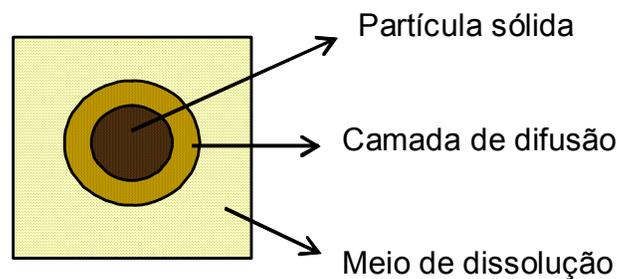


Figura 3 – Modelo de difusão em camada

Dessa forma, Brunner ampliou a Equação 4, incluindo o coeficiente de difusão, D , a espessura da camada estagnante, h , e o volume do meio de dissolução, V , dando origem à equação abaixo:

$$\frac{dC}{dt} = K \times \frac{D \times S}{V \times h} \times (C_s - C_t)$$

(Equação 5)

Existem vários fatores que influenciam o ensaio de dissolução, preponderando o meio dissolvente, a velocidade de agitação e o tipo do equipamento, os quais devem ser atentamente observados e investigados, com o intuito de que o mesmo possa ser

considerado uma estimativa da dissolução do fármaco *in vivo* (SKOUG *et al.*, 1997; USP 29, 2006a).

Um outro fator relevante é se o medicamento deve ser administrado em jejum ou no estado alimentado (HÖRTER & DRESSMAN, 2001). Medicamentos de baixa solubilidade, como a nimesulida, normalmente são administrados após as refeições, pois a ingestão concomitante de alimentos com o medicamento faz com que vários fluidos sejam secretados pelo trato gastrointestinal, facilitando a dissolução e absorção do ativo. A maior concentração de tensoativos endógenos (sais biliares), no estado alimentado, favorece a dissolução e absorção de fármacos de baixa solubilidade (MITHANI *et al.*, 1996).

1.2.3 Fatores que interferem na dissolução e absorção de fármacos

1.2.3.1 Fatores fisiológicos

A fisiologia e anatomia do trato gastrointestinal (TGI) devem ser conhecidas, pois um teste de dissolução deveria simular ao máximo as condições fisiológicas (BONLOKKE *et al.*, 1997; DRESSMAN *et al.*, 1998; JAMZAD & FASSIHI, 2006).

O trato gastrointestinal é composto pelo estômago, intestino delgado, intestino grosso e cólon. O intestino delgado é o maior dos órgãos citados (2 a 6 m), possuindo vilosidades e microvilosidades, que o tornam responsável por grande parte da absorção (AIRES, 1999).

A velocidade de dissolução e a extensão da absorção são influenciados por diferentes parâmetros encontrados na fisiologia do TGI, são eles: motilidade gastrointestinal, fluxo sanguíneo, pH, capacidade tamponante, presença de tensoativos e volume luminal. Esses fatores podem ser alterados de acordo com o estado alimentado

ou em jejum do indivíduo (MITHANI *et al.*, 1996; DRESSMAN *et al.*, 1998; BROWN *et al.*, 2004).

O pH é um parâmetro de grande importância na absorção de fármacos, uma vez que estes só são absorvidos na forma não ionizada, a fração de cada forma depende do pH do meio de solubilização e do pKa do ativo. Assim o pH do estômago pode facilitar a absorção de fármacos ácidos. Os segmentos do trato gastrointestinal diferem entre si em relação a valores de pH, o que permite uma maior ou menor absorção do fármaco, dependendo das características deste e do local onde ele se encontre (ANSEL *et al.*, 2000).

Um outro fator que pode facilitar a absorção é a ação de tensoativos endógenos, representados pelos sais biliares presentes no intestino delgado. Estes são encontrados no estado de jejum na faixa de 0,1 a 13,3 mM e no estado alimentado na faixa de 3,0 a 35,0 mM. Os tensoativos facilitam principalmente a absorção de fármacos pouco solúveis (MITHANI *et al.*, 1996; DRESSMAN *et al.*, 1998).

O fluxo e o tempo total de residência de um medicamento no TGI dependerão da sua FF. Um medicamento, ao ser ingerido, atinge rapidamente o estômago, passando em seguida ao intestino delgado, contudo o tempo de esvaziamento gástrico pode acelerar ou retardar a velocidade e extensão da absorção do fármaco que ocorre no intestino delgado. O tempo total de trânsito no TGI vai depender de fatores inerentes ao fármaco, do volume gástrico, da temperatura corpórea, entre outros, e da diversidade do indivíduo, como estado alimentado ou em jejum, idade e integridade do TGI. A motilidade gastrointestinal também é relevante, pois é responsável pelo deslocamento do alimento e do medicamento ao longo do TGI com velocidade compatível com sua digestão e absorção (BONLOKKE *et al.*, 1997; DRESSMAN *et al.*, 1998).

1.2.3.2 *Fatores relacionados ao fármaco*

1.2.3.2.1 Solubilidade

Um dos fatores mais importantes é a solubilidade, pois somente o fármaco dissolvido nos líquidos do TGI será absorvido. A solubilidade pode ser influenciada por fatores fisiológicos como o pH, o qual interfere no grau de ionização da molécula. Entretanto, é importante destacar que o fármaco, para ser absorvido precisa atravessar as membranas celulares e que estas possuem caráter lipofílico, assim a forma não ionizada será praticamente a absorvida (SHARGEL & YU, 1999).

1.2.3.2.2 Polimorfismo

Muitas substâncias podem existir na forma amorfa, cristalina, anidra, com vários graus de hidratação ou solvatada, com variedade na dureza, na forma e no tamanho do cristal, essa propriedade é chamada de polimorfismo. Sob condições de temperatura e pressão definidas, apenas uma das possíveis formas polimórficas de uma substância pura é estável, sendo as demais denominadas metastáveis. Estas últimas, por sua vez, são formas que se transformam em diferentes velocidades na forma estável. Em geral, a forma mais estável é a que apresenta menor energia livre, enquanto a mais solúvel é a amorfa (SHARGEL & YU, 1999; AULTON, 2005).

Polimorfos diferentes podem variar quanto às suas propriedades físicas, como a dissolução, a estabilidade do estado sólido e o comportamento tecnológico. Face a isto, o formulador deve estar atento a potenciais problemas que podem resultar em modificações não desejadas ao produto, ainda que as análises químicas de rotina não revelem qualquer alteração. A reversão de formas metastáveis pode ocorrer durante o tempo de existência do produto (SINGHAL & CURATOLO, 2004). No caso de suspensões, esse

evento pode vir acompanhado por alterações na consistência da preparação, afetando a estabilidade do produto. Estas alterações podem ser prevenidas mediante incorporação de adjuvantes como hidrocolóides e tensoativos, deve-se também utilizar sempre a forma mais estável. Geralmente, é fácil selecionar o polimorfo mais estável, este será o que possuir maior ponto de fusão, contudo é possível estabelecer uma correlação entre ponto de fusão e a velocidade de dissolução. Por conseguinte, o polimorfo com ponto de fusão menor cederá mais facilmente uma molécula durante a dissolução, ao contrário da forma mais estável. Portanto, o impacto do polimorfismo sobre a taxa de dissolução está, principalmente, ligado à solubilidade entre as formas, o que pode afetar diretamente a biodisponibilidade, refletindo em concentrações plasmáticas máximas diferentes. Normalmente a determinação do perfil de dissolução dos produtos consegue distinguir as diferenças físico-químicas entre os polimorfos, tornando-se então, uma ferramenta importante no controle de qualidade (SINGHAL & CURATOLO, 2004; AULTON, 2005).

1.2.4 Fatores inerentes à formulação

Os excipientes são selecionados para compor as formulações devido às suas propriedades funcionais, como melhorar a conservação da formulação, diminuir a irritação gástrica e facilitar o processo formulativo, dentre outras. Podem também afetar as características físico-químicas do medicamento, como a velocidade de dissolução (SHARGEL & YU, 1999). De acordo com a Resolução nº 893 de 2003, toda alteração feita numa determinada formulação, após o registro, deve ser avaliada pelo ensaio de perfil de dissolução comparativo entre a formulação pré-registro e a nova pós-registro (BRASIL, 2003a). Tudo isso se faz necessário devido a mudanças na biodisponibilidade que podem ocorrer.

A interação dos excipientes com o fármaco pode resultar tanto em um produto mais solúvel, quanto em um menos solúvel. Para fármacos de baixa solubilidade, a adição de desintegrantes pode acelerar a desintegração da formulação, promovendo um aumento da liberação das partículas. Tensoativos também podem ser utilizados, pois eles diminuem a tensão interfacial aumentando a dissolução. A quantidade adicionada deve ser controlada, porque em altas concentrações, eles podem interagir com o fármaco, gerando micelas, reduzindo a área superficial, diminuindo assim a tensão superficial do sólido disperso, aumentando a interface, levando a uma dissolução mais lenta (SHARGEL & YU, 1999).

De acordo com as características físico-químicas dos ativos, os excipientes podem atuar de maneira diferenciada. Alguns excipientes podem modificar o pH do meio, onde o fármaco será dissolvido, resultando em um aumento ou diminuição da solubilidade deste. Portanto, fica claro que os excipientes têm um importante papel na liberação do fármaco, a partir de sua FF, e na eficácia da formulação, devendo então ser criteriosamente selecionados para serem incorporados nas formulações, uma vez que podem afetar a taxa e a extensão da absorção de um fármaco (SHARGEL & YU, 1999).

1.2.5 Fatores relacionados ao sistema e ao meio de dissolução

No desenvolvimento de um teste de dissolução, é fundamental que as condições sejam as mais relevantes possíveis, ou seja, próximas à situação fisiológica, de modo que os dados obtidos com o teste de dissolução *in vitro* sejam similares ao desempenho do medicamento *in vivo* (CDER/FDA, 1997a; GALIA *et al.*, 1998; AULTON, 2005).

A seleção do meio de dissolução baseia-se na solubilidade do fármaco em relação a dose do produto, e é requerido que este proporcione, dentro do possível, a condição *sink*, sem necessariamente envolver um grande volume de meio ou um mecanismo de substituição constante. A condição *sink*, ou seja, o distanciamento da condição de saturação do meio com o fármaco, é alcançada quando o volume de meio utilizado é superior a 3 vezes a concentração de saturação do fármaco; portanto, seu objetivo é garantir que a velocidade de dissolução não seja diminuída por causa da aproximação com a concentração de saturação. O volume do meio de dissolução é geralmente 500, 900 e 1000 mL, e a condição *sink* é recomendada, porém não obrigatória (CÁRCAMO, 1981; ABDU, 1995; CDER/FDA, 1997a; ROHRS, 2001; BROWN, 2004).

Para FF de uso oral, o meio de dissolução deve estar dentro da faixa fisiológica de pH, que vai de 1,2 a 6,8, podendo ser estendida até pH 7,5 para FF de liberação modificada. Os meios habituais são: água, suco gástrico simulado, suco entérico simulado e ou tampão com pH na faixa de 4,5 a 7,5.

Para seleção adequada do meio de dissolução, é necessária a avaliação de alguns parâmetros como: poder discriminatório entre produtos com diferentes processos de fabricação, robustez, estabilidade do analito no meio proposto e uma possível mimetização da performance *in vivo*. Fármacos de baixa solubilidade não apresentam dissolução adequada em meio aquoso, na faixa fisiológica de pH, e podem requerer o uso de tensoativos (HE *et al.*, 2004). Estes compostos têm como função diminuir a tensão interfacial entre o soluto e o solvente em que está contido. Um dos mecanismos de ação está relacionado com a molhabilidade da partícula, ou seja, o tensoativo favorece o contato entre a partícula e o solvente. Outro mecanismo é a solubilização micelar, na qual os tensoativos podem aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis

por este mecanismo (SHAH *et al.*, 1995; CDER/FDA, 1997a; DRESSMAN *et al.*, 1998; NOORY *et al.*, 2000; HÖRTER & DRESSMAN, 2001; BROWN, 2004; AULTON, 2005).

A quantidade de tensoativo necessária, para adequada solubilização do fármaco, depende da concentração micelar crítica (CMC) do tensoativo e do coeficiente de partição do ativo entre o meio e as micelas. A CMC é a concentração onde o tensoativo não estará mais numa solução verdadeira, e sim se encontrará disperso em forma micelar. Quando se alcança este estágio, o poder solvente dessas soluções aumenta frente a substâncias hidrofóbicas e, na verdade, o que acontece é que o fármaco insolúvel se dissolve na parte apolar da micela do tensoativo, ocasionando uma falsa dissolução (CÁRCAMO, 1981; MARTIN, 1993a; SHAH *et al.*, 1995). Os tensoativos mais usuais são laurilsulfato de sódio, polissorbato 80 e brometo de cetiltrimetilamônio. Suas estruturas estão apresentadas na Figura 4 (BROWN, 2004; PARK & CHOI, 2006).

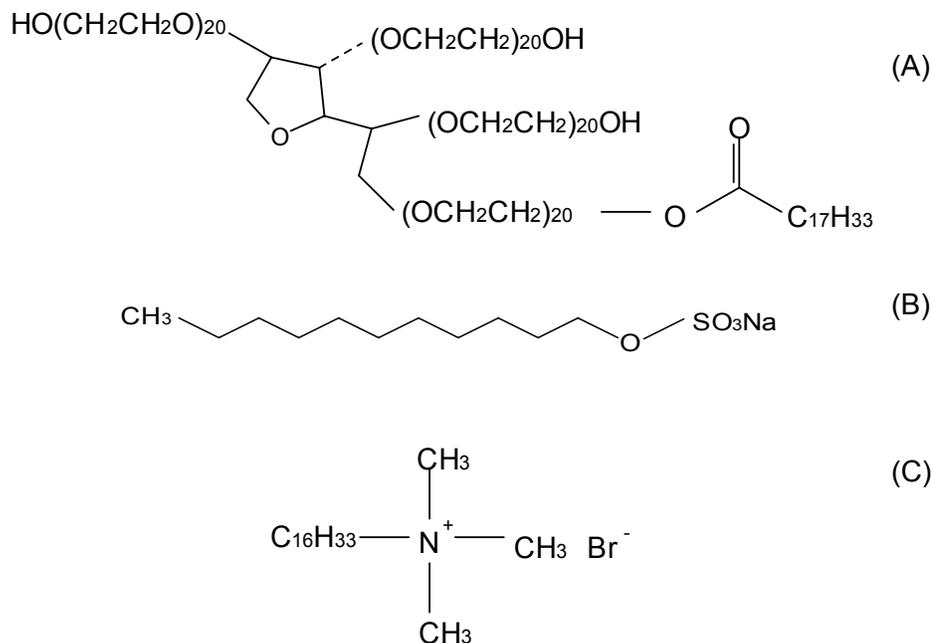


Figura 4 – Estruturas químicas dos tensoativos polissorbato 80 (A), laurilsulfato de sódio (B) e brometo de cetilmetilamônio (C).

Outro fator a considerar no preparo dos meios é a remoção dos gases dissolvidos no mesmo (F. Bras. IV, 1988a; BP, 2004; FLISZAR *et al.*, 2005; USP 29, 2006a). Pequenas bolhas de ar ou gases dissolvidos alteram o ensaio de dissolução, por poderem se associar com partículas agregadas, impedir o contato na interface sólido-líquido e alterar o processo de desintegração e desagregação pela redução da área de superfície exposta ao solvente. Além disso, podem aderir à malha da cesta, alterando sua porosidade, com conseqüências no fluxo do meio de dissolução (HANSON, 1991).

Por fim, o último quesito é a intensidade de agitação, que varia com o tipo de aparato usado. Os mais empregados são o aparato 1, que é a cesta, e o 2, que é a pá. Para o primeiro, a velocidade usual é de 50, 75 ou 100 rpm e, para o segundo, normalmente é de 50 ou 75 rpm (F. Bras. IV, 1988a; USP 29, 2006a). A velocidade de agitação será determinada pela avaliação do grau de fluxo laminar e da turbulência no sistema, além do tipo de aparato utilizado.

1.2.6 Teste de dissolução – desafio para formas farmacêuticas novas ou especiais

O estudo de dissolução em formulações de liberação controlada ou modificada vem sendo expandido devido à variedade de novas formas farmacêuticas como comprimidos desintegrantes, adesivos transdérmicos, comprimidos mastigáveis, implantes, formulações injetáveis de micropartículas e lipossomas. Para produtos de administração oral e liberação imediata, o teste costumeiro é o de dissolução, desde que o fármaco se dissolva no meio. Para formas de administração não oral como as tópicas e transdérmicas, o teste exigido denomina-se “liberação *in vitro*”, uma vez que devido às características do produto, não ocorre desagregação da formulação. Diferentes

procedimentos, aparatos e técnicas são empregados, caso a caso (SIEWERT *et al.*, 2003).

Entretanto, os princípios que norteiam o teste de dissolução para formas sólidas orais também podem ser aplicados no desenvolvimento de um ensaio de liberação *in vitro* de formas farmacêuticas especiais, como em suspensões, supositórios e semi-sólidos. Nestes casos, recomenda-se a padronização dos ensaios de liberação do fármaco, já que as diferentes propriedades entre as formas de dosagens, seus sítios e modelos de aplicação serão essenciais para a seleção do aparato, composição do meio, agitação (fluxo) e temperatura. A validação do estudo terá como objetivo demonstrar que o novo método garanta exatidão, precisão, reprodutibilidade e, de preferência, que permita uma correlação com o desempenho *in vivo* do medicamento (SIEWERT *et al.*, 2003).

1.2.6.1 *Dissolução de Suspensões*

A aplicação dos ensaios de dissolução na avaliação da qualidade de suspensões é recente e recomendada em apenas quatro monografias farmacopeicas americanas: indometacina, ibuprofeno, megestrol e fenitoína (USP 28, 2005).

Apesar das suspensões constituírem um sistema disperso, a absorção do fármaco, a partir desta FF, estará também condicionada pela velocidade de dissolução. Os fatores associados a essa formulação que podem interferir nesse processo são (AULTON, 2005):

- Tamanho de partícula;
- Forma cristalina do fármaco;
- Complexação (exemplo: entre o fármaco e o agente suspensor);
- Adição de tensoativos;

- Viscosidade da suspensão.

Em geral, a metodologia empregada para suspensões faz uso do aparato 2, pá rotatória, em um meio de dissolução aquoso. As demais condições do método são estabelecidas de acordo com a viscosidade e com a composição das suspensões.

Suspensões de baixa viscosidade podem ser adicionadas à cuba com a ajuda de uma pipeta volumétrica ou com uma seringa, desde que o volume seja conhecido, além disso a suspensão deve ter sido previamente agitada e estar livre de bolhas de ar. A velocidade de agitação recomendada é 25 rpm. Para suspensões de alta viscosidade, a transferência para a cuba também pode ser por meio de seringa, todavia por diferença de peso. A velocidade de rotação para este último caso pode ser maior, variando de 50 a 75 rpm (SIEWERT *et al.*, 2003; USP 27, 2004).

A amostragem pode ser equivalente à dose ou a uma fração desta, caso a condição *sink* não esteja contemplada (SIEWERT *et al.*, 2003).

A preocupação em caracterizar a dissolução de suspensões em códigos oficiais somente está descrita na farmacopéia americana (USP 28, 2005), até o presente momento, e carece ainda de maior aplicação (SIEWERT *et al.*, 2003).

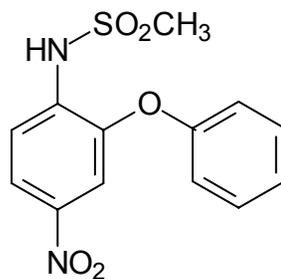
1.3 NIMESULIDA (NMS)

A nimesulida é um fármaco antiinflamatório não esteroide (AINE) que pertence à classe das sulfonilidas, possuindo assim propriedades analgésicas, antitérmicas e antiinflamatórias, com o benefício de ter boa tolerabilidade gástrica. Age inibindo a síntese de prostaglandinas via inibição da ciclooxigenase-2 (COX-2), sendo geralmente utilizada no tratamento em curto prazo de doenças inflamatórias (RANG, DALE, RITTER, 2000). É

utilizada na Europa e Ásia há mais de 15 anos e, na década de 90, foi introduzida na Índia e no Brasil (KULKARNI, 2002).

1.3.1 Propriedades físico-químicas

A nimesulida é um derivado da sulfonanilida cuja fórmula estrutural está mostrada na figura 5.



PM = 308,31 g/mol

Fórmula molecular: C₁₃H₁₂N₂O₅S

Figura 5 – Estrutura química da nimesulida

O nome químico da NMS é N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metanosulfonamida. Esse fármaco apresenta-se sob a forma de cristais, levemente amarelados, com ponto de fusão de 149,4 °C (THE MERCK INDEX, 2001).

A NMS apresenta pKa em torno de 6,5 (FALLAVENA & SCHAPOVAL, 1997; SINGH, SHARDA, MAHAJAN, 1999) podendo se comportar como ácido ou base fraca em função do solvente, e é praticamente insolúvel em água (10 µg/mL). Esta propriedade, associada à sua baixa molhabilidade, aumenta as dificuldades na formulação farmacêutica de soluções orais, suspensões, granulados e injetáveis. Porém, é bem solúvel em solventes orgânicos como metanol, etanol, acetona e dimetilformamida (THE MERCK INDEX, 2001).

1.3.2 Propriedades farmacodinâmicas e mecanismo de ação

A nimesulida é quimicamente diferente dos demais fármacos da sua classe devido ao grupamento sulfonilida. Assim como os AINEs, a NMS age inibindo a síntese de prostaglandinas como consequência da inibição da enzima COX. Duas isoformas dessa enzima são conhecidas, a COX 1 e a COX 2. A primeira é constitutiva, expressa em várias células e está envolvida em muitos processos fisiológicos; a segunda é induzida em processos inflamatórios (RANG, DALE, RITTER, 2000).

A NMS possui potente ação analgésica, antitérmica e antiinflamatória por via oral e retal. A ação dela sobre a COX 1 é muito pequena, diminuindo o risco de lesões gastroduodenais quando comparada aos demais AINES. É bem comprovada a preferência da NMS pela COX 2, garantindo a sua eficácia e perfil de segurança frente a outros AINEs, como o diclofenaco. A NMS tem sido amplamente utilizada no tratamento de processos inflamatórios, osteoartrite, febre, dor aguda, dismenorréia e em afecções do aparelho locomotor (DAVIS & BROGDEN, 1994; MARCZYK, 1997; RANG, DALE, RITTER, 2000; KULKARNI, 2002).

1.3.3 Propriedades farmacocinéticas

1.3.3.1 Absorção e distribuição

A NMS é absorvida rapidamente pelo TGI, em um tempo máximo de 2 a 3 horas após a administração de uma dose de 100 mg. A concentração plasmática máxima é de 3 a 4 µg/mL. A absorção do fármaco, por via oral, é quase que completa, e a administração concomitante com alimentos pode diminuir a velocidade, mas não o volume de absorção (BERNAREGGI, 1993).

Após a administração de 100 mg de NMS em voluntários sadios e em jejum, os valores de área sob a curva situaram-se na faixa de 14,65 a 54,09 mg/L.h. Concentrações apreciáveis de NMS, na faixa de 0,12 a 1,31 mg/L, foram encontradas 12 horas após a administração, tempo em que a dose sucessiva é recomendada no esquema de dose múltipla (BERNAREGGI, 1993).

A NMS, assim como outros AINEs, liga-se amplamente a proteínas plasmáticas (95,0%), principalmente a albumina, e tem volume de distribuição aparente estimado de 0,19 a 1,35 L/Kg. A NMS se concentra principalmente no plasma sanguíneo (DAVIS & BROGDEN, 1994).

1.3.3.2 *Metabolismo e excreção*

A NMS é extensivamente metabolizada, apenas 1 a 3% da dose é excretada inalterada na urina, após a administração de uma dose oral de 200 mg de NMS a 8 voluntários sadios. Os metabólitos da NMS são excretados principalmente na urina (70%) e nas fezes (20%), nas formas livres e conjugadas (BERNAREGGI, 1993; NISULID[®], ACHÉ, 2004, BULA). O fármaco é quase que completamente biotransformado a 4-hidroxi-nimesulida, tanto na forma conjugada ou livre, e este metabólito parece contribuir para a atividade antiinflamatória do composto. Picos de concentração de 4-hidroxi-nimesulida, variando de 0,84 a 3,03 mg/mL, são atingidos dentro de 2,61 a 5,33 horas após administração oral de 50 a 200 mg de NMS em indivíduos sadios adultos. A meia vida de eliminação varia de 2,89 a 4,78 horas, sendo semelhante à do composto original (DAVIS & BROGDEN, 1994).

1.3.3.3 *Classificação biofarmacêutica*

A nimesulida pertence à classe biofarmacêutica II, ou seja, apresenta baixa solubilidade aquosa (10 µg/mL) e alta permeabilidade. A solubilidade de um fármaco é determinada pela dissolução da dosagem mais alta de um medicamento em 250 mL de uma solução tampão de pH entre 1,0 e 8,0. O fármaco será considerado altamente solúvel se a dose deste for solúvel num volume de tampão menor ou igual a 250 mL. Já uma alta permeabilidade é quando a biodisponibilidade absoluta é maior que 90% para fármacos estáveis no trato gastrointestinal (AMIDON *et al.*, 1995). Esses fatores são fundamentais no processo de absorção e, conseqüentemente, na biodisponibilidade de fármacos, uma vez que a velocidade de dissolução é diretamente proporcional à solubilidade. Portanto, a velocidade de dissolução é etapa limitante da absorção para fármacos de classe II (GALIA *et al.*, 1998; ANSEL *et al.*, 2000). Já a permeabilidade é fundamental nos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco.

1.3.3.4 *Formas farmacêuticas*

No mercado brasileiro, a nimesulida é encontrada nas seguintes formas farmacêuticas: comprimidos (100 mg), comprimidos dispersíveis (100 mg), granulados (100 mg / 2 g), gotas (na forma de soluções orais e suspensões 50 mg/mL) e suspensões (10 mg/mL). Atualmente, existem 4 formulações de nimesulida sob a forma de suspensão oral no comércio nacional (DEF 2005/2006).

Vale observar que monografias oficiais para este fármaco só são encontradas na Farmacopéia Brasileira IV, sob a forma de matéria prima e comprimidos, sendo que para este último não consta a metodologia para o ensaio de dissolução.

Dessa forma a finalidade e relevância do trabalho é o desenvolvimento de uma metodologia de dissolução adequada as suspensões de NMS, que talvez possa vir a ser aplicado a outras formas farmacêuticas desse fármaco.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Desenvolver e avaliar a aplicabilidade de um método de dissolução para suspensões de nimesulida que possa ser utilizado no controle de qualidade do produto.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a qualidade de suspensões de nimesulida presentes no mercado nacional quanto aos aspectos de distribuição granulométrica do fármaco, viscosidade, densidade, teor, pH e potencial zeta.
- Validar método cromatográfico e método espectrofotométrico alternativo para análise quantitativa de NMS a ser utilizado nos ensaios de dissolução.
- Determinar se as suspensões de NMS apresentam parte do fármaco dissolvido no veículo dos produtos.
- Relacionar as características determinadas para as suspensões com o comportamento observado nos ensaios de dissolução.

MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Equipamentos e acessórios

- Agitador de balões (Shaker) ENDOLAB;
- Analisador do tamanho de partículas por difração a laser SHIMADZU – modelo SALD 2101;
- Balança analítica METTLER TOLEDO – modelo AG204;
- Centrífuga HERMLE – modelo Z200A
- Coluna SHIM-PACK® CLC-ODS (M), 5 µm e 25 cm, nº de série 4256969;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência WATERS – bomba modelo 510, detector de UV modelo 486 e integrador modelo 746;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência SHIMADZU – bomba modelo LC-10AD VP, auto injetor modelo SIL-10AD VP, detector de arranjo de fotodiodos modelo SPD-M10A VP e sistema de dados (software) modelo CLASS –VP versão 6.1;
- Destilador QUIMIS;
- Dissolutor VANKEL, modelo VK7010;
- Eletrodo DIGIMED, tipo DME-CV1;
- Espectrofotômetro SHIMADZU UV, modelo 2401PC;
- Espectrofotômetro VARIAN UV-VIS, modelo CARRY 50;
- Placa aquecedora com agitação CORNING;
- Ponto de Fusão BÜCHI, modelo B-540
- Potenciômetro METTLER TOLEDO, modelo MPC 227;
- Titulador automático METTLER, modelo DL 25;

- Ultra-som THORNTON, modelo T14;
- Unidade Filtrante descartável, 0,45 µm de poro, MILLIPORE;
- Viscosímetro BROOKFIELD, modelo DV-II, agulha 2 série LV;

3.1.2 Reagentes

- Acetona (VETEC) p.a.;
- Acetonitrila para CLAE (TEDIA);
- Ácido acético glacial para CLAE (TEDIA);
- Ácido clorídrico (VETEC) p.a.;
- Biftalato de potássio (MERCK);
- Brometo de potássio (REAGEN);
- Diidrogeno fosfato dissódico (MERCK) p.a.;
- Diidrogeno fosfato de potássio (VETEC) p.a.;
- Diidrogeno fosfato de sódio monoidratado (VETEC) p.a.;
- Hidróxido de sódio (VETEC) p.a.;
- Lauril sulfato de sódio (SYNTH);
- Monoidrogeno fosfato dissódico (PROQUÍMIOS) p.a.;
- Polissorbato 80 (VETEC);

3.1.3 Produtos farmacêuticos e substância química de referência (SQR)

- Produto RA (Nisulid[®]): suspensão de nimesulida 10mg/mL, fornecida pela Indústria Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., lote 41133, fabricada em novembro de 2004 e válida por 2 anos.

- Produto TS: suspensão de nimesulida 10mg/mL, fornecido por indústria farmacêutica da Região Sudeste, lote 501, fabricada em março de 2005 e válida por 2 anos. Divulgação de marca não autorizada.
- Produto TC (Nimesulin[®]): suspensão de nimesulida 50mg/mL, fornecida pela Indústria Cifarma Científica Farmacêutica Ltda., lote 013, fabricada em fevereiro de 2005 e válida por 2 anos.
- Produto TB (Fasulid[®]): suspensão de nimesulida 10mg/mL, adquirida no mercado nacional, fabricada pela Bunker Indústria Farmacêutica Ltda., lote 2213, fabricada em outubro de 2004 e válida por 2 anos.
- Nimesulida substância química de referência (SQR), fornecida pela mesma indústria doadora do produto TS, marca SIGMA-ALDRICH , teor de 100,6%, lote 012K1278 e validade até 31/12/2006.
- Nimesulida matéria-prima (padrão de trabalho), fornecida pela mesma indústria doadora do produto TS e da SQR, lote 0500001018 e validade até 30/11/2009.

3.1.3.1 *Composição qualitativa das suspensões*

Produto RA: ácido cítrico, metilparabeno, propilparabeno, citrato de sódio, laurilsulfato de sódio, sorbitol, água purificada, aroma de morango, corante vermelho 40, goma xantana e sacarose.

Produto TS: ácido cítrico anidro, metilparabeno, propilparabeno, citrato de sódio, laurilsulfato de sódio, sorbitol, água purificada, aroma de morango, goma xantana e sacarose.

Produto TB: excipientes não indicados na bula onde consta a seguinte informação: “Atenção, este produto é um medicamento de recente desenvolvimento e embora as pesquisas realizadas tenham indicado eficácia e segurança quando corretamente indicado, pode causar reações adversas imprevisíveis ainda não descritas ou conhecidas, em caso de suspeita de reação adversa, o médico responsável deve ser notificado.”

Produto TC: metilparabeno, propilparabeno, citrato de sódio, polissorbato 80, sorbitol 70%, água purificada, álcool etílico, goma xantana, sacarina, ciclamato, sacarose e essência de baunilha.

3.1.3.2 *Observações Complementares*

A formulação TC se apresenta sob a forma farmacêutica de suspensão oral para administração em gotas, por isso sua concentração é diferente das demais. A empresa fabricante de TC informou que a fabricação da suspensão oral de nimesulida 10 mg/mL (Nimesulin[®]) havia sido suspensa por falta de interesse da indústria e que o produto Nimesulin[®], na forma de gotas, possuía formulação semelhante, sendo apenas alterada a concentração do ativo.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Análise da Matéria-Prima Nimesulida

A análise da matéria-prima nimesulida (NMS) foi feita com o objetivo da mesma ser utilizada como padrão de trabalho, uma vez que não havia padrão farmacopeico disponível no início do projeto. Os testes realizados para assegurar a qualidade da matéria-prima foram: identificação por espectrofotometria no infravermelho, perda por dessecação, ponto de fusão e doseamento (F. Bras. IV, 2002a).

3.2.1.1 *Identificação por espectrofotometria no infravermelho (IR)*

Foram preparadas pastilhas de NMS em brometo de potássio (KBr), na proporção de 1% (p/p), sendo 3 unidades com a matéria-prima em questão e 3 unidades com a NMS SQR, as quais foram levadas ao espectrofotômetro de infravermelho, realizando-se varredura do espectro entre 400 e 3800 cm^{-1} .

3.2.1.2 *Perda por dessecação*

Foi seguido o procedimento geral descrito na Farmacopéia Brasileira IV (1988b). As análises foram realizadas em triplicata.

3.2.1.3 *Ponto de fusão*

A amostra foi introduzida em capilar de vidro e levada ao equipamento BÜCHI B-540 para determinação da faixa de fusão pelo método capilar (F. Bras. IV, 1988c).

3.2.1.4 Análise quantitativa (doseamento) por titulação de neutralização

O doseamento de NMS matéria-prima foi realizado por titulação de neutralização com determinação potenciométrica do ponto final, como descrito na Farmacopéia Brasileira IV, com o objetivo de se determinar o teor da mesma para emprego como padrão de trabalho.

Foi preparada uma solução titulante de hidróxido de sódio 0,1 N, sendo aferida antes da titulação das amostras. A aferição foi feita com biftalato de potássio previamente dessecado a 105 °C, por 4 horas, obtendo assim o fator de correção da solução titulante. A titulação das amostras era então iniciada, sendo o ponto final determinado potenciometricamente com eletrodo de membrana de vidro (Digimed DME-CV1).

Foram pesadas, analiticamente, cerca de 240 mg de NMS matéria-prima no copo do titulador automático, onde foram adicionados 30 mL de acetona p.a.. Realizou-se a agitação prévia da amostra, no próprio equipamento, até completa solubilização da mesma. Foram feitas 5 pesadas da matéria-prima de NMS em dois dias diferentes.

3.2.2 Análise quantitativa de NMS nas suspensões por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A realização desta análise foi baseada no método proposto por Silva (2001) e no método descrito na Farmacopéia Brasileira IV, com a finalidade de determinar o teor das suspensões em estudo.

3.2.2.1 *Estabelecimento das condições cromatográficas*

A análise procedeu-se em cromatógrafo Waters, com injetor manual e em cromatógrafo Shimadzu, ambos providos de detector ultravioleta, sendo o segundo com

arranjo de diodos (PDA). A coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (C_{18}) foi mantida à temperatura ambiente.

Testes preliminares foram realizados para que os parâmetros cromatográficos fossem bem definidos.

3.2.2.1.1 Fase Móvel e Vazão

Três fases móveis foram testadas: $H_2O:CH_3CN$ (50:50) (F. Bras. IV, 2002b), $H_2O:CH_3CN:HOAc$ (54:45:1) (SILVA, 2001) e $H_2O:CH_3CN:HOAc$ (45:55:1), observando-se os tempos de retenção da substância, número de pratos teóricos e assimetria do pico, além da pressão resultante no sistema. Com o intuito de se obter um sinal cromatográfico adequado, foram testadas duas velocidades de fluxo, 1,2 mL/minuto e 1,5 mL/minuto, levando em conta o tempo de retenção e a pressão no sistema.

3.2.2.1.2 Volume de Injeção e Detecção

O volume de injeção testado foi de 20 μ L, observando-se a integração do pico de NMS e o limite de quantificação.

Foi realizada uma varredura, entre 200 e 400 nm, no cromatógrafo Shimadzu que possui o detector ultravioleta/PDA, com o objetivo de verificar as características de absorção do fármaco no UV, para selecionar o comprimento de onda (λ) mais adequado, além de garantir que nenhum excipiente da formulação iria interferir na absorção do fármaco. O diluente das amostras foi a própria fase móvel.

3.2.2.2 Validação do Método

Para validação da metodologia de quantificação de NMS por CLAE, foram realizados os testes que comprovassem a especificidade do método, a linearidade de resposta e a precisão intra e inter-dia.

A validação foi baseada no Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, anexo da RE nº 899, de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2003b).

3.2.2.2.1 Especificidade

É a capacidade que o método possui de medir exatamente o composto desejado na presença de outros compostos (BRASIL, 2003b, RIBANI *et al.*, 2004).

Foi necessário comprovar a capacidade do método em quantificar a NMS, na presença dos demais componentes inerentes à formulação das suspensões.

A especificidade foi medida utilizando o teste de pureza de pico com o auxílio do detector de arranjo de fotodiodos, que tem a capacidade de provar que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente.

3.2.2.2.2 Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (BRASIL, 2003b; RIBANI *et al.*, 2004).

Para linearidade, foram preparadas duas curvas padrão de NMS padrão de trabalho com faixa de concentração de 50 a 400 µg/mL. Em dias diferentes, foram feitas 5 pesadas, cada uma correspondente a um ponto da curva de calibração. Cada ponto foi injetado 5 vezes. A linearidade do método foi determinada pela análise de regressão linear com auxílio do *software* Excel[®] (Microsoft, 2002).

3.2.2.2.3 Precisão do volume de injeção

A precisão de injeção foi avaliada em 5 níveis de concentração: 50, 100, 200, 300 e 400 µg/mL, com cinco réplicas cada. Foi calculado o desvio padrão e o DPR para cada ponto, a partir das áreas obtidas.

3.2.2.2.4 Precisão intra e inter-dia

Para precisão intra e inter-dia foram preparadas soluções com 3 níveis de concentração: baixo (100 µg/mL), médio (200 µg/mL) e alto (300 µg/mL). Tal procedimento foi realizado em dois dias diferentes.

A análise de precisão foi realizada através do desvio padrão (s) e desvio padrão relativo (DPR) dos valores de áreas encontrados (RIBANI *et al.*, 2004).

3.2.2.3 *Preparo das amostras das suspensões*

O conteúdo de 6 frascos da suspensão em análise foi transferido para um becher com magneto, mantendo agitação constante da amostra com o objetivo de homogeneizá-la para a tomada da alíquota.

Para as formulações RA, TS e TB, eram retirados 5,0 mL das suspensões, com a ajuda de uma pipeta volumétrica, sendo essa alíquota transferida para balão volumétrico de 50 mL, ao qual era adicionado o diluente (fase móvel), as pipetas eram rinsadas com a FM devido à viscosidade das suspensões. O balão era levado ao banho ultrassom por 15 minutos e, em seguida, ao agitador por mais 30 minutos, após o qual era avolumado. Uma segunda diluição era realizada de modo a obter concentração final de 0,20 mg/mL.

Para a amostra TC, com concentração de NMS diferente das demais, foi retirada uma alíquota de 3,0 mL, também com pipeta volumétrica, que foi vertida em balão

volumétrico de 100 mL. O processo de agitação da suspensão foi o mesmo já citado. A concentração final dessa amostra foi de 0,15 mg/mL.

Foram realizadas 3 tomadas de amostra diferentes para cada formulação em estudo e todas foram injetadas no cromatógrafo em duplicata.

3.2.2.4 *Preparo do padrão*

Para o preparo da solução estoque padrão de nimesulida, pesou-se, com precisão analítica, quantidade equivalente a 25,0 mg de NMS padrão de trabalho, que foi transferido para balão volumétrico de 25 mL, cujo volume foi completado com a fase móvel, resultando em uma solução a 1,0 mg/mL. Dessa solução foram retiradas alíquotas de 1,0; 5,0 e 3,0 mL para balões volumétricos de 10, 25 e 10 mL respectivamente, a fim de obter uma curva padrão com as seguintes concentrações: 0,10; 0,20 e 0,30 mg/mL. Em todos os dias de análise, uma nova curva padrão de 3 pontos era realizada; cada concentração era injetada 5 vezes no cromatógrafo.

3.2.2.5 *Determinação da quantidade de NMS dissolvida nas suspensões*

Esta análise foi feita após o estabelecimento das condições avaliadas no item 3.2.2.1 e teve como objetivo verificar a quantidade de NMS que se encontrava efetivamente dissolvida nas suspensões.

Também foi preparado um “pool” como o descrito no item 3.2.2.3, empregando-se entretanto, somente 3 frascos.

Amostras de cerca de 10 mL de cada suspensão foram centrifugadas por 10 minutos a 6000 rpm, o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro a vácuo, empregando funil de Buchner, seguido de uma segunda filtração, através de unidade filtrante de 0,45

µm com auxílio de seringa. Após esse processo, retirou-se uma alíquota de 1,0 mL para balão volumétrico de 10 mL que foi avolumado com fase móvel. O número de amostras foi o mesmo do item 3.2.2.3.

3.2.3 Caracterização Geral das Suspensões

Os produtos utilizados no presente trabalho foram caracterizados quanto aos ensaios clássicos para suspensões orais, como determinação de volume, tamanho de partícula, densidade, pH, avaliação reológica e medição do potencial zeta. Como a formulação TC se apresenta para administração em gotas, foi realizado o teste de gotejamento para a mesma.

3.2.3.1 *Tamanho de Partícula*

A avaliação do tamanho de partícula foi realizada utilizando a técnica de difração a laser. Esse método parte do princípio de que o ângulo de difração do laser é inversamente proporcional ao tamanho da partícula por ele incidida, sendo assim, o tamanho de partícula é calculado com base na intensidade de luz recebida pelo detector. Essa técnica é indicada para suspensões, por permitir a recirculação da amostra em frente ao feixe do laser, possuindo a vantagem de ser rápida e ter boa reprodutibilidade (RAWLE, 2004). Nesse cálculo foi empregada a aproximação de Fraunhofer, que assume que todos os tamanhos de partícula espalham a luz com a mesma eficiência e que as partículas analisadas são opacas, não transmitindo assim a luz incidida (MARTIN, 1993b; RAWLE, 2004; AZEMA, 2006).

O equipamento empregado foi Laser Diffraction Particle Size Analyzer – Shimadzu, modelo SALD 2101. Este consiste em uma fonte de raio laser, um conjunto de detecção

(formado por 81 fotosensores e um tubo multiplicador) e um amostrador (célula de recirculação). A faixa de leitura do equipamento é de 0,03 μm a 1000 μm .

3.2.3.1.1 Preparo do meio de dispersão

O meio de dispersão ideal para suspensões é a própria fase externa (RAWLE, 2004). Como isso não foi possível nesse trabalho, o meio empregado para as amostras foi água acidificada (HCl 0,01 N) com adição de polissorbato 80 (poli 80) na concentração de 0,01%. Ao volume de meio preparado, foi adicionada massa de NMS equivalente a 10 vezes à concentração de saturação do fármaco ($\pm 10 \mu\text{g/mL}$) com a finalidade de saturar o meio, evitando assim a solubilização de algumas partículas da suspensão. Após agitação em placa por 6 horas, o meio foi filtrado através de papel de filtro, sendo logo em seguida submetido a uma segunda filtração em membrana de 0,45 μm . Foram preparados 15 litros de meio de dispersão para análise das 4 suspensões e da matéria-prima. A escolha do meio foi feita de acordo com a solubilidade da NMS, por ser necessário um solvente onde o fármaco fosse praticamente insolúvel. O uso do tensoativo foi para facilitar a molhabilidade das partículas. O manual do equipamento indica que, quando necessário, sejam adicionados tensoativos até uma concentração de 0,2% (p/V).

3.2.3.1.2 Procedimento

Foram transferidos 4 L do meio de dispersão para o amostrador de líquidos do equipamento. A primeira etapa consistia na leitura do meio, com a finalidade de zerar o equipamento, sendo portanto, utilizado como branco. Foram adicionados em torno de 1,2 a 1,5 mL da suspensão ao meio de dispersão sob agitação e, em seguida, era ligado o ultrassom para dispersão das partículas.

As suspensões eram adicionadas gota a gota, com o auxílio de uma pipeta de 2 mL graduada, até ser obtida uma absorvância entre 0,1 e 0,2. A partir desse ponto, iniciava-

se a leitura automática da difração do laser, sendo cada leitura finalizada após 5 minutos. O gráfico fornecido pelo equipamento apresenta a distribuição granulométrica normalizada pelo diâmetro das partículas em μm .

3.2.3.2 *Densidade*

Esse ensaio foi realizado empregando-se o método do picnômetro (F. Bras. IV, 1988d).

3.2.3.3 *pH*

O pH das suspensões foi determinado através de potenciômetro (Mettler Toledo, modelo MPC 227), previamente calibrado com soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0 (Merck reagentes), à temperatura ambiente.

3.2.3.4 *Avaliação Reológica*

As suspensões tiveram suas características reológicas avaliadas com auxílio de viscosímetro rotacional da marca Brookfield, modelo DV-II. A agulha (spindle) empregada foi a de número 2 da série LV por se mostrar a mais eficaz para as suspensões em estudo. Os viscosímetros rotatórios baseiam-se na resistência ao fluxo observado quando um corpo rotatório gira imerso em um líquido ou semi-sólido. A grande vantagem desses instrumentos é a ampla faixa de velocidade de cisalhamento, que permite a obtenção de forma direta da curva de cisalhamento (AULTON, 2005; BROOKFIELD, 2005).

A temperatura ambiente do laboratório se manteve constante durante toda a análise, em torno de 23,0 °C, e as amostras apresentaram temperatura de 24,0 °C durante toda a análise.

Foram feitas dez leituras em cada velocidade (0,3; 0,6; 1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 30,0 e 60,0 rpm), com intervalo de 30 segundos entre as mesmas. Realizaram-se essas leituras tanto no sentido crescente das velocidades quanto no decrescente. A cada mudança de velocidade, foi esperado um minuto para estabilização do sistema. As medidas de viscosidade fornecidas pelo equipamento foram obtidas em centipoise (cps).

3.2.3.5 *Potencial Zeta*

O potencial zeta tem como objetivo avaliar a estabilidade das suspensões, e pode ser medido pela técnica de microeletroforese. Esta teoria envolve a medida da velocidade do deslocamento de partículas individuais em suspensão (MARTIN, 1993a; NETZ & ORTEGA, 2002).

3.2.3.5.1 Preparo das amostras

As amostras para leitura, no equipamento Zetasizer 3000 Hs Malvern Instrument, foram preparadas da seguinte maneira: 5 mL das suspensões RA, TS e TB foram retiradas com seringas e transferidas para balões de 50, 100 e 200 mL. Para a formulação TC, foi retirado 1 mL, também com seringa. Os balões foram avolumados com água destilada, pois o diluente deve ser o mais próximo possível da fase contínua da amostra. Essas diluições foram escolhidas, uma vez que proporcionavam um Kcps (medida de concentração do equipamento em counts per second) adequado entre 10 e 500.

3.2.3.5.2 Procedimento

As medições foram feitas na célula microeletroforética do equipamento. As amostras foram injetadas no circuito do equipamento com seringas de 5 mL. Este era previamente acondicionado com a própria amostra. Entre cada medida, o circuito era lavado com água destilada por 5 vezes, com auxílio de seringa.

3.2.3.6 Teste de gotejamento para suspensão administrada em gotas

Este teste somente foi realizado para a formulação TC, com o objetivo de verificar quantas gotas equivalem a 1 mL da suspensão, qual a quantidade de fármaco por gota para o produto e a uniformidade de gotejamento.

Em primeiro lugar, determinou-se a densidade da suspensão e, em seguida, o peso de 20 gotas da formulação, com dez replicatas obtidas a partir de 10 frascos. O gotejamento foi realizado com o frasco invertido, na posição vertical, ou conforme o ângulo de gotejamento indicado pelo fabricante. Esses dados permitem calcular a quantidade de gotas/mL (Gr), através da equação abaixo:

$$Gr(\text{gotas} / \text{mL}) = \frac{20 \times d}{P} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde: d é densidade (g/mL)

P é o peso, em gramas, das 20 gotas

O segundo passo é calcular o teor real do fármaco em mg/gota (ti), em cada réplica de pesagem das 20 gotas, de acordo com a fórmula:

$$ti = \frac{Tr}{\text{gotas} / \text{mL}} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde: Tr é o teor obtido no doseamento (mg/mL)

Por fim, é calculado o valor percentual do teor real por gota sobre o declarado pelo fabricante, empregando a equação 8:

$$\% = \frac{ti \times 100}{(Td / Gd)} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde: *Td* é o teor declarado em mg/mL
Gd é o número de gotas que equivalem a 1 mL da suspensão declarado pelo fabricante.

A uniformidade e conformidade do gotejamento estão de acordo, quando os resultados obtidos se encontram dentro da faixa de 85,0 a 115,0%, com DPR menor que 6% (F. Bras. IV, 2006).

3.2.4 Dissolução das Suspensões de NMS

A cinética de dissolução das suspensões de NMS foi realizada em dissolutor de cubas Vankel, empregando as pás, com os seguintes meios: suco entérico simulado pH 6,8, tampão fosfato pH 7,4 e água, acrescidos dos tensoativos sintéticos, polissorbato 80 ou laurilssulfato de sódio. A escolha dos meios levou em conta trabalhos anteriores (SILVA, 2001; OLIVEIRA, 2003), onde se considerou o pKa da NMS, sua solubilidade nos meios e seu local de absorção no organismo. Os tensoativos e suas concentrações, também se basearam nos mesmos estudos mencionados, e em um levantamento realizado nas Farmacopéias Brasileira, Americana e Britânica quanto ao tipo de tensoativo mais usual nas monografias.

3.2.4.1 Meios de Dissolução

Os meios de dissolução empregados foram:

- Suco entérico simulado sem enzimas (SES) pH 6,8 com poli 80 a 1,0 e 1,5%;
- Suco entérico simulado sem enzimas (SES) pH 6,8 com LSS a 0,5%;
- Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%;
- Solução aquosa de LSS a 1,0% (pH 7,38).

O meio SES pH 6,8 e o meio tampão fosfato pH 7,4 foram preparados de acordo com a Farmacopéia Americana (USP 29, 2006b). A quantidade de tensoativo necessária para se obter a concentração desejada era adicionada ao meio após o ajuste do pH, o qual era conferido após a adição do aditivo e não mostrou alteração.

O meio SES pH 6,8 com LSS foi preparado, dissolvendo-se 49,0 g de diidrogeno fosfato de sódio monoidratado e 42,0 g de monoidrogeno fosfato dissódico em 6000 mL de água destilada. O pH era então ajustado com NaOH 1 N ou HCl 1 N para $6,8 \pm 0,1$, e o volume completado a 7000 mL com água destilada (MORITA, 2001). A quantidade de LSS necessária para obter a concentração de 0,5% p/v foi incorporada à solução após o ajuste do pH e antes de completar o volume final. O preparo do SES foi modificado pela substituição de sal de potássio por sais de sódio, devido à incompatibilidade do LSS com o íon potássio, que causava turvação da solução (OLIVEIRA, 2003).

3.2.4.2 *Velocidade de agitação e tipo de agitador*

As velocidades empregadas no estudo foram 25 e 50 rpm. O tipo de agitador utilizado foi a pá ou aparato 2. Essas condições são as recomendadas para o estudo de dissolução para suspensões (SIEWERT *et al.*, 2003; USP 27, 2004).

3.2.4.3 *Tempo de ensaio e coleta das amostras*

Para formulações de liberação imediata, recomenda-se um tempo de dissolução de até 60 minutos (FORTUNATO, 2005). Neste estudo, foi considerado um tempo superior com o objetivo de se fazer uma análise mais detalhada da liberação de NMS das suspensões. O ensaio de dissolução para as formulações RA, TS e TB teve duração máxima de 3 horas na velocidade de agitação de 25 rpm e de 1:30 horas em 50 rpm. As alíquotas foram retiradas nos seguintes períodos de tempo: 5, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Para a formulação TC a duração máxima foi de 5 horas na velocidade de 25 rpm e de 3 horas em 50 rpm, sendo as alíquotas retiradas nos seguintes tempos: 5, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 e 300 minutos, para análise quantitativa da NMS dissolvida.

3.2.4.4 *Realização do ensaio*

O meio de dissolução pronto era pré-aquecido em placas de aquecimento até 38 °C, uma vez que sempre há perda de calor na transferência para as cubas, e esse procedimento agilizava o tempo de análise. Após a transferência do meio para as cubas, com auxílio de uma proveta de 1000 mL, o mesmo era submetido ao ultra-som, por cerca de 15 minutos, com o intuito de desaeração, visto que meios contendo tensoativos não são filtrados a vácuo devido à quantidade excessiva de espuma formada (FLISZAR *et al.*, 2005). O estudo era iniciado após a estabilização da temperatura em 37 °C ± 0,5 °C.

As suspensões eram adicionadas com seringa, sendo as mesmas pesadas antes e depois da adição da suspensão, sendo a diferença de peso relacionada com densidade, para cálculo da dose adicionada a cada cuba. As amostras de meio eram coletadas através de cânulas de amostragem manual, nos tempos estabelecidos, o volume coletado era de 5 mL e não houve reposição do meio. O processo de filtração foi realizado

empregando-se os filtros cilíndricos de polietileno de 10 μm acoplados às cânulas e, logo após à coleta era conectado na seringa um filtro de membrana Millex[®] de 0,45 μm . Foi adotado esse sistema devido ao reduzido tamanho de partícula de algumas amostras (Figura 6).



Figura 6 – Ilustração do procedimento de adição das suspensões e coleta das amostras do meio no ensaio de dissolução. (A) seringas numeradas com a suspensão a ser adicionada; (B) adição da suspensão à cuba; cânula, filtros e seringas para coleta manual do meio de dissolução; (C) seringas numeradas acopladas as cânulas com os filtros cilíndricos para a coleta; (D) coleta do meio e (E) filtração imediata do meio através de membrana 0,45 μm .

3.2.4.5 *Análise quantitativa da NMS por espectrofotometria no UV-Vis*

A quantificação de NMS nos meios empregados no ensaio de dissolução foi realizada por espectrofotometria de absorção no UV-Vis, tomando por base as condições descritas na Farmacopéia Brasileira (2002), por Silva (2001) e por Yakabe (1998). Para verificar o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{max.}$), foram feitas varreduras na região do UV e do visível para a NMS em cada meio utilizado.

3.2.4.5.1 Preparo das amostras

Após a coleta das amostras, foram retiradas alíquotas de 1,0 mL e diluídas a 10 mL em balão volumétrico, onde foi adicionado 1 mL de hidróxido de sódio 1 N; o volume então era completado com o meio de dissolução.

3.2.4.5.2 Curva Padrão

A cada dia de análise, realizava-se uma curva padrão para boa execução dos procedimentos, além da avaliação da qualidade do sistema.

Em primeiro lugar, era preparada solução estoque de nimesulida. Eram pesados, com precisão analítica, cerca de 25,0 mg de NMS padrão de trabalho com teor de 99,58% e transferidos para balão volumétrico de 50,0 mL, cujo volume era completado com metanol, resultando em uma solução com concentração de 0,50 mg/mL.

A partir desta solução estoque eram retiradas 5 alíquotas, a fim de se obter uma curva com 5 pontos com as seguintes concentrações: 5, 10, 15, 20 e 30 µg/ml. Hidróxido de sódio 1 N era adicionado de modo a resultar em concentração final de 0,1 N e o volume de cada balão completado com o meio de dissolução em análise.

3.2.4.6 Validação do método espectrofotométrico

A validação tem o intuito de demonstrar que o método é apropriado à finalidade pretendida. Para a validação de um método de dissolução é importante validar não só a parte da análise quantitativa quanto a parte inerente ao processo de dissolução em si. Essa análise envolve os seguintes critérios: amostragem, seleção de filtros, especificidade, linearidade, precisão, limite de detecção e quantificação e exatidão / recuperação.

3.2.4.6.1 Especificidade / Seletividade

Devido à ausência do placebo das suspensões, a especificidade foi comprovada por 2 maneiras distintas (RIBANI *et al.*, 2004). Primeiro, realizou-se o doseamento das suspensões por espectrofotometria, utilizando como diluente das amostras os meios de dissolução. O resultado foi comparado com o obtido no doseamento por CLAE, descrito no item 3.2.2 (BRASIL, 2003b). Segundo, pelo ensaio de adição padrão, descrito no item 3.2.4.6.3 abaixo, foi confirmada a especificidade do método (RIBANI *et al.*, 2004).

3.2.4.6.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada pela análise de 5 concentrações diferentes de NMS, na faixa de concentração de 5 à 30 µg/mL. Foram preparadas 4 curvas padrão para cada meio, em 4 dias diferentes. A linearidade do método foi determinada pela análise de regressão linear, com o auxílio do software Excel® (Microsoft, 2002).

3.2.4.6.3 Exatidão / Recuperação

A estimativa da exatidão foi realizada pelo método de adição padrão, onde se adicionam quantidades conhecidas da substância de referência do analito a preparações

dos produtos, realizando-se a análise quantitativa do analito (BRASIL, 2003b). Esse método foi selecionado, uma vez que não se possuíam todos os componentes das formulações.

A metodologia foi aplicada aos meios SES com poli 80 a 1,5% e solução aquosa de LSS a 1%.

3.2.4.6.3.1 Procedimento

Primeiramente, preparou-se uma solução padrão, onde foram pesados, com exatidão, cerca de 25 mg de NMS padrão de trabalho e transferidos para balão volumétrico de 50 mL contendo metanol. A partir dessa solução, retirou-se uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 100 mL onde foi adicionado 10 mL de NaOH 1 N, e o volume restante completado com o meio de dissolução, obtendo assim uma solução padrão (SP) final de 50 µg/mL.

O preparo das amostras seguiu o protocolo (vide figura 5); para as formulações RA, TB e TS foram retiradas alíquotas de 3,0 mL de um homogeneizado das suspensões que foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL, onde se adicionou 50 mL de metanol e se completou o volume com o meio de dissolução. Para TC, a alíquota retirada de 3,0 mL foi levada para balão volumétrico de 250 mL com 120 mL de metanol, e o volume restante completado com o meio de dissolução. A partir dessas preparações, foram retiradas alíquotas de 2,0 mL para balões volumétricos de 50 mL que continham 5 mL de NaOH 1 N. O primeiro balão só possuía a amostra, os restantes receberam a adição de padrão em três níveis: 3,0, 5,0 e 10,0 mL da solução padrão descrita acima. Essas preparações foram feitas em triplicata para as 4 formulações estudadas. Todas as amostras foram avolumadas com o meio de dissolução em questão.

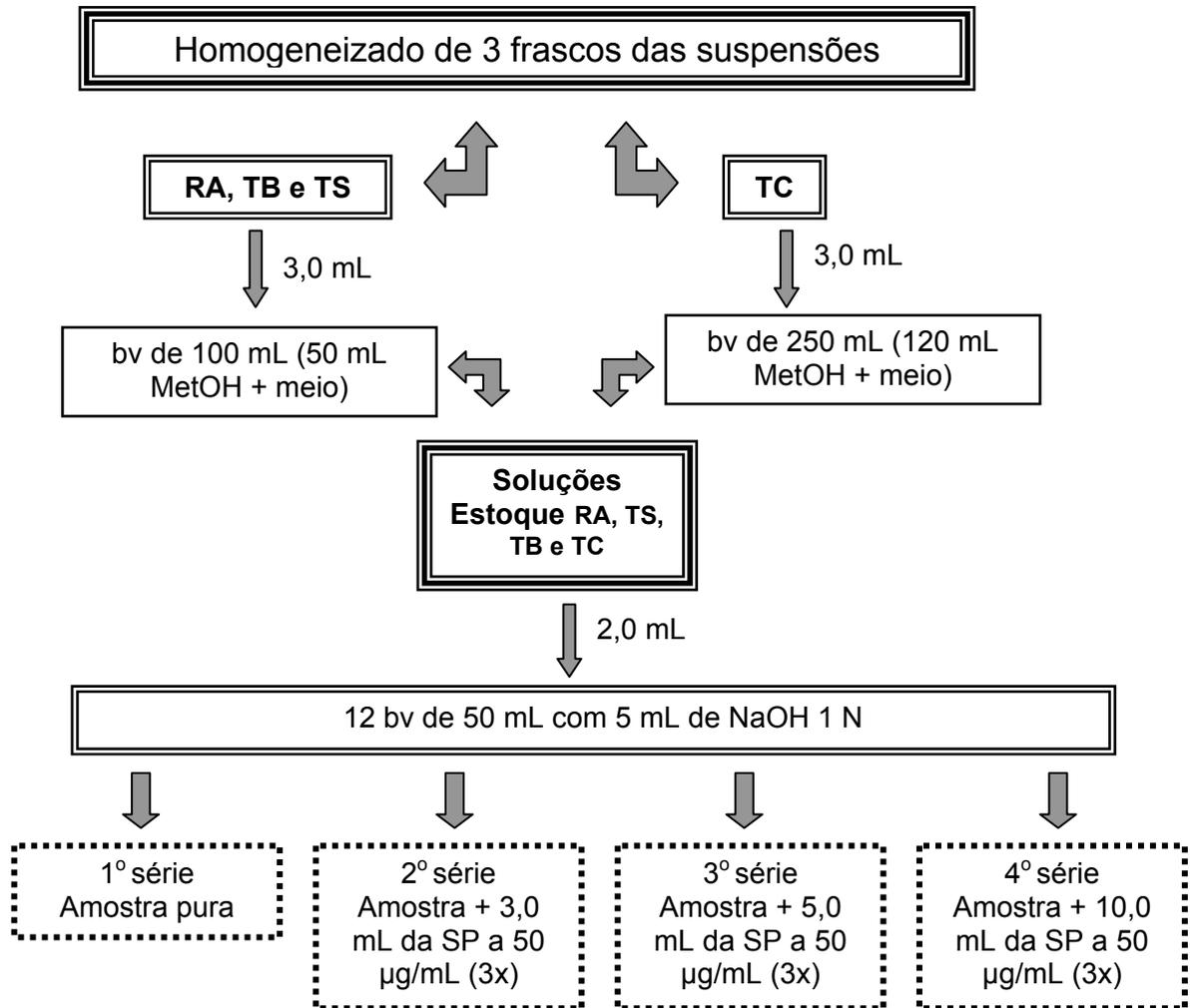


Figura 7 – Esquema do preparo das amostras para determinação da exatidão. Onde: bv = balão volumétrico; SP = solução padrão; 3x = triplicata de preparo.

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro VANKEL 50 UV-VIS, VK750D, onde foram lidas no λ_{\max} de cada meio selecionado. Nesse estudo, foi preparada uma curva padrão com 5 pontos (5, 10, 15, 20 e 30 $\mu\text{g/mL}$), que foi utilizada nos cálculos.

3.2.4.6.4 Precisão

É a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A precisão foi calculada realizando-se o doseamento das suspensões, em triplicata, nos meios SES com pH 6,8 com poli 80

1,5%, solução aquosa com LSS a 1,0% e tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%, e calculando-se o desvio padrão relativo.

3.2.4.6.5 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

O cálculo desses limites pode ser feito pelo método baseado em parâmetros da curva analítica (BRASIL, 2003b; RIBANI *et al.*, 2004).

O limite de detecção foi expresso como:

$$LD = DP_a \times \frac{3}{IC} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde: DP_a é a estimativa do desvio padrão do intercepto com o eixo Y
 IC é a inclinação ("slope") ou coeficiente angular da curva analítica.

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o limite de quantificação, utilizando uma relação 10:1, a partir da equação 11:

$$LQ = DP_a \times \frac{10}{IC} \quad (\text{Equação 11})$$

Os limites foram calculados para todos os meios de dissolução estudados.

3.2.4.6.6 Adsorção aos filtros

A validação desse sistema tem a finalidade de garantir que não vai ocorrer adsorção apreciável do fármaco ao material polimérico do filtro.

O procedimento empregado foi a preparação de duas soluções padrão de NMS nas concentrações de 5 e 15 µg/mL, nos meios solução aquosa de LSS a 1% e SES pH 6,8 com poli 80 1,5%. Foram filtradas 3 alíquotas de 5 mL de cada concentração em cada meio. O processo de filtração foi exatamente o mesmo empregado na dissolução, ou seja, as amostras foram submetidas a um filtro cilíndrico de polietileno com porosidade de 10 µm seguida de uma segunda filtração em filtro de membrana Millex® de 0,45 µm.

As amostras foram lidas no espectrofotômetro UV-Vis, e a avaliação da possível perda do soluto por adsorção ao filtro foi calculada conforme a equação 9 abaixo:

$$\frac{LNF - LF}{LNF} \times 100 < 5\% \quad (\text{Equação 9})$$

Onde: LNF é a leitura de absorvância da amostra não filtrada
 LF é a leitura de absorvância da amostra filtrada

O critério de aceitação para a perda por adsorção é de no máximo 5,0% (LINDENBERG *et al.*, 2005).

3.2.5 Tratamento dos resultados do perfil de dissolução

A Resolução 310 da ANVISA preconiza que a comparação entre os perfis de dissolução seja realizada com base nos fatores $f1$ e $f2$ (BRASIL, 2004). O fator $f1$ é a medida da diferença que é calculado pela Equação 12 abaixo:

$$f1 = \left[\frac{\sum_{t=1}^n |Rt - Tt|}{\sum_{i=1}^n Rt} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 12})$$

Onde: n é o número total de pontos de coleta;
 Rt é o valor de percentual dissolvido em cada tempo para o medicamento referência;
 Tt é o valor de percentual dissolvido em cada tempo para o medicamento teste.

E o fator $f2$ é a medida da semelhança calculada pela Equação 13, descrita a seguir.

$$f_2 = 50 \times \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2}{n}}} \right] \quad (\text{Equação 13})$$

Onde a escala logarítmica é utilizada para normalizar a distribuição.

A comparação entre dois produtos considerados similares deve possuir f_1 menor que 15 e f_2 maior que 50, lembrando que os dois medicamentos devem ser submetidos às mesmas condições de ensaio e com os mesmos tempos de coleta. A sensibilidade do teste diminui fortemente no caso de vários resultados quando comparados na zona de convergência, ou seja, no platô da curva, por isso é necessário que as amostragens sejam feitas entre 30 e 65% do percentual dissolvido (BRASIL, 2004).

3.2.5.1 Modelo de Weibull

A liberação de fármacos, a partir de sistemas de liberação imediata e modificada, tem sido descrita por diversos modelos matemáticos. Nesse estudo, foi aplicado o modelo de Weibull. A equação de Weibull foi adaptada ao processo de dissolução, em 1972, por Langenbucher, podendo então ser aplicada com sucesso a quase todos os tipos de curvas de dissolução (COSTA, 2002).

A regulamentação dos modelos matemáticos empregados no processo de dissolução foi feita pelo FDA que limitou os modelos a um número máximo de 3 parâmetros, citando entre eles o de Weibull, descrito a seguir na equação 14.

$$Q_t = Q_{\max} \times \left(1 - e^{-x\beta} \right) \quad (\text{Equação 14})$$

Onde: Q_t é a quantidade dissolvida num determinado tempo
 Q_{max} é a quantidade máxima a dissolver
 β é o parâmetro da forma da curva
 x , vide equação 15

$$x = (t - t_{lag}) / Td \quad (\text{Equação 15})$$

Onde: t é o tempo amostrado;
 t_{lag} é o tempo de latência
 Td é o parâmetro de escala, tempo necessário para alcançar 63,2% de dissolução do fármaco.

Os cálculos desses parâmetros de regressão não linear do modelo de Weibull foram realizados com auxílio do programa COMSTAT[®], desenvolvido pelo Professor Jean Cumps, na Universidade Católica de Louvain em Bruxelas na Bélgica. Esse programa teve sua robustez demonstrada por Labastie e Cumps (1992) na estimação de modelos em 2 expoentes, sendo eficiente no tratamento de curvas de dissolução.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE DA MATÉRIA-PRIMA NIMESULIDA

A matéria-prima foi aprovada em todos os testes a que foi submetida. Os resultados encontram-se apresentados nas Tabelas 1 e 2. O espectro de infra-vermelho encontra-se inserido no anexo 1.

Tabela 1 – Caracterização da matéria-prima de NMS de acordo com a F. Bras. IV (2002a)

Testes Realizados	Resultados	Especificação
Identificação por IR	Positiva	De acordo com NMS SQR
Ponto de Fusão	149,3 - 150,7°C	cerca de 149 °C
Perda por Dessecação	0,1299%	máximo 0,50%
Cinzas Sulfatadas	0,0002%	máximo 0,10%

Tabela 2 – Análise quantitativa (doseamento) da matéria-prima de NMS por titulação de neutralização.

Dia	%	média ± dp	DPR
1° n = 5	99,42	99,11 ± 0,246	0,25%
	99,01		
	98,84		
	98,96		
	99,30		
2° n = 5	100,00	100,05 ± 0,097	0,10%
	100,11		
	100,19		
	100,00		
	99,95		
Geral n = 10		99,58 ± 0,527	0,53%

A Figura 8 mostra a curva obtida durante a titulação alcalimétrica da NMS com a solução titulante de hidróxido de sódio 0,1 N, onde pode ser observado o ponto estequiométrico.

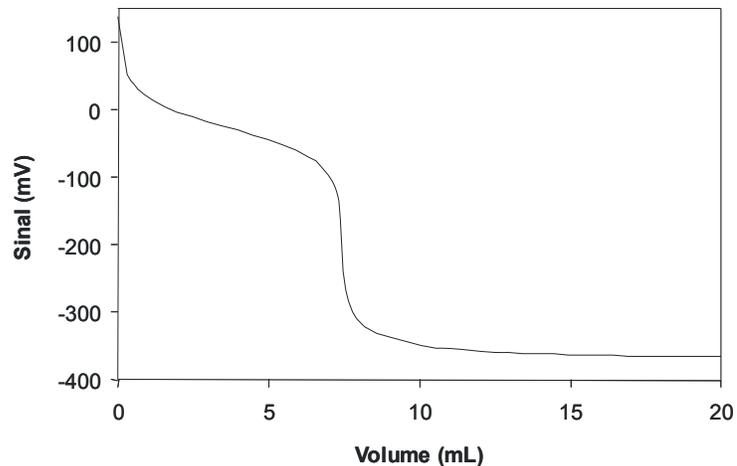


Figura 8 – Curva de titulação potenciométrica do doseamento de NMS matéria-prima com NaOH 0,1 N.

Tendo em vista os resultados satisfatórios na análise da matéria-prima de NMS, esta foi utilizada como padrão de trabalho no decorrido estudo, com pureza estabelecida de 99,58%.

4.1.2 Análise quantitativa de NMS nas suspensões por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

4.1.2.1 Estabelecimento das condições cromatográficas

4.1.2.1.1 Fase Móvel e Vazão

A fase móvel selecionada foi H₂O:CH₃CN:HOAc (45:55:1), por permitir uma boa seletividade, com um tempo de retenção razoável aos propósitos do presente trabalho. A fase móvel H₂O:CH₃CN (50:50), proposta pela Farmacopéia Brasileira IV, não se mostrou eficaz, fazendo com que a NMS interagisse pouco e com dispersão, com a fase estacionária C₁₈ e seu padrão de eluição resultou em assimetria do pico. Esses resultados estão apresentados nas Figuras 9 e 10 a seguir.

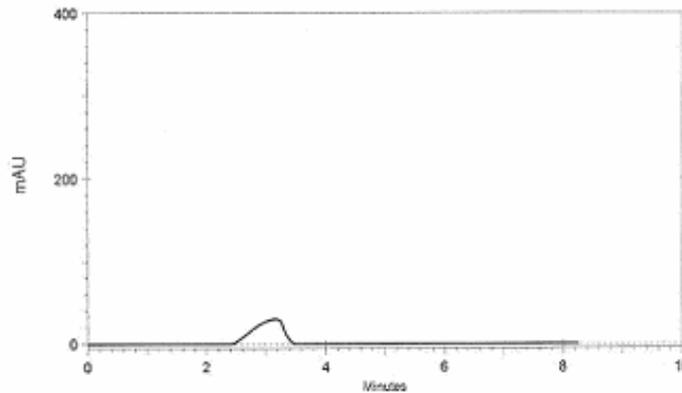


Figura 9 – Cromatograma obtido para NMS empregando as condições da F. Bras. IV (Método para comprimidos) Fase móvel $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}$ (50:50); fluxo 1,2 mL/minuto, coluna C_{18} (25 cm) e concentração da amostra de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

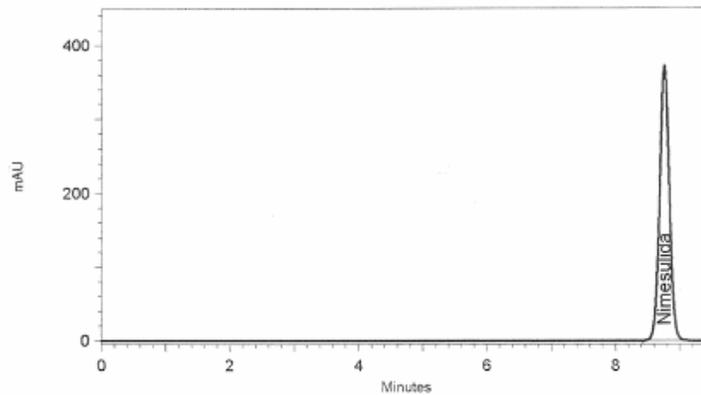


Figura 10 – Cromatograma obtido para NMS empregando as seguintes condições: fase móvel $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}:\text{HOAc}$ (45:55:1); fluxo 1,2 mL/minuto, coluna C_{18} (25 cm) e concentração da amostra de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

De acordo com as figuras acima, conclui-se que a fase móvel acidificada promove uma manutenção da NMS sob a forma de ácido livre, ou seja, protonada, de modo que há maior interação da molécula com a fase estacionária e, por conseguinte, maior retenção, situação que requereu um aumento na proporção de acetonitrila, para que a NMS não tivesse sua retenção superior a 10 minutos.

O fluxo de escolha para a fase móvel foi 1,5 mL/minuto, o que resultou em um decréscimo do tempo de retenção da NMS para 7,3 minutos (Figura 11) e uma pressão do sistema controlada em torno de 2000 psi.

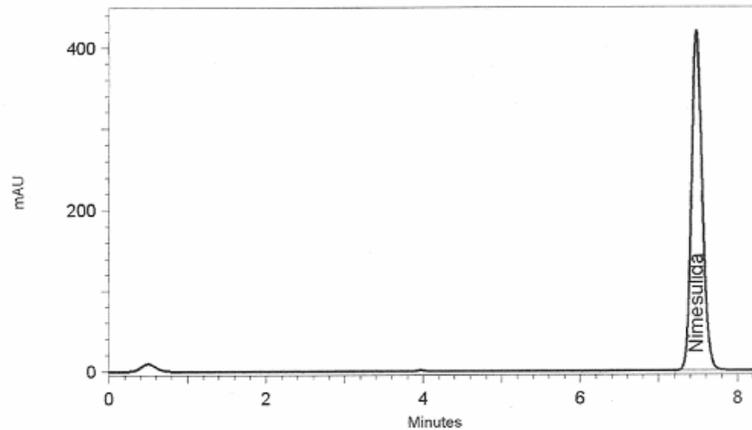


Figura 11 – Cromatograma obtido com a fase móvel H₂O:CH₃CN:HOAc (45:55:1) e fluxo 1,5 mL/minuto.

4.1.2.1.2 Detecção

De acordo com o espectro de absorção no UV-Vis realizado no cromatógrafo provido com detector UV-PDA (Figura 12), selecionou-se o comprimento de onda de 300 nm para obtenção dos cromatogramas para análise quantitativa. Nesse comprimento de onda, não foi observada interferência dos excipientes contidos nas suspensões, além de ser uma região de elevada absorvidade do fármaco.

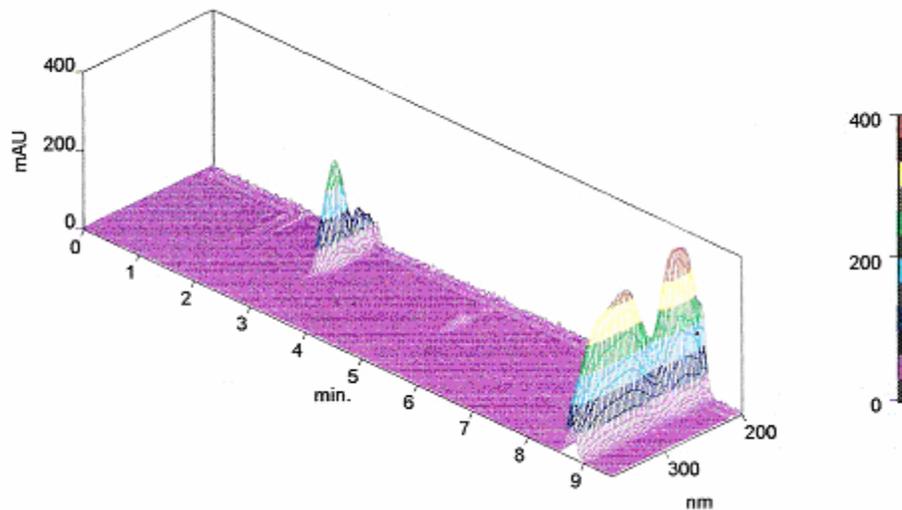


Figura 12 – Cromatograma tridimensional obtido através do detector UV/PDA para uma amostra de NMS suspensão (TS) na concentração de 0,2 mg/mL.

4.1.2.2 Validação do Método Cromatográfico

4.1.2.2.1 Especificidade / Seletividade

Por se tratar de um método cromatográfico, a especificidade foi comprovada com auxílio do software Classe VP do detector de arranjo de fotodiodos do cromatógrafo Shimadzu, que permitiu fazer a análise de pureza do pico de NMS por duas maneiras. A primeira foi por similaridade do pico, ou seja, analisou-se o começo, meio e fim do pico, avaliando o espectro de absorção no UV em cada tempo, o resultado está apresentado na Figura 13. A segunda avaliação da pureza cromatográfica foi feita pela construção de “*radiograms*”, onde é plotada a razão entre as absorbâncias (que deve ser menor que 1) em 2 comprimentos de onda, em função do tempo de corrida. Este tipo de gráfico deve ter a forma retangular, mostrando que a razão é uma constante e evidenciando, assim, a pureza do pico como apresentado na Figura 14 (SNYDER *et al.*, 1997). Esses recursos foram empregados em virtude da indisponibilidade dos placebos das suspensões.

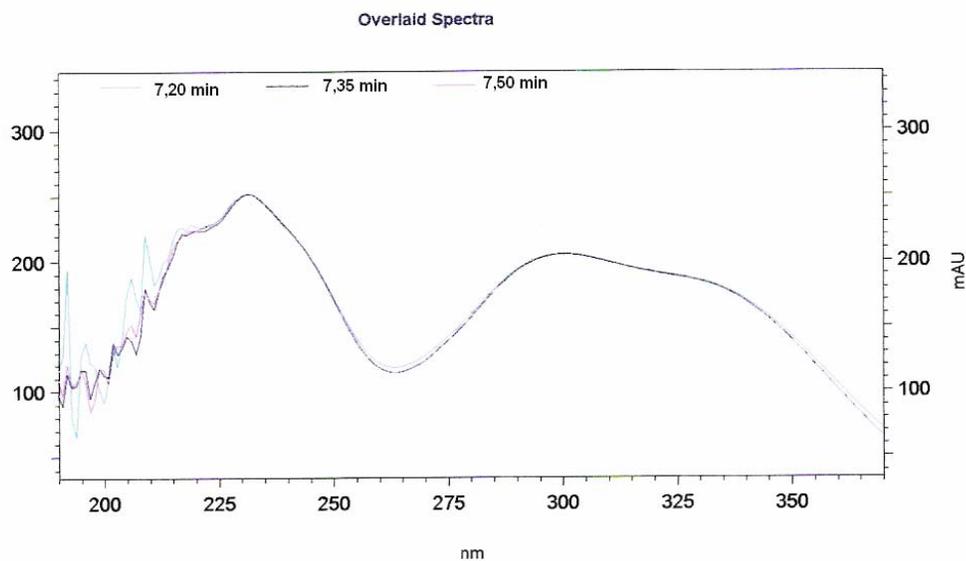


Figura 13 – Pureza Cromatográfica obtida por similaridade.

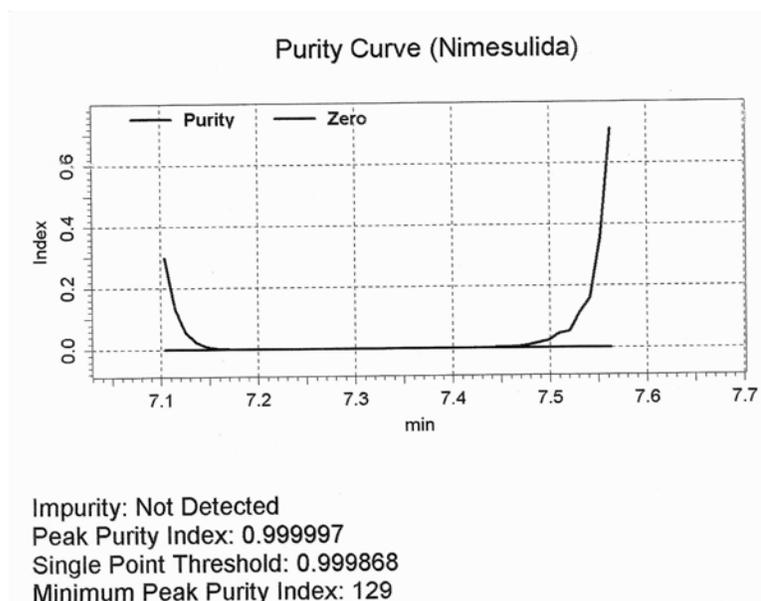


Figura 14 – Pureza Cromatográfica obtida pela razão cromatográfica.

De acordo com as Figuras 13 e 14, pode ser observado que a seletividade / especificidade foi comprovada. Na Figura 13 pode ser visto que o espectro obtido em 7,2 minutos não apresenta diferenças significativas dos espectros obtidos em 7,35 e 7,50 minutos, mostrando a ausência de interferentes. Já na Figura 14, é visto um gráfico do tipo “ratiogram” retangular, mostrando que a razão foi constante e menor que 1, mas maior que o ruído (threshold) comprovando, mais uma vez, a seletividade do método para a NMS.

Por se tratar de uma suspensão com muitos excipientes, foi de grande importância a comprovação da especificidade / seletividade.

4.1.2.2.2 Linearidade

As curvas padrão médias estão representadas na Figura 15.

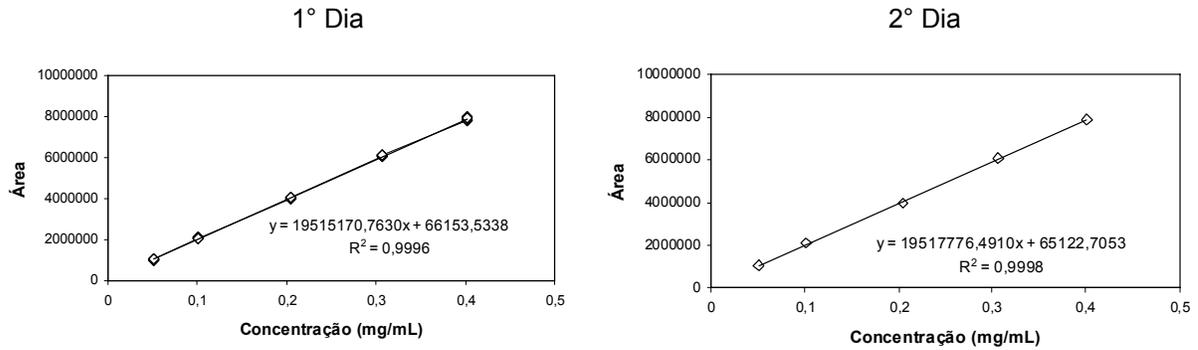


Figura 15 – Curvas Padrão médias do 1° e 2° dia de testes.

Os dados apresentados na Figura 15 estão destacados na Tabela 3, de forma mais detalhada, com o intuito de demonstrar a análise estatística da regressão linear.

Tabela 3 – Análise estatística da regressão linear das curvas padrão.

	Dia 1	Dia 2
a	66153,53	65122,71
b	19515170,76	19517776,49
r^2	0,9996	0,9998
EP regressão	51248,41	45853,85
EP intercepto	19775,61	17693,97
IC intercepto	25244,62 - 107062,44	28519,99 - 101725,42
Valor P - intercepto	0,0028	0,0012
EP inclinação	79369,67	71014,98
IC inclinação	19350982,32 - 19679359,21	19370871,01 - 19664681,97
Valor P - inclinação	$7,72 \cdot 10^{-41}$	$5,97 \cdot 10^{-42}$

EP = Erro padrão

IC = Intervalo de confiança de 95%

A linearidade foi comprovada, pois apesar da análise estatística do intercepto ter resultado em valor significativo, seu valor representa menos de 1,64% da concentração de trabalho. Os valores de inclinação foram significativos e o coeficiente de correlação superior a 0,999, mostrando uma baixa dispersão dos dados (RIBANI *et al.*, 2004; Brasil, 2003).

4.1.2.2.3 Precisão do volume de injeção

Os resultados estão descritos na Tabela 4, tendo sido estabelecidos para 5 diferentes concentrações de NMS.

Tabela 4 – Resultados do teste de precisão de injeção.

Concentração (mg/mL)	Área sob o pico	Área sob o pico média \pm dp	DPR (%)
0,0504	2079061	2080426,2 \pm 1765,7	0,09
	2081003		
	2078099		
	2082034		
	2081934		
0,1004	4137579	4141621,6 \pm 11306,5	0,27
	4153285		
	4153742		
	4128818		
	4134684		
0,2048	8203215	8223931,0 \pm 31767,9	0,39
	8238534		
	8273287		
	8198888		
	8205731		
0,3000	12075119	12091866,6 \pm 31303,4	0,26
	12109154		
	12130170		
	12048795		
	12096095		
0,4016	16186978	16219146 \pm 37874,0	0,23
	16200987		
	16272334		
	16189965		
	16245466		

De acordo com a tabela acima, a precisão do volume de injeção foi demonstrada, uma vez que nenhum dos valores de DPR encontrados foi superior a 2% (USP 29, 2006c). Conclui-se assim que os resultados obtidos foram bem adequados.

4.1.2.2.4 Precisão Intermediária

A precisão foi avaliada segundo os valores do DPR apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados do teste de precisão intra e inter-dia.

Concentração (µg/mL)	Dia	Área sob o pico	Área sob o pico média ± dp	Precisão intra-dia DPR (%)	Precisão inter-dia DPR (%)
50,0	1	1028746	1034221,67 ± 5226,91	0,5054	0,4064
		1039158			
		1034761			
	2	1032553	1035812,67 ± 3875,66	0,3742	
		1040098			
		1034787			
100,0	1	2047341	2084430,67 ± 36360,85	1,744	1,2919
		2085935			
		2120016			
	2	2057334	2080987,67 ± 21884,58	1,052	
		2085113			
		2100516			
200,0	1	3999427	4016276,33 ± 16850,50	0,4196	0,2229
		4016274			
		4033128			
	2	3993521	4005281,33 ± 10326,56	0,2578	
		4009456			
		4012867			
300,0	1	6087201	6098865,33 ± 20720,64	0,3397	0,2302
		6086606			
		6122789			
	2	6089834	6093421,33 ± 6379,56	0,1047	
		6089643			
		6100787			
400,0	1	7819860	7871632,67 ± 87063,73	1,1060	0,7993
		7822888			
		7972150			
	2	7869870	7876934,0 ± 47979,61	0,6091	
		7832878			
		7928054			

Os resultados mostraram que a precisão intra e inter-dia foi satisfatória, uma vez que nenhum dos valores de DPR encontrado foi maior que 2% (RIBANI *et al.*, 2004).

Os resultados da validação da metodologia por CLAE foram bastante satisfatórios. Dessa forma, o método se mostrou eficaz para ser empregado na análise quantitativa de NMS na forma de suspensões.

4.1.2.3 Teor de NMS total e quantidade dissolvida nas suspensões

Os resultados da determinação da quantidade total (teor) de NMS nas suspensões e da quantidade de NMS dissolvida estão expostos na Tabela 6, expressos em porcentual em relação ao declarado.

Tabela 6 – Quantidade de NMS contida e dissolvida nas suspensões.

Produto	Quantidade total (Teor)		Quantidade dissolvida*		
	Média* (%)	DPR (%)	Conc. Média (µg/mL)	Média (%)	DPR (%)
RA	100,19	1,09	3,80	0,038	10,14
TS	99,38	1,08	4,50	0,045	2,65
TB	107,53	0,39	4,90	0,049	6,54
TC	102,84	1,07	1,30	0,013	5,80

*n = 3 para cada teste.

A quantidade de NMS, dissolvida nos diferentes produtos, fornece resultados em µg/mL inferiores à concentração de saturação do fármaco em água (em torno de 10 µg/mL), de modo que se pode inferir a ausência de veículo que favorece a solubilização do ativo nas suspensões em estudo. Logo, mais de 99,0% do fármaco presente nos produtos encontra-se de fato na forma de partículas suspensas.

Como não existe metodologia oficial para NMS suspensões, poder-se-ia considerar a faixa de 90,0% a 110,0% da quantidade declarada de ativo como especificação usual para o teor, de modo que todas as formulações estariam de acordo para este teste.

4.2 CARACTERIZAÇÃO GERAL DAS SUSPENSÕES

4.2.1 Tamanho de partícula

Um dos aspectos que pode alterar a eficácia de uma forma farmacêutica de um determinado fármaco, é o tamanho de partícula do ativo (WANG & FLANAGAN, 1999; WANG & FLANAGAN, 2002; TINKE *et al.*, 2005). Por isso, esse dado é fundamental para a dissolução, uma vez que a área superficial aumenta com a diminuição do tamanho de partícula, e uma maior velocidade de dissolução pode ser obtida, reduzindo-se a granulometria do fármaco. Esse fato é notório quando fármacos, fracamente hidrossolúveis, são administrados na forma micronizada (ABDOU, 1995; CASTELLI, 2003; JINNO *et al.*, 2005).

A técnica empregada para o ensaio do tamanho de partícula foi a de difração a laser, e os resultados obtidos para todas as formulações e a matéria-prima de NMS estão apresentados na Figura 16, através da distribuição de frequência e da curva sigmoideal, traçada com o percentual cumulativo dos tamanhos de partícula. Os resultados apresentados na Figura 16 foram sumarizados na Tabela 7, onde também estão indicados os diâmetros limites superiores para a população porcentual (10, 50 e 90% das partículas) indicado na tabela.

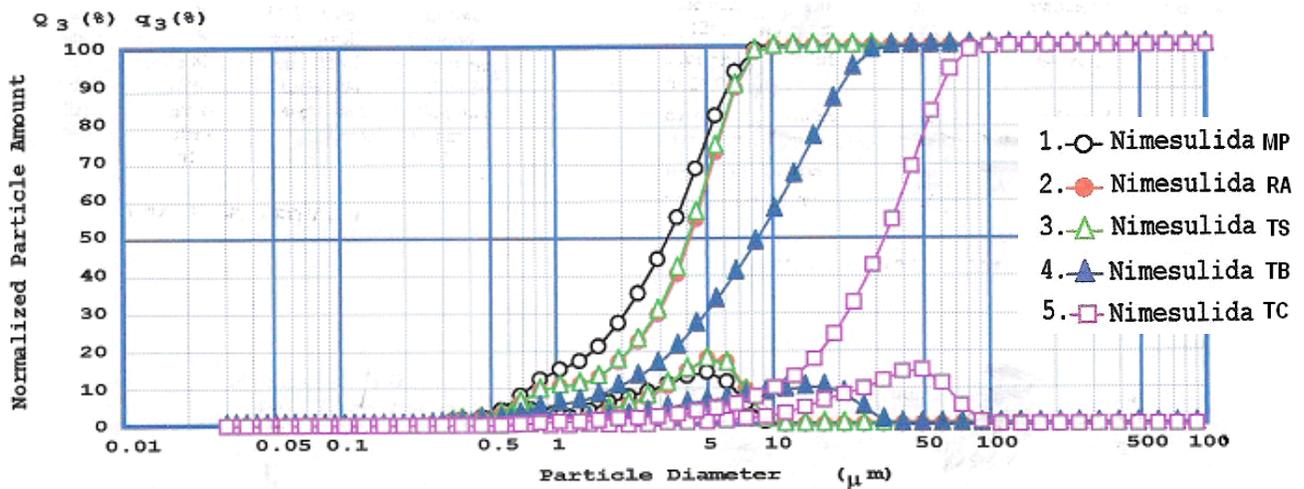


Figura 16 – Distribuição granulométrica normalizada pela quantidade de partículas em função do diâmetro em μm das amostras RA, TS, TB, TC e da matéria-prima.

Tabela 7 – Resumo da distribuição granulométrica das formulações em estudo e da matéria-prima.

Amostras	Diâmetro (μm)					
	Média \pm dp	Mediana	Moda	10%	50%	90%
Matéria-prima	2,732 \pm 0,34	3,305	4,935	0,751	3,305	6,356
RA	3,402 \pm 0,32	4,179	4,935	0,940	4,179	6,879
TS	3,353 \pm 0,32	4,091	4,935	0,948	4,091	6,793
TB	7,192 \pm 0,42	8,692	17,222	1,876	8,692	21,130
TC	27,569 \pm 0,36	33,205	48,794	10,322	33,205	61,710

Pode ser observado que as formulações RA e TS apresentaram distribuição granulométrica semelhante, enquanto TC foi a que apresentou maior tamanho de partícula e a TB possui um tamanho intermediário. Esse fato foi importante, por tornar a formulação uma ferramenta fina que permitirá selecionar métodos de dissolução que se mostrem discriminativos para as suspensões, com diferentes tamanhos de partícula. A matéria-prima apresentou distribuição assemelhada aos produtos RA e TS.

O meio de dispersão empregado nessa análise continha 0,01% de polissorbato 80, mas foi, primeiramente, testado sem a presença do tensoativo, gerando os mesmos resultados expostos acima para as suspensões. Contudo, a matéria-prima de NMS não

apresentou leitura adequada quando dispersa no meio sem tensoativo, uma vez que não apresentava boa molhabilidade, ficando na superfície do líquido, sem recircular para dentro da célula. Optou-se, então, por adotar meio de dispersão com tensoativo para todas as amostras, mesmo para as suspensões que não apresentaram flotabilidade durante o teste. Esse fato ocorreu porque as suspensões RA, TS e TC continham tensoativos na formulação, o que permitia uma adequada molhabilidade das partículas de NMS. Quanto a TB, não havia nenhuma informação na bula do produto a respeito dos excipientes, no entanto, pelos resultados obtidos, ficou evidente que esta formulação também deveria possuir tensoativo.

4.2.2 Determinação de densidade e pH

Os resultados da densidade e dos valores de pH estão expostos na Tabela 8 e foram calculados com o objetivo de serem mais um fator na caracterização dos produtos. Além disso, os valores de densidade foram empregados nos cálculos do teste de gotejamento e no ensaio de dissolução das suspensões.

Tabela 8 – Resultados das medidas de pH e densidade.

Formulação	Densidade (g/mL)	pH
RA	1,1742	5,77
TS	1,1441	5,76
TB	1,0782	5,11
TC	1,1143	4,81

Conforme demonstração, as formulações apresentaram valores semelhantes de densidade. Quanto às medidas de pH, mais uma vez RA e TS forneceram resultados bem próximos, e a formulação TC se distinguiu das demais.

4.2.3 Avaliação Reológica

A avaliação reológica foi mais um recurso empregado com o objetivo de caracterizar as diferentes formulações. O “*spindle*” utilizado no estudo foi do tipo “*disc spindle*”, que não permite o cálculo direto dos valores de velocidade e tensão de cisalhamento. Assim, as curvas de fluxo, que podem ser visualizadas nos gráficos da Figura 17, foram apresentadas plotando-se os valores de viscosidade (cps) *versus* velocidade (rpm) utilizada, enquanto os resultados médios individuais completos estão inseridos no anexo 2.

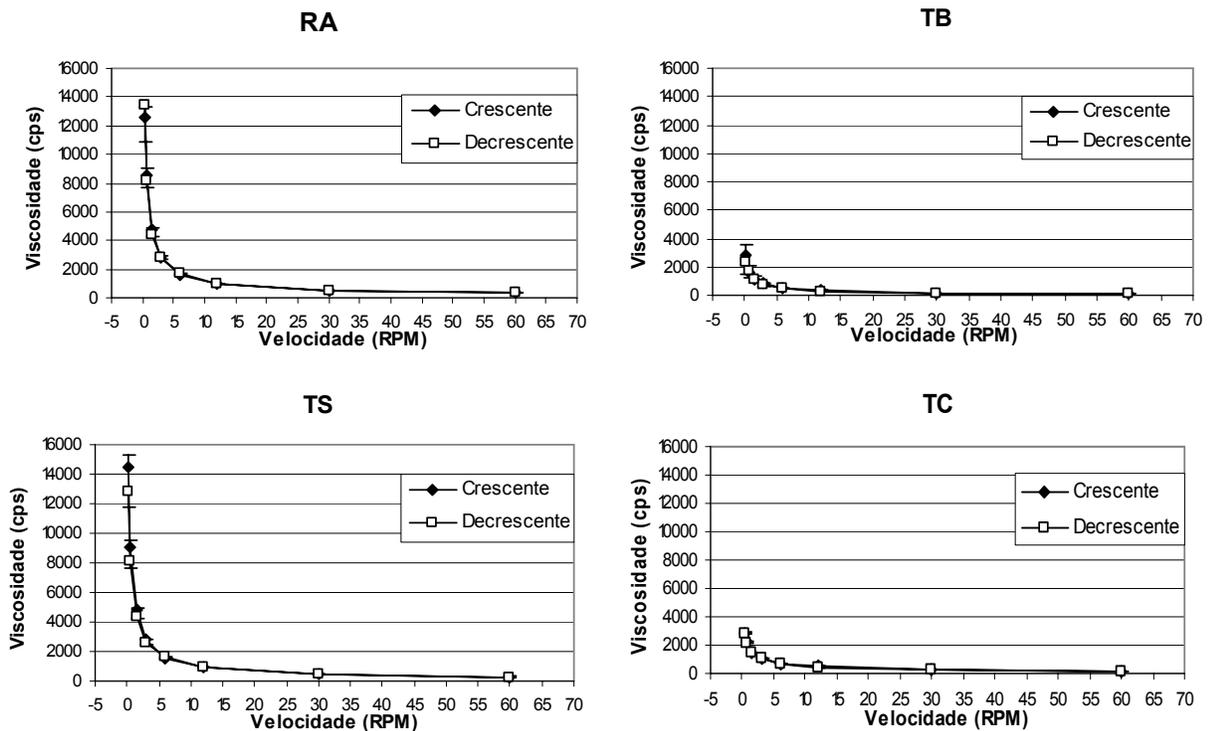


Figura 17 – Reogramas das medidas de viscosidade das suspensões em função da velocidade empregada no cilindro (“*spindle*”).

As propriedades reológicas das suspensões são acentuadamente afetadas pelo grau de floculação, pois a quantidade de fase contínua livre diminui à medida que se torna presa aos flocos dispersos. Conseqüentemente, a viscosidade aparente de uma suspensão floculada é, em geral, maior do que uma suspensão similar porém defloculada.

Em paralelo, foi feita uma análise visual com a finalidade de verificar a sedimentação das suspensões em estudo, o que permitiu as seguintes observações: os produtos TS e RA possuem uma sedimentação extremamente lenta, imperceptível a olho nu, após três meses em repouso. TC já se apresentou sedimentada depois de 24 horas de repouso, enquanto TB apresentou sedimento após 3 dias (Figura 18). Esses dados são resultantes de um efeito sinérgico entre o tamanho de partícula e a viscosidade como mostra a lei de Stokes (Equação 1 – Introdução).

De acordo com o descrito, pode ser observado que TB e TC são as suspensões de menor viscosidade, sendo também as de menor densidade e, ao mesmo tempo, as que apresentam maior tamanho de partícula, o que explica a velocidade de sedimentação mais acelerada dessas formulações frente a RA e TS. Esses aspectos são relevantes uma vez que essas suspensões foram submetidas ao ensaio de dissolução.

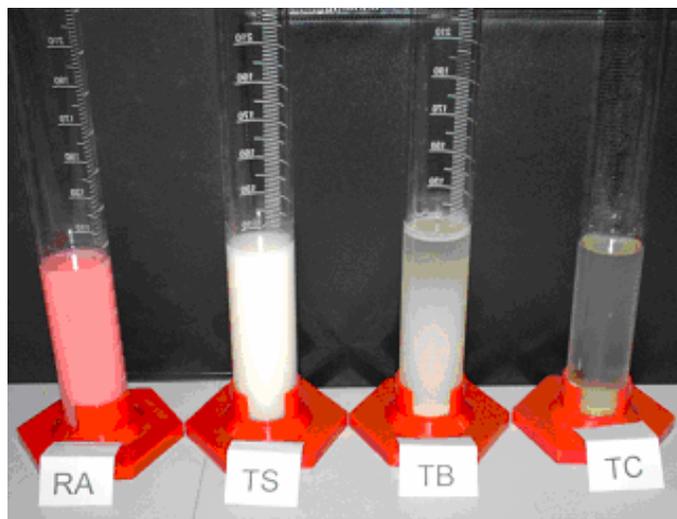


Figura 18 – Aparência das suspensões após 3 meses de repouso.

4.2.4 Potencial Zeta

Os valores do potencial zeta medido nas suspensões, determinados em 2 diluições distintas, empregando água como solvente, estão expostos na Tabela 9. O potencial zeta é a medida que indica o potencial existente na superfície das partículas (REMINGTON, 1995).

Tabela 9 – Potencial zeta (média (mV) \pm dp) obtido para as suspensões de NMS em diferentes diluições em água.

Produto	Diluições empregadas para leitura	
	5:100 (1:100)*	5:200 (1:200)*
RA	-64,27 \pm 3,03	-63,85 \pm 2,33
TS	-69,17 \pm 4,30	-74,97 \pm 9,88
TB	-50,00 \pm 0,44	-54,13 \pm 3,93
TC*	-54,63 \pm 8,11	-41,80 \pm 11,31

De acordo com os resultados observa-se que todas as suspensões apresentaram valores negativos, mostrando que as forças de repulsão estão predominando frente às de atração. Isso é desejado para suspensões farmacêuticas, por evitar a formação de agregados, além de demonstrar a estabilidade das formulações. O potencial zeta é uma ferramenta efetiva no controle do comportamento das partículas, já que indica a interação entre o potencial de superfície e as forças de repulsão entre estas (REMINGTON, 1995; GREENWOOD, 2003).

4.2.5 Teste de Gotejamento

Este teste foi realizado somente para a formulação TC, por ser a única apresentada sob a forma de gotas, com o objetivo de verificar quantas gotas equivalem a 1 mL da suspensão e, por sua vez, comparar o teor real por gota frente ao declarado pelo fabricante. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na tabela abaixo.

Tabela 10 – Resultados do teste de gotejamento (média \pm dp)

Réplica	Peso de 20 gotas (g)	Quantidade de gotas /mL (Gr)	Teor real em mg/gota (ti)	% frente ao declarado ¹	Especificação
1	0,9408	23,69	2,17	86,82	
2	0,9513	23,43	2,19	87,79	
3	0,9327	23,89	2,15	86,08	
4	0,9366	23,79	2,16	86,44	
5	0,9528	23,39	2,20	87,93	De 85,0 a
6	0,9455	23,57	2,18	87,26	115,0% com
7	0,9415	23,67	2,17	86,89	DPR < 6%
8	0,9398	23,71	2,17	86,73	
9	0,9371	23,78	2,16	86,48	
10	0,9502	23,45	2,19	87,69	
Média \pm dp	0,9428 \pm 0,01	23,64 \pm 0,17	2,17 \pm 0,02	87,01 \pm 0,63 DPR = 0,73%	

¹ calculado de acordo com item 3.2.3.6 (materiais e métodos) onde Gr = número de gotas que equivalem a 1 mL da suspensão declarado pelo fabricante, no caso 20 gotas. O fabricante deste medicamento declara que 1 gota equivale a 2,5 mg de NMS.

De acordo com os resultados, observou-se que o teste foi satisfatório, apresentando-se o produto TC dentro de especificação.

4.3 DISSOLUÇÃO DAS SUSPENSÕES DE NMS

4.3.1 Validação do método espectrofotométrico aplicado à dissolução

No processo de dissolução é fundamental que o método empregado seja discriminativo para formulações com características diferentes (HE *et al.*, 2004; BROWN, 2004; JAMZAD & FASSIHI, 2006).

A NMS é por possuir pka 6,5 se encontra parcialmente ionizada nos meios propostos devido ao pH dos mesmos. Em todos os meios testados, a absorção da NMS no UV fornece um espectro com banda de absorção assimétrica, observando-se a interseção entre as curvas de absorção atribuídas às espécies ionizada e não ionizada. Por outro lado, em meio alcalino (pH de \pm 12,0), a NMS encontra-se totalmente ionizada e a banda de absorção é simétrica e bem definida, permitindo uma maior segurança nas

análises. A alcalinização das amostras nos meios selecionados promove o deslocamento do λ_{max} da região do UV, em torno de 300 nm, para a região próxima do visível, aproximadamente 400 nm, pela formação de um produto colorido (YAKABE, 1998; F. Bras. IV, 2002b). A reação que ocorre em meio alcalino e os espectros de absorção encontram-se apresentados nas Figuras 19 e 20.

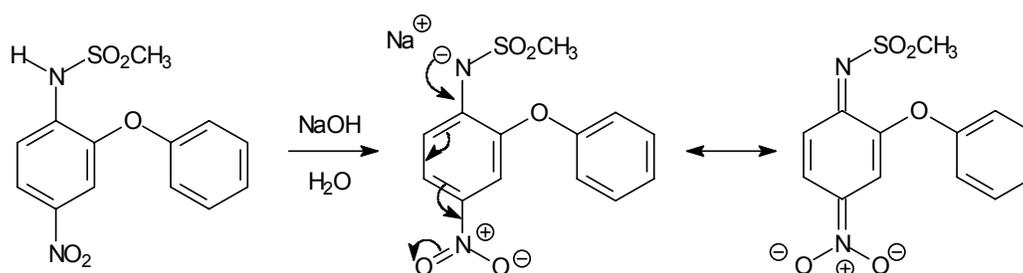


Figura 19 – Mecanismo de formação do produto colorido (amarelo) da nimesulida em meio alcalino (YAKABE, 1998).

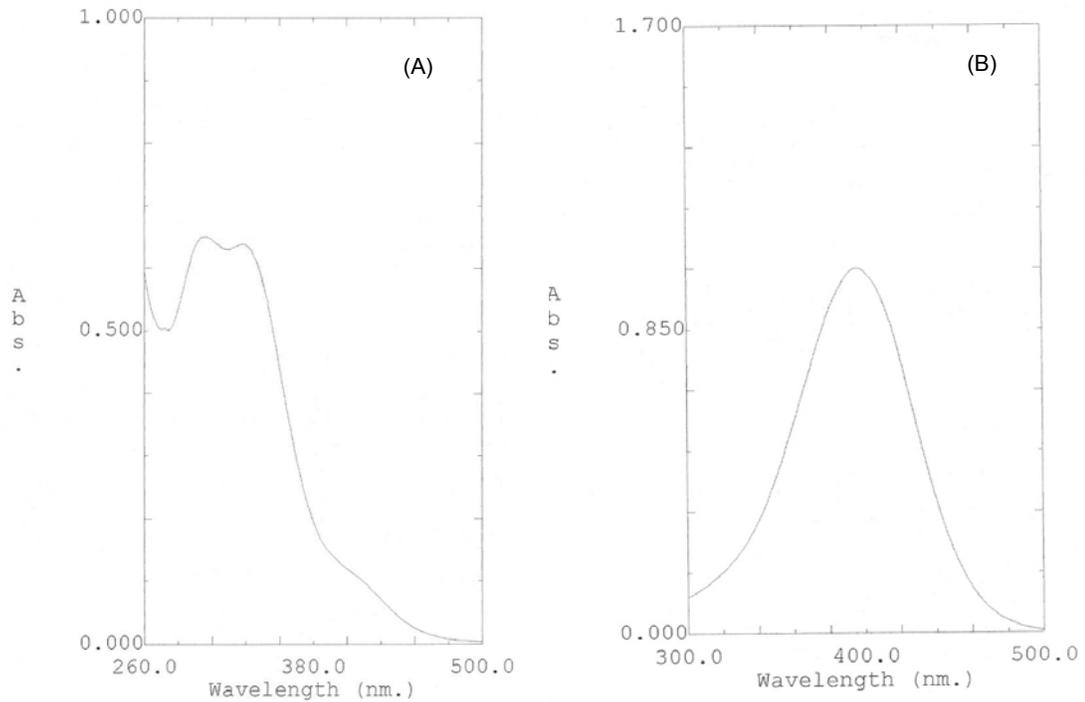


Figura 20 – Espectro de absorção da NMS (20 µg/mL) em meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%; (A) sem NaOH (pH 6,8) e (B) com NaOH (pH 12,0).

De acordo com a Figura 20, pode-se observar, além de um deslocamento batocrômico em função do aumento do comprimento de onda, um deslocamento hiperacrômico devido ao aumento da intensidade de absorção.

A Tabela 11 apresenta os λ_{max} empregados em cada meio de dissolução após alcalinização das amostras.

Tabela 11 – Comprimentos de onda de máxima absorção, obtidos para a NMS, nos meios empregados na dissolução após tratamento das amostras com NaOH 1N.

Meios de dissolução	$\lambda_{\max.}$ (nm)
Solução aquosa de LSS a 1%	395
SES pH 6,8 com LSS a 0,5%	395
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%	397
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%	398
Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%	397

4.3.1.1 Especificidade

A especificidade foi obtida pela comparação entre os resultados obtidos no doseamento da NMS nas suspensões por CLAE e os obtidos por espectrofotometria, onde foram utilizados os meios de dissolução como diluentes das amostras dos produtos (RIBANI *et al.*, 2004). Os resultados estão apresentados na tabela abaixo.

Tabela 12 – Resultados comparativos para o doseamento de NMS nas suspensões por dois métodos diferentes (n=3).

Formulações	Teor (%) por CLAE	Teor (%) por espectrofotometria		
		SES pH 6,8 com poli 80 1,5%	Solução aquosa de LSS 1,0%	Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%
RA	100,19	101,10*	100,58 ^{NS}	100,26 ^{NS}
TS	99,38	99,89 ^{NS}	99,75 ^{NS}	99,46 ^{NS}
TB	107,53	107,21 ^{NS}	106,99 ^{NS}	107,09 ^{NS}
TC	102,84	101,99*	101,76*	101,55*

NS – não difere da média por CLAE

* - difere significativamente da média por CLAE ($p < 0,05$)

De acordo com a Tabela 12, observa-se predominância de resultados que não diferem estatisticamente entre si, quando utilizados diferentes solventes no doseamento de NMS por espectrofotometria, quando comparados com os valores obtidos pelo método referência (CLAE), com exceção da formulação TC, onde os resultados foram

considerados significativamente diferentes ($p < 0,05$) do método controle. A diferença observada, entretanto, é inferior a 1%, e os valores fornecidos por espectrofotometria inferiores ao obtido por CLAE, de modo que não se obteve erro positivo na análise espectrofotométrica por possível interferente e os resultados foram interpretados como satisfatórios quanto à especificidade.

A especificidade foi verificada também quando se avaliou a exatidão, pelo teste de adição padrão. Os resultados deste ensaio estão apresentados nas Tabelas 14 e 15, no item 4.3.1.3. De acordo com eles pode-se observar que há uma recuperação de aproximadamente 100% para todas as formulações alvo do estudo, ajudando a comprovar a especificidade do método, por mostrar a não interferência dos excipientes na absorção da NMS presentes nas suspensões.

O deslocamento do comprimento de onda de máxima absorção pela alcalinização das amostras promoveu a especificidade adequada para utilização da espectrofotometria UV - Vis na dissolução, sem ter que recorrer à cromatografia líquida, o que facilitou o andamento do trabalho. Esse deslocamento também foi interessante para os meios que continham poli 80, pois, de acordo com Wuelfing e colaboradores (2006), esse tensoativo absorve nos comprimentos de onda de 195, 234, 270, 280 e 310 nm, sendo que a cauda de absorção pode se estender até a região do visível, se a concentração do poli 80 for superior a 3%, o que não foi o caso em nenhuma das condições testadas.

4.3.1.2. Linearidade

A linearidade de um método analítico é a habilidade do mesmo de produzir resultados que são diretamente proporcionais à concentração do analito, dentro de uma dada faixa (USP 29, 2006d). Na determinação desse parâmetro, foram utilizadas curvas padrão em 5 níveis preparadas em dias diferentes. Os dados relacionados à linearidade estão expostos na Tabela 13 e na Figura 21.

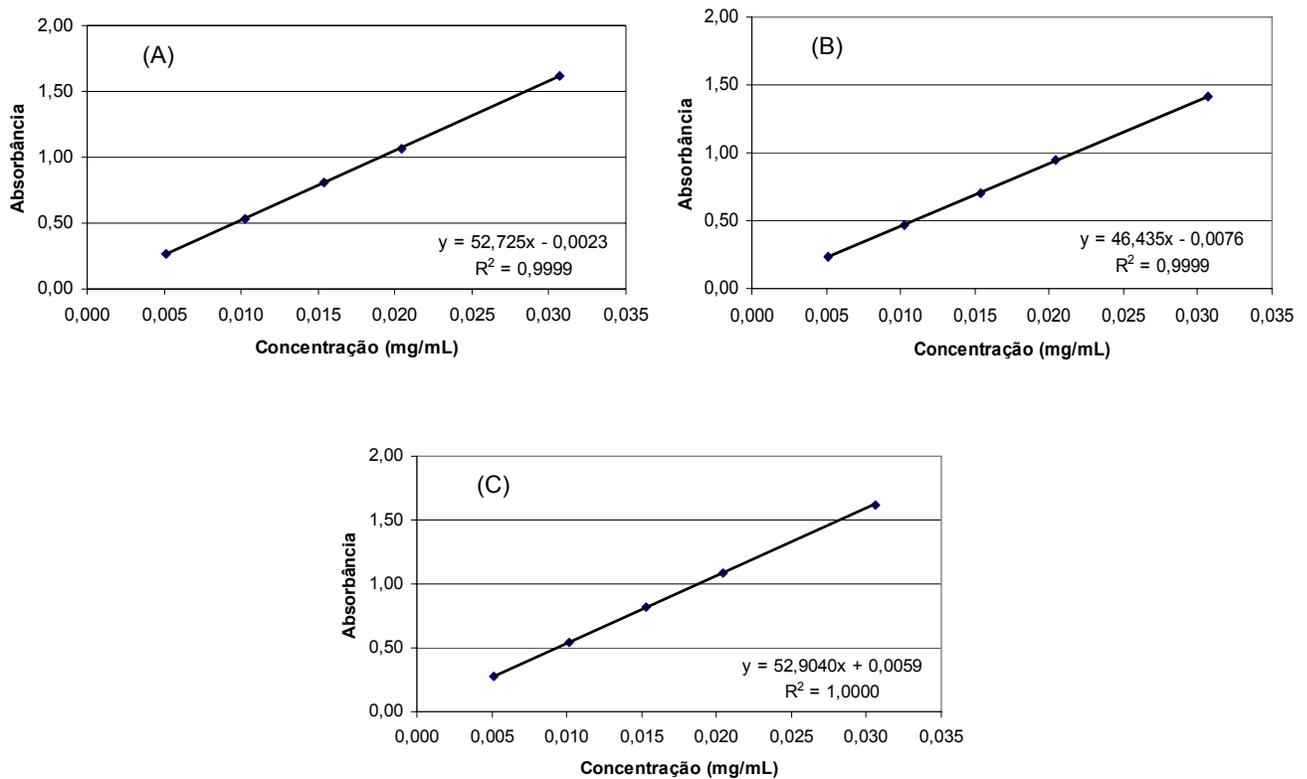


Figura 21 – Curvas Padrão dos diferentes meios, (A) meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%; (B) meio solução aquosa de LSS a 1,0% e (C) meio tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%.

Tabela 13 – Parâmetros médios provenientes das curvas padrão (5 níveis) utilizadas no doseamento por espectrofotometria das suspensões para os diferentes meios (n = 2).

Meio	Intercepto	Inclinação	Coefficiente de correlação
SES pH 6,8 com poli 80 1,5%	0,0106 ± 0,0079	50,80 ± 0,0137	0,9999 ± 0,0001
Solução aquosa de LSS 1,0%	0,0028 ± 0,0030	46,22 ± 0,0082	0,9999 ± 0,0001
Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%	0,0134 ± 0,0103	53,05 ± 0,0796	1,0000 ± 0,0001

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se adequada correlação linear uma vez que os coeficientes de correlação obtidos possuem valores superiores a 0,99 como preconizado pela Resolução 899 da ANVISA (BRASIL, 2003).

4.3.1.3 Exatidão / Recuperação

A exatidão foi calculada pelo procedimento de adição padrão como o descrito em 3.2.4.6.3, porque não se possuía o placebo das suspensões analisadas. Este ensaio foi realizado em 2 meios representativos para cada tensoativo empregado nos estudos de dissolução. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 14 e 15 e referem-se à massa de NMS presente nos balões volumétricos das quatro séries apresentadas em 3.2.4.6.3.1, preparadas a partir das suspensões sem e com adição de padrão em três níveis: 25%, 42% e 83% da quantidade esperada do fármaco.

O percentual recuperado refere-se à diferença entre a massa total de fármaco determinada pela análise subtraído da quantidade de NMS presente na amostra sem adição de padrão em relação às quantidades adicionadas, indicadas na primeira coluna.

Tabela 14 – Ensaio de Recuperação em meio SES, pH 6,8, com poli 80 1,5%.

	Quantidade Adicionada de Padrão (µg)	Quantidade Recuperada Total Massa média (µg) % recuperado ± dp			TC
		RA	TB	TS	
Amostra sem Adição Padrão ^a	-----	585,2	631,37	595,5	620,4
Nível 1 da Adição Padrão ^b	154,8	740,0 100,0% ± 0,01% DPR = 0,01%	786,1 100,0% ± 0,00% DPR = 0,00%	750,0 99,9% ± 0,09% DPR = 0,09%	774,8 99,8% ± 0,11% DPR = 0,11%
Nível 2 da Adição Padrão ^b	257,9	842,5 99,8% ± 0,12% DPR = 0,12%	889,1 99,9% ± 0,05% DPR = 0,05%	852,8 99,8% ± 0,10% DPR = 0,10%	878,0 99,9% ± 0,06% DPR = 0,06%
Nível 3 da Adição Padrão ^b	515,8	1100,2 99,9% ± 0,08% DPR = 0,08%	1146,5 99,9% ± 0,08% DPR = 0,08%	1111,0 100,0% ± 0,05% DPR = 0,05%	1136,2 100,0% ± 0,09% DPR = 0,09%

a = sem réplica

b = triplicata

Tabela 15 – Ensaio de Recuperação em meio Sol. Aq. LSS 1,0%.

	Quantidade Adicionada de Padrão (µg)	Quantidade Recuperada Total Massa média (µg) % recuperado ± dp			TC
		RA	TB	TS	
Amostra sem Adição Padrão ^a	-----	557,0	642,8	566,9	485,8
Nível 1 da Adição Padrão ^b	150,6	705,9 98,9% ± 0,11% DPR = 0,11%	794,5 100,5% ± 0,45% DPR = 0,44%	718,5 100,7% ± 0,21% DPR = 0,21%	665,7 100,0% ± 0,06% DPR = 0,07%
Nível 2 da Adição Padrão ^b	250,9	807,8 99,9% ± 0,05% DPR = 0,05%	896,1 100,9% ± 0,04% DPR = 0,04%	820,0 100,9% ± 0,04% DPR = 0,03%	753,5 100,0% ± 0,30% DPR = 0,31%
Nível 3 da Adição Padrão ^b	501,9	1060,0 100,2% ± 0,00% DPR = 0,00%	1146,3 100,3% ± 0,03% DPR = 0,03%	1068,7 100,0% ± 0,02% DPR = 0,02%	982,8 99,0% ± 0,05% DPR = 0,05%

a = sem réplica

b = triplicata

De acordo com as Tabelas acima, pode-se verificar que a metodologia aplicada é exata visto que os resultados obtidos na recuperação estão dentro da faixa de 98,0 a 102,0% (JENKE, 1996; BRITO *et al.*, 2003).

4.3.1.4 Precisão

A precisão nada mais é do que o grau de concordância entre resultados de medidas independentes, em torno de um valor central, efetuadas várias vezes em uma amostra homogênea. A precisão foi demonstrada com a finalidade de garantir que a análise quantitativa do estudo de dissolução é precisa. Ela foi calculada baseando-se nos valores obtidos no doseamento das suspensões (em triplicata), em alguns meios de dissolução. Os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Resultados da precisão obtidos no doseamento das suspensões nos meios de dissolução empregando a espectrofotometria no UV-Vis.

Formulações	SES pH 6,8 com poli 80 1,5%	DPR (%)	Solução aquosa de LSS 1,0%	DPR (%)	Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%	DPR (%)
RA	100,97	0,118	100,35	0,1842	100,19	0,071
	101,20		100,70		100,33	
	101,14		100,63		100,28	
TS	100,03	0,137	99,66	0,163	99,52	0,066
	99,76		99,96		99,39	
	99,86		99,70		99,44	
TB	107,32	0,099	107,13	0,114	107,21	0,085
	107,16		106,91		107,09	
	107,12		106,93		107,03	
TC	101,88	0,193	101,94	0,137	101,43	0,101
	102,20		101,68		101,64	
	101,84		101,72		101,57	

A precisão do ensaio de dissolução, propriamente dita, engloba a dispersão fornecida pela variabilidade de adição da amostra, do volume do meio de dissolução e da amostragem realizada acrescidos da dispersão do método de análise quantitativa. Estes valores podem ser visualizados nas tabelas constantes no anexo 3.

O método para análise quantitativa das suspensões nos meios de dissolução mostrou-se bastante preciso para as formulações em estudo, uma vez que o desvio padrão relativo foi inferior a 1,0% em todos os casos.

4.3.1.5 Limite inferior de detecção e limite inferior de quantificação

Os resultados para os limites inferiores de quantificação e de detecção estão apresentados na Tabela 17 e foram calculados com base em todas as curvas padrão preparadas para os ensaios de perfil de dissolução.

Tabela 17 – Resultado dos limites de quantificação e detecção obtidos a partir das curvas analíticas. Valores médios de 4 a 8 curvas.

Meios de dissolução	LQ (mg/mL)	Abs teórica LQ	LD (mg/mL)	Abs teórica LD
Sol. Aquosa com LSS 1,0%	0,0017	0,0784	0,0005	0,0080
SES com LSS 0,5%	0,0024	0,1278	0,0008	0,0136
SES com Poli 80 1,0%	0,0015	0,0817	0,0005	0,0078
SES com Poli 80 1,5%	0,0016	0,0890	0,0005	0,0082
Tampão Fosfato com Poli 80 1,0%	0,0028	0,1619	0,0009	0,0162

4.3.2. Adsorção aos filtros

Os filtros utilizados na dissolução foram: filtros de polietileno de 10 μm de porosidade e filtros de membrana Millex® PVDF com 0,45 μm de poro. A especificação para esse teste é de que se tenha um máximo de 2%, segundo Fortunato (2005), e 5% segundo Lindenberg e colaboradores (2005), de perda do soluto por adsorção ao material filtrante. Os resultados estão expostos a seguir na Tabela 18.

Tabela 18 – Medidas da perda de soluto por adsorção no filtro.

	Sol. Aq. LSS 1%		SES Poli 80 1,5%	
	5 $\mu\text{g/mL}$	15 $\mu\text{g/mL}$	5 $\mu\text{g/mL}$	15 $\mu\text{g/mL}$
Média	0,13%	0,07%	0,13%	0,25%
DP	0,04%	0,09%	0,05%	0,02%

Como foi demonstrado, os resultados estão todos abaixo do máximo recomendado, mostrando que os filtros empregados no estudo não implicam em perda do fármaco em análise.

4.3.3 Determinação do perfil de dissolução das suspensões de NMS

Os cálculos do perfil de dissolução foram feitos em função da massa de suspensão adicionada por cuba. A dose de nimesulida foi calculada então para cada cuba, em função da diferença de peso, entre as seringas cheias e vazias relacionada com a densidade da formulação em estudo. Este procedimento foi adotado uma vez que a adição das amostras, feita por meio de seringa, pode apresentar uma considerável fonte de variação, assim como a própria amostra em suspensão pode não se apresentar perfeitamente homogênea. Acrescente-se uma observação importante: nos cálculos da dissolução usualmente emprega-se a dose declarada, mas no caso do produto TB que apresentou

teor de 107,5%, a utilização do valor declarado para o cálculo do porcentual dissolvido implicaria em uma supra-estimação da quantidade dissolvida, ao contrário das demais formulações, assim os cálculos para este produto foram feitos em relação ao teor real obtido no doseamento. A Tabela 19 exemplifica estas considerações; na última coluna está em evidência a diferença de dose que resultaria entre a utilização da concentração declarada e o teor determinado no doseamento. Para o produto TB, a diferença seria superior a 5%, de modo que se optou por considerar a dose adicionada calculada pelo teor.

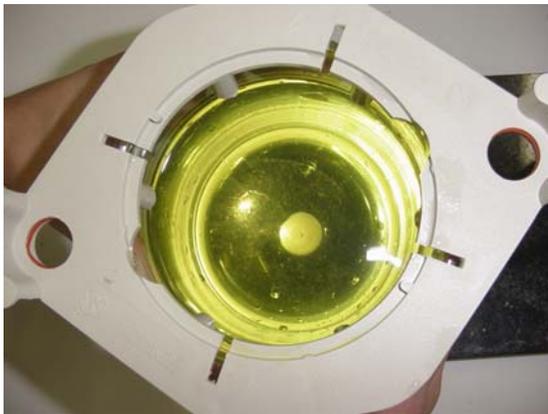


Figura 22 – suspensão de NMS no fundo da cuba

Partindo do princípio de que a dose a ser ensaiada, a qual corresponde a administrada, deveria ser introduzida na cuba da forma mais conjunta possível, isto é, em bloco (introdução imediata), assim padronizou-se uma velocidade de adição rápida e constante com o objetivo de minimizar qualquer variação decorrente desse processo. As formulações RA e TS por possuírem maior viscosidade atingiam o fundo da cuba mais rapidamente quando comparadas a TC e TB.

Tabela 19 – Quantidade média de amostra adicionada às cubas do dissolutor e respectiva dose de nimesulida adicionada, em função da densidade, da concentração declarada e do teor determinado (n = 30)

Produtos	Massa de suspensão média(g)	Densidade (g/mL)	Volume add calculado (mL)	Conc declarada (mg/mL)	Dose add pelo declarado (mg) - A	Teor %	Dose add pelo teor (mg) - B	Diferença A-B
RA	11,83 ± 0,31	1,1742	10,07	10	100,75	100,19	100,94	-0,19
TS	11,78 ± 0,44	1,1441	10,30	10	102,96	99,38	102,32	0,64
TB	10,82 ± 0,27	1,0782	10,04	10	100,35	107,53	107,91	-7,56
TC	2,30 ± 0,06	1,1143	2,06	50	103,20	102,84	106,13	-2,93

Na determinação do perfil de dissolução foram utilizadas duas velocidades de agitação, 25 e 50 rpm, que estão sendo recomendadas para suspensões (SIEWERT *et al.*, 2003; USP 27, 2004). Os resultados da ação das duas velocidades nos meios descritos na dissolução das suspensões estudadas estão expostos nas Figuras 23, 24, 25 e 26.

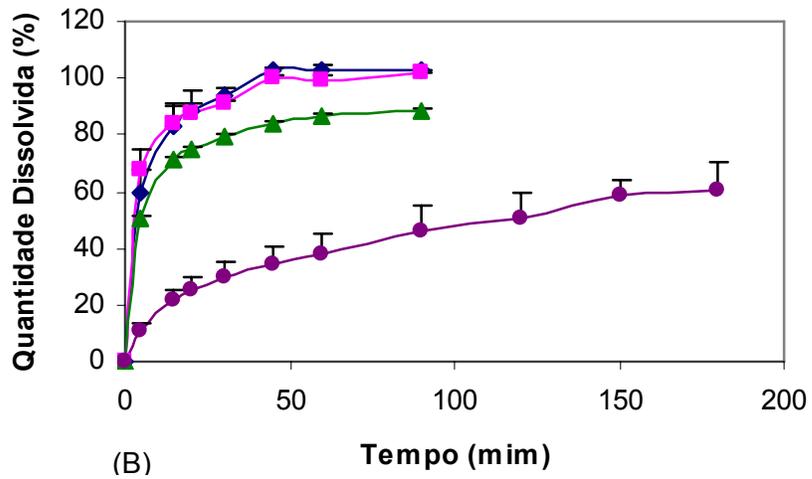
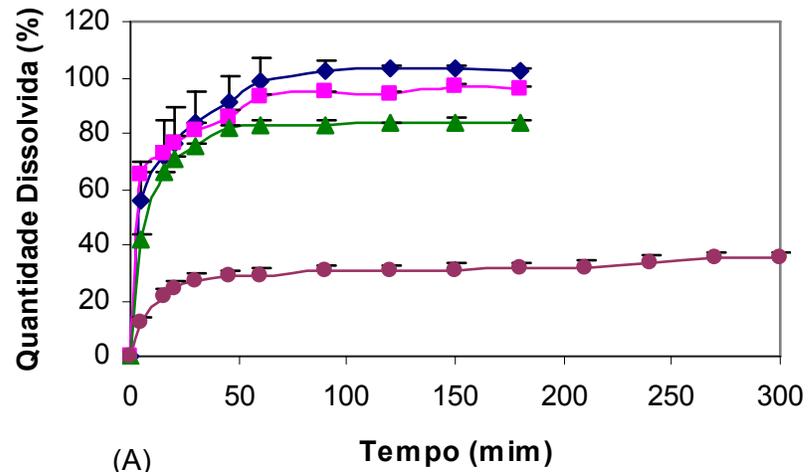


Figura 23 – Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio **SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%**. (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp).

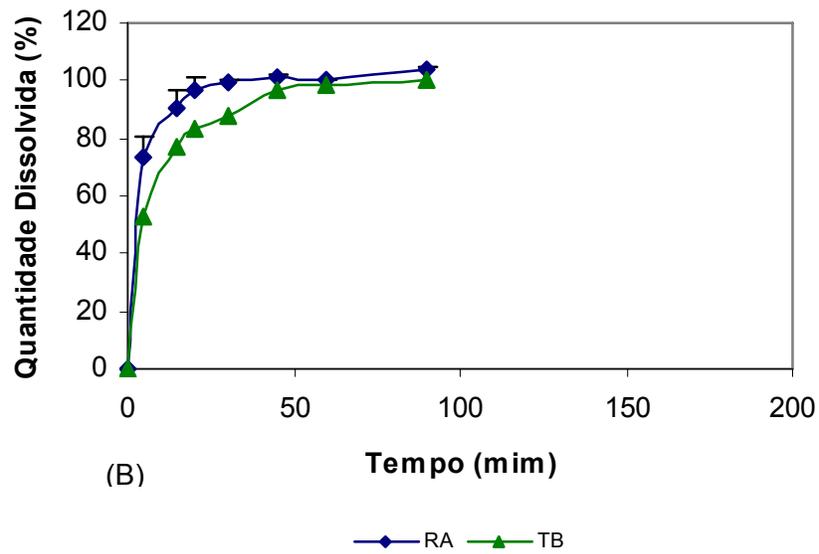
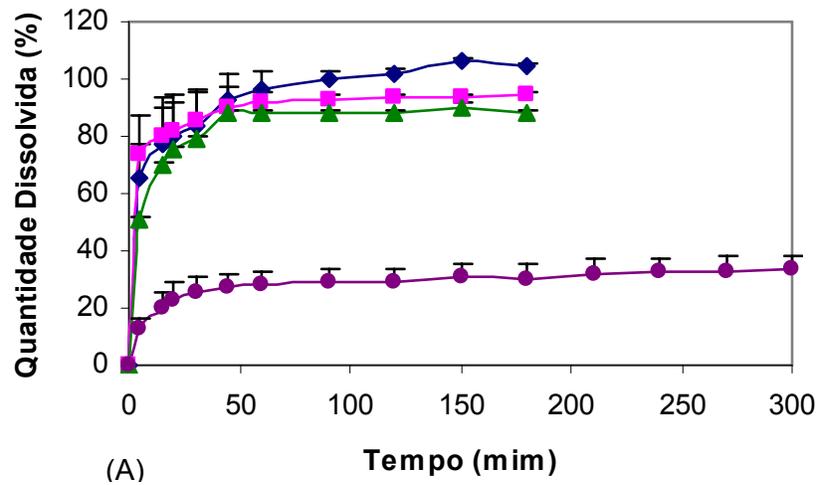
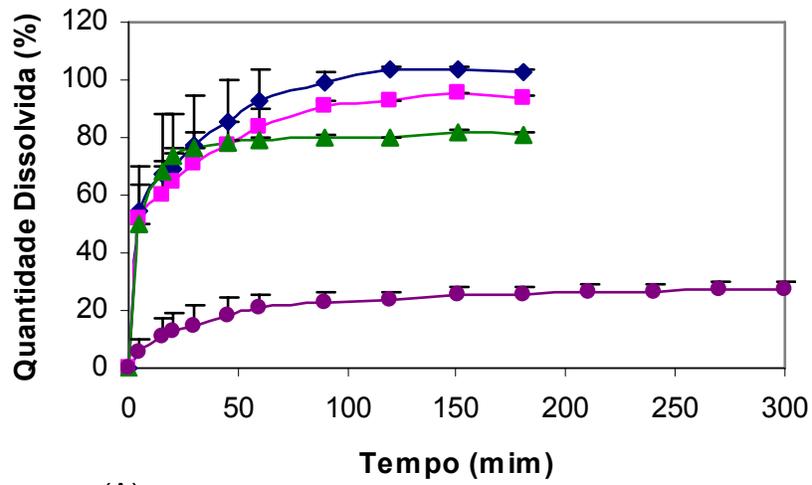
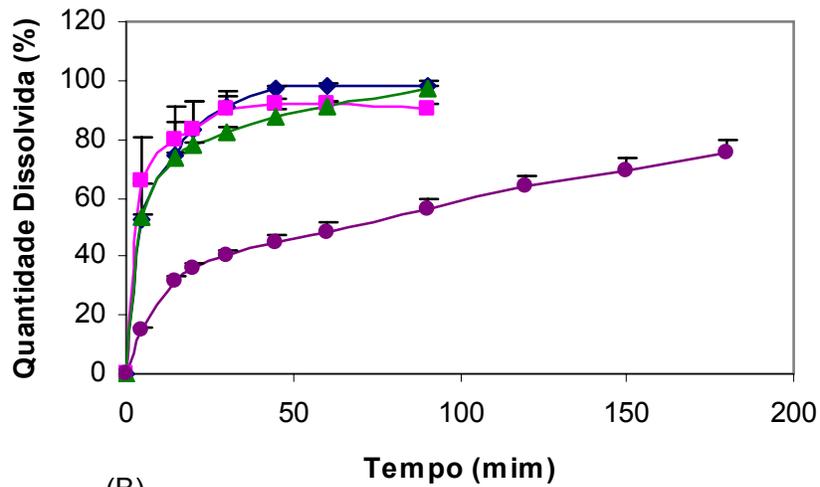


Figura 24 – Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio **SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%**. (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp).



(A)

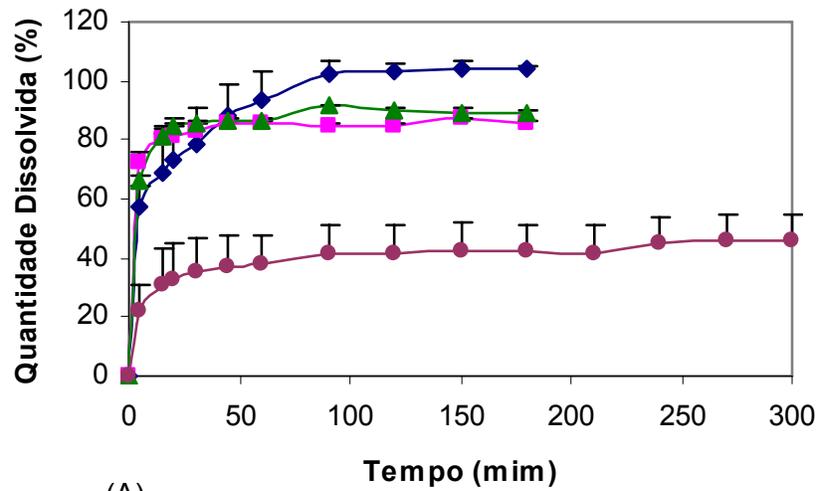
—●— RA —■— TS —▲— TB —●— TC



(B)

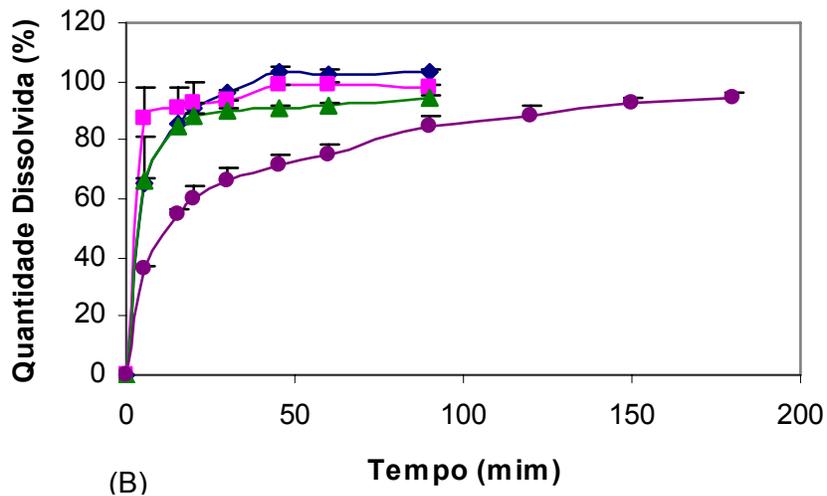
—●— RA —■— TS —▲— TB —●— TC

Figura 25 – Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio **solução aquosa de LSS a 1,0% (pH 7,38)**. (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp).



(A)

—◆— RA —■— TS —▲— TB —●— TC



(B)

—◆— RA —■— TS —▲— TB —●— TC

Figura 26 – Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio **tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%**. (A) 25 rpm e (B) 50 rpm (valores médios \pm dp).

De acordo com as Figuras acima, observaram-se em todas as condições, o comportamento similar de dissolução entre RA, TS e TB e uma grande distinção na dissolução para o produto TC.

A velocidade de 50 rpm teve efeito pronunciado na cinética de dissolução do produto TC, evitando a estagnação do processo, como ocorre com 25 rpm, onde um platô é alcançado entre 20 e 40% do fármaco dissolvido. Entretanto, mesmo em pH 7,4 a 50 rpm (Figura 26), somente após 3 horas obtém-se teor dissolvido superior a 85%.

A NMS possui baixa hidrosolubilidade (Tabela 20) e é um ácido fraco, de modo que meios de pH muito baixos foram descartados e avaliaram-se meios com pH 6,8 (suco entérico simulado) e pH 7,4, ainda que este último estivesse sendo desestimulado. Vale lembrar que a seleção dos meios foi baseada em trabalhos anteriores (SILVA, 2001; OLIVEIRA, 2003).

Tabela 20 – Tabela da solubilidade da NMS em diferentes meios (SILVA, 2001; OLIVEIRA, 2003).

Meios	[NMS] (µg/mL)
Água	10,1
Sol. Aq. LSS 1%	103,6
SES Puro	30,1
SES com Poli 80 1,0%	147,7
SES com Poli 80 1,5%	230,5
SES com LSS 0,5%	111,3
SES com LSS 1,0%	170,7
Tampão pH 7,4	62,6
Tampão pH 7,4 com Poli 80 1,0%	229,6
Tampão pH 7,4 com Poli 80 1,5%	300,0
Tampão pH 7,4 com LSS 1,0%	163,4

A condição sink não foi contemplada em nenhum dos meios testados, porém, mesmo assim, a completa dissolução da NMS pôde ser obtida para as formulações RA e TS. TB não apresentou uma dissolução completa, todavia teve pelo menos 80% da dose solubilizada. Já a formulação TC não possuiu o mesmo desempenho, como pode ser visto nas Figuras 23, 24, 25, 26 e 27, onde essa suspensão apresentou uma baixa taxa de dissolução. Esses fatos estariam diretamente relacionados ao tamanho de partícula conforme apresentado na Figura 16 no item 4.2.1, onde se visualiza, para a suspensão TC, tamanho médio de partícula em torno de 30 μm , enquanto as demais formulações se situam na faixa entre 4 μm (RA e TS) e 7 μm (TB).

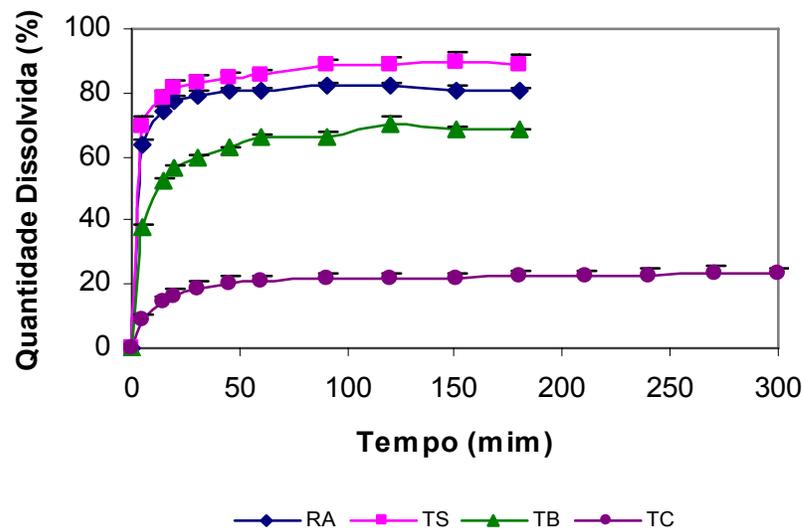


Figura 27 – Perfis de dissolução das suspensões em estudo em meio **SES pH 6,8 com LSS a 0,5%**, 25 rpm (valores médios \pm dp).

Ao comparar-se o comportamento de dissolução dos produtos obtidos nos meios SES pH 6,8 com poli 80 nas concentrações de 1,0 e 1,5%, observa-se que houve pequenas mudanças nos perfis de dissolução, mesmo sabendo-se do acréscimo na solubilidade da NMS de 147 $\mu\text{g/mL}$ para 230 $\mu\text{g/mL}$ (1,5 vezes), com o aumento na concentração do tensoativo (ver Tabela 20 e Figura 28).

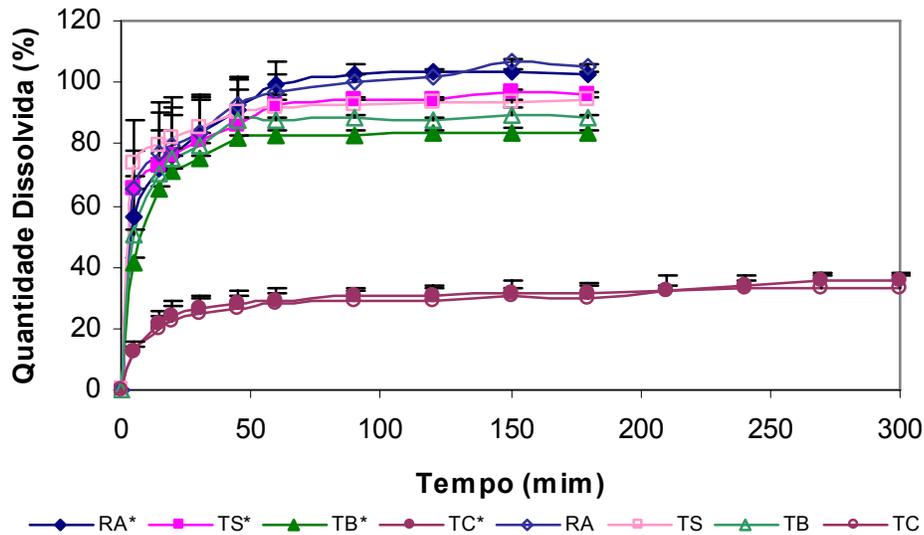


Figura 28 – Perfis de dissolução das 4 suspensões de NMS a 25 rpm nos meios **SES pH 6,8 com poli 80 a 1% (*)** e **SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%** (valores médios \pm dp).

Observa-se que as curvas de dissolução das mesmas formulações são quase sobreponíveis, mostrando que um aumento da quantidade de tensoativo não proporciona um correspondente aumento da dissolução do fármaco, mesmo aumentando a solubilidade deste. Desta forma, não seria necessário concentração de poli 80 superior a 1%. Vale observar que este fato se aplica tanto para 25 quanto para 50 rpm.

Diferenças na velocidade de dissolução em relação ao tensoativo empregado também foram observadas. Como é de conhecimento geral, as concentrações percentuais (p/V) dos tensoativos não correspondem às concentrações molares, por possuir cada tensoativo um peso molecular (Figura 29), assim sendo o LSS a 0,5% apresenta concentração de 17,34 mM, enquanto o poli 80 possui concentração de 7,63 mM. Silva e Volpato (2002) mostraram que concentrações percentuais podem gerar uma interpretação inadequada de que a NMS é mais solúvel em meio com LSS do que com poli 80, como é visto em muitos trabalhos na literatura. No entanto, observa-se que na

verdade soluções aquosas contendo poli 80 tem maior poder de solubilização da NMS. Isso é mais facilmente compreendido quando se avalia a classificação HLB (hydrophilic-lipophilic balance) O LSS é um tensoativo aniônico de HLB em torno de 40, sendo considerado hidrofílico. Já o poli 80, que é um tensoativo não iônico, apresenta um valor de HLB de 15, portanto, menos hidrofílico (MARTIN, 1993). A NMS apresenta um coeficiente de partição (log K) de 1,3 mostrando um caráter hidrofóbico e lipofílico, o que ajuda a explicar sua maior afinidade pelas micelas de poli 80 e, como consequência, uma maior solubilidade nos meios que o contêm (SILVA & VOLPATO, 2002).

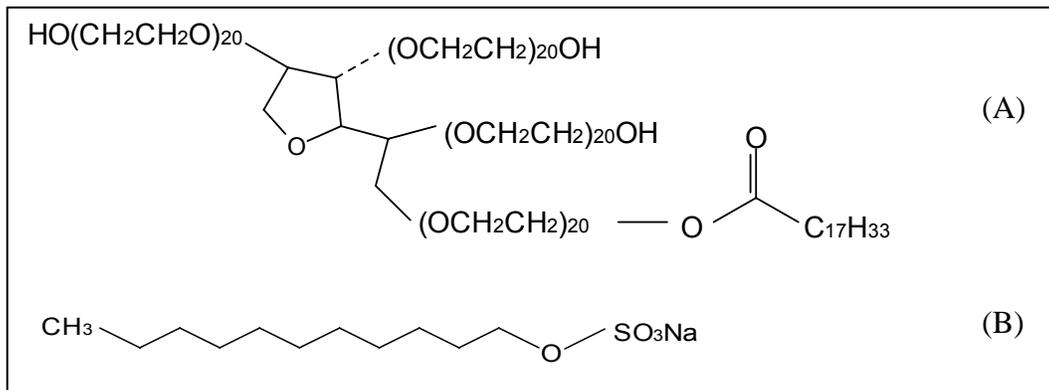


Figura 29 – Estruturas químicas do Polissorbato 80 (A) e LSS (B)

De acordo com as Figuras 22, 23, 24, 25 e 26, verificou-se que o meio tampão fosfato pH 7,4 contendo poli 80 a 1,0% foi o que forneceu o mais alto percentual de dissolução da NMS, uma vez que, além do tensoativo, é o meio que possui o pH mais elevado. Por outro lado, o meio solução aquosa de LSS a 1% apresentou pH semelhante - em torno de 7,38 - entretanto não demonstrou o mesmo desempenho na dissolução das suspensões. Esse fato é facilmente compreendido quando se observa que o LSS é um tensoativo aniônico e, como em pH 7,4 temos a NMS sob a forma ionizada, ou seja, dissociada, esta terá uma menor afinidade pelas micelas de LSS, ao contrário das micelas de poli 80 que possuem natureza não iônica. Assim, embora o meio pH 7,4 possua um pH

fora da faixa atualmente recomendada (1,2 a 6,8) para dissolução de medicamentos contendo ácidos fracos, foi empregado neste trabalho, apresentando baixo poder discriminativo para as formulações, mostrando não ser um meio adequado (CDER/FDA,1997b; BROWN, 2004).

4.3.3.1 Tratamento dos resultados dos perfis de dissolução

Um modelo matemático foi aplicado a fim de avaliarem-se melhor as curvas de dissolução. O modelo matemático empregado foi o de Weibull, realizado pelo programa COMSTAT® (materiais e métodos item 3.2.5.1). As formulações submetidas ao modelo foram RA, TS e TB, por apresentarem semelhanças entre os perfis de dissolução. TC foi excluída devido à sua enorme discrepância frente as demais, como já se observou. Os resultados encontram-se inseridos nas Tabelas 21, 22 e 23 a seguir.

Tabela 21 – Resultados obtidos para a formulação RA nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).

Meios de Dissolução	Velocidade de agitação	Análise sobre o modelo		Parâmetros Estimados	
		F	R ²	Td (minutos)	β
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	82,12	0,9554	8,38**	0,51**
	50 rpm	6214,43	0,9997	5,87**	0,63**
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%	25 rpm	51,44	0,9311	4,85**	0,38**
	50 rpm	134,91	0,9789	3,26**	0,62**
SES pH 6,8 com LSS a 0,5%	25 rpm	#	#	#	#
Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	37,78	0,8676	13,95**	0,44**
	50 rpm	556,8	0,9965	4,54**	0,59**
Solução aquosa de LSS a 1,0%	25 rpm	71,85	0,9375	10,65**	0,47**
	50 rpm	419,56	0,9907	8,18**	0,66**

*Significativo; ** Muito significativo

Regressão impossível devido a poucos graus de liberdade

Tabela 22 – Resultados obtidos para a formulação TS nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).

Meios de Dissolução	Velocidade de agitação	Análise sobre o modelo		Parâmetros Estimados	
		F	R ²	Td (minutos)	β
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	41,03	0,9336	4,88*	0,31**
	50 rpm	180,33	0,9844	4,03**	0,47**
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%	25 rpm	301,02	0,9900	1,43*	0,22**
	50 rpm	Ensaio não realizado			
SES pH 6,8 com LSS a 0,5%	25 rpm	129,84	0,9770	1,79*	0,19**
Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	#	#	#	#
	50 rpm	12,25	0,8701	NS	0,21-
Solução aquosa de LSS a 1,0%	25 rpm	1007,15	0,9980	17,13**	0,53**
	50 rpm	180,33	0,9843	4,03**	0,47**

*Significativo; ** Muito significativo; NS não significativo

Regressão impossível devido a poucos graus de liberdade

Tabela 23 – Resultados obtidos para a formulação TB nas diversas condições testadas (meios e velocidade de dissolução).

Meios de Dissolução	Velocidade de agitação	Análise sobre o modelo		Parâmetros Estimados	
		F	R ²	Td (minutos)	β
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	70	0,9375	11,49**	0,51**
	50 rpm	2262	0,9991	5,22**	0,39**
SES pH 6,8 com poli 80 a 1,5%	25 rpm	273,14	0,9893	8,02**	0,53**
	50 rpm	1960,05	0,999	6,49**	0,67**
SES pH 6,8 com LSS a 0,5%	25 rpm	83,9	0,9656	34,73**	0,29**
Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0%	25 rpm	58,8	0,9617	NS-	0,38**
	50 rpm	244,43	0,9914	3,52**	0,59**
Solução aquosa de LSS a 1,0%	25 rpm	25,38	0,8813	7,82*	0,34*
	50 rpm	933,38	0,9958	6,77**	0,54**

*Significativo; ** Muito significativo; NS não significativo

A primeira análise dos resultados está relacionada ao ajuste do modelo aos dados experimentais, por isso os primeiros dados a serem analisados foram os valores de F de Snedecor e R^2 , que estão diretamente relacionados (COSTA, 2002). Para um ajuste adequado deve-se ter um valor de F superior a 50, com isso observou-se que em alguns casos o modelo não funcionou. Provavelmente isso aconteceu devido ao baixo número de graus de liberdade ocorrido em alguns casos, possivelmente devido à cinética de dissolução relativamente rápida para as formulações RA, TS e TB (DOKOUMETZIDIS *et al.*, 2006). Depois comparou-se a adequação do modelo frente as velocidades de agitação e constatou-se que o modelo se aplicou melhor a 50 rpm do que a 25 rpm como pode ser visto nas figuras dos perfis de dissolução. A 50 rpm o platô demorou um pouco mais para ser alcançado devido ao maior percentual de dissolução atingido pelas formulações estudadas frente a 25 rpm, por isso apresentou maior número de graus de liberdade.

Nesse modelo, um outro parâmetro a ser observado é o Td, tempo necessário para dissolução de 63,2% da substância ativa, que permite classificar as condições de dissolução empregadas segundo a eficiência de cada uma (LANGENBUCHER, 1972). Esse parâmetro possibilitou algumas comparações, a primeira foi entre as concentrações de poli 80 no meio SES, quando se constatou que de 1% para 1,5% houve uma pequena aceleração da dissolução, em torno de 3 minutos, sendo mais acentuada a 25 rpm para RA e TB.

A correlação entre os meios SES pH 6,8 e tampão fosfato pH 7,4 com o mesmo tensoativo, poli 80 a 1%, só pôde ser feita para os produtos RA e TB e mostrou um aumento da quantidade dissolvida em pH 7,4. Já para os meios tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 e solução aquosa de LSS a 1% (pH = 7,38) foi detectado um processo de dissolução mais rápido para o primeiro meio, acredita-se que isso aconteceu devido a uma maior afinidade da NMS pelo poli 80, já discutida, como também por um efeito de força iônica do tampão.

O último fator a ser avaliado é β que tem como objetivo ajudar a discernir o tipo de dissolução, e é um parâmetro de forma da curva (COSTA, 2002). Em todos os casos os valores de β foram bem inferiores a 1, caracterizando curvas achatadas encontradas quase sempre no caso de suspensões, quando a presença do tensoativo acelera fortemente a dissolução do fármaco numa primeira fase, até atingir as vizinhanças da concentração de saturação onde a curva sofre uma brusca inflexão (ELKOSHI, 1997). Esse fato é comum nas cinéticas de dissolução e ocorre devido ao efeito de saturação do meio sempre presente devido à baixa solubilidade da NMS.

Além dos resultados já apresentados, foram calculados os valores de f1 (fator da diferença) e f2 (fator da semelhança), como preconizado na Resolução 310 da ANVISA, para as formulações TS, TB e TC frente ao referência nacional (RA).

As Tabelas 24 e 25 mostram os resultados de f1 e f2 para os meios empregados na comparação das formulações nos 5 meios estudados, nas duas velocidades. O tempo selecionado para finalizar o cálculo dos fatores foi o de 60 minutos de dissolução.

Tabela 24 – Cálculos de f1 e f2 para todas as formulações frente ao referência nacional (RA) para todos os meios no tempo de 60 minutos a 25 rpm.

Suspensões	Meios de Dissolução									
	SES pH 6,8 com poli 80 1,0%		SES pH 6,8 com poli 80 1,5%		SES pH 6,8 com LSS 0,5%		Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%		Solução aquosa de LSS a 1,0%	
	f1	f2	f1	f2	f1	f2	f1	f2	f1	f2
TS	4,8	64,94	4,63	67,74	6,06	66,06	17,68	42,72	8,75	58,02
TB	12,50	48,39	9,01	53,81	26,35	34,62	10,61	52,63	7,28	57,90
TC	70,29	12,34	72,66	10,98	78,08	11,35	52,53	21,61	81,55	10,61

Tabela 25 – Cálculos de f1 e f2 para todas as formulações frente ao referência nacional (RA) para todos os meios no tempo de 60 minutos a 50 rpm.

Suspensões	Meios de Dissolução							
	SES pH 6,8 com poli 80 1,0%		SES pH 6,8 com poli 80 1,5%		Tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 1,0%		Solução aquosa de LSS a 1,0%	
	f1	f2	f1	f2	f1	f2	f1	f2
TS	3,53	69,88	--	--	7,40*	50,81*	6,75	56,27
TB	16,10	41,78	11,60	45,09	6,32	56,08	6,63	59,19
TC	69,88	10,30	--	--	33,14	26,05	56,75	16,24

* Mais de 80% dissolvido em 15 minutos.

O medicamento teste será equivalente ao medicamento referência, quando f1 se apresentar na faixa de 0 a 15% e f2 na faixa de 50 a 100%, lembrando que quando as duas formulações possuem percentual de dissolução superior a 80%, em 15 minutos, f1 e f2 perdem seu poder discriminativo (Brasil, 2004).

Por conseguinte, de acordo com os resultados obtidos, pôde-se observar inicialmente que a formulação TC não foi equivalente ao referência em nenhuma das condições testadas, conforme era esperado em função das curvas de dissolução obtidas.

A 25 rpm TS só não foi equivalente ao referência no meio tampão pH 7,4 com poli 80 1,0%, já em 50 rpm TS foi equivalente a RA em todos os meios testados. Esse resultado, de certa forma, já era esperado por apresentarem essas suspensões características bem semelhantes entre si.

TB a 25 rpm não foi equivalente a RA nos meios SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0% e com LSS a 0,5%. Em 50 rpm, esta formulação não foi equivalente ao referência nos meios SES com poli 80 a 1,0 e 1,5%. O meio SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0% evidenciou diferenças para a suspensão TB tanto a 25 quanto a 50 rpm.

O meio mais indicado para ser aplicado no estudo de dissolução de suspensões de NMS é o SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%. Esse meio demonstrou bom poder

discriminatório entre as formulações e está dentro da faixa de pH (1,0 a 6,8) recomendável, além de ser composto por um tensoativo não iônico que é de maior relevância biológica (BROWN *et al.*, 2004).

Assim sendo, as especificações propostas para o teste de dissolução de suspensões de NMS seriam:

- Meio: SES pH 6,8 com polissorbato 80 1,0% (p/v)
- Aparato: 2 (pá) a 50 rpm
- $Q_{45\text{minutos}} = 80\%$ do total declarado em 45 minutos

4.4 DISCUSSÃO GERAL

A análise e caracterização das suspensões foram os primeiros ensaios a serem realizados para se ter conhecimento das diferenças entre as formulações, com a finalidade de tentar, dentro do possível, traçar uma correlação com os resultados do perfil de dissolução e permitir uma adequada seleção das condições do ensaio, de modo a apresentar relevância para o controle de qualidade dos produtos. As formulações RA e TS apresentaram distribuição granulométrica semelhante (diâmetro médio, d_m , de 3,4 μm), enquanto TC foi a que apresentou maior tamanho de partícula ($d_m = 27,6 \mu\text{m}$) e TB um tamanho intermediário ($d_m = 7,2 \mu\text{m}$). TB e TC apresentaram-se como suspensões de menor viscosidade, sendo também as de menor densidade.

A validação do método por CLAE para o doseamento da NMS nas formulações foi importante, uma vez que este poderia ser empregado nos estudos de dissolução, caso a espectrofotometria não se aplicasse em virtude da quantidade de excipientes das suspensões, como se acreditava no início do projeto. Entretanto foi demonstrado que a espectrofotometria UV-Vis foi adequada à análise quantitativa do fármaco na dissolução,

tendo sido a metodologia de escolha em função da rapidez de análise levando-se em conta a grande quantidade de amostras que o perfil de dissolução proporcionava.

Em todas as formulações estudadas, a quantidade de NMS dissolvida nas suspensões foi ínfima ($<0,05\%$ do declarado), fato que em situação contrária levaria a uma aparente dissolução acelerada no início do ensaio, em virtude de parte da dose já se encontra solubilizada no veículo.

A diferente distribuição granulométrica do anti-inflamatório nas suspensões pôde ser evidenciada no ensaio de dissolução em diversas condições utilizadas, embora em algumas situações houve estagnação do processo, principalmente quando a agitação das pás era 25 rpm (Figuras 22 a 26). As formulações TB e TC, em todos os casos, apresentaram uma quantidade de pó residual no fundo das cubas, ao final do ensaio de perfil de dissolução, tanto a 25 quanto a 50 rpm, sendo mais acentuado a 25 rpm. Acredita-se que a agitação não foi suficiente para dispersar/suspender às partículas de maior diâmetro (Tabela 7), impossibilitando a solubilização destas no meio. Esta observação foi reforçada pela aplicação do modelo de Weibull.

A Figura 30 ilustra a correlação obtida entre o tamanho das partículas de NMS nas suspensões comerciais e a quantidade porcentual de fármaco dissolvido após 45 minutos de ensaio em 3 diferentes meios com agitação de 50 rpm. Quanto menos inclinada a reta, mais favorável à dissolução é a condição de ensaio e, conseqüentemente, menos discriminativo é o método. Isto se observa com o emprego do tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1%. Ao se associar os percentuais dissolvidos em 45 minutos ao tamanho modal das partículas, isto é, ao valor de diâmetro apresentado pelo maior número de partículas (ver Tabela 7), em vez do diâmetro médio, obtém-se uma relação mais linear (Figura

30B). Como a distribuição granulométrica das suspensões não se apresentou de forma normal, a moda, neste caso, caracteriza melhor as suspensões de NMS.

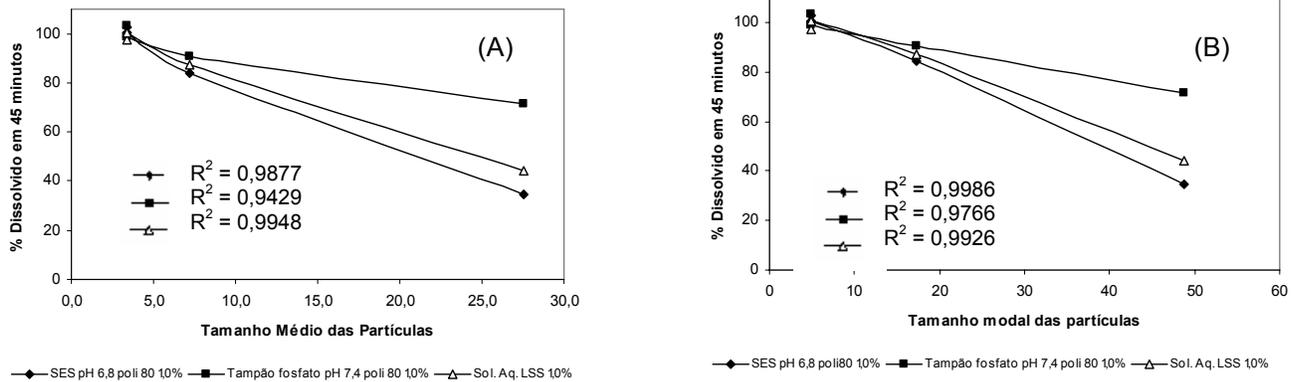


Figura 30 – Correlação entre o percentual de NMS dissolvido após 45 minutos de ensaio em 3 diferentes meios a 50 rpm e o tamanho de partícula do fármaco expresso como (A) diâmetro médio e (B) diâmetro modal.

Não se observou influência da viscosidade e da densidade das formulações diretamente no perfil de dissolução, e sim uma relação direta destas características com a velocidade de decantação da amostra adicionada para o fundo da cuba. Os produtos RA e TS decantavam rapidamente quando comparados a TB e TC. O potencial zeta também não afetou a questão da dissolução, mas serviu para caracterizar a estabilidade das formulações.

De todos os meios testados, o SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0% foi o mais adequado, pois apresentou um bom poder discriminatório entre as formulações estudadas, apresenta valor de pH dentro da faixa recomendada e possui uma concentração de tensoativo não iônico relativamente baixa, que embora não obedeça a condição sink, ao solubilizar completamente a dose de NMS adicionada (100 mg) a concentração alcançada equivale a 60% da saturação.

CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- O método cromatográfico (CLAE) utilizado para o doseamento das suspensões demonstrou especificidade / seletividade, linearidade e precisão adequados à análise de nimesulida na presença de excipientes usuais em suspensões.

- O método espectrofotométrico aplicado à análise quantitativa da NMS nos meios de dissolução se mostrou bastante satisfatório, uma vez que demonstrou especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e de quantificação adequados ao estudo de dissolução das suspensões deste fármaco.

- O tamanho de partícula foi determinante nos perfis de dissolução obtidos para as suspensões de NMS, mostrando-se fundamental na liberação do fármaco e tornando-se assim, uma importante característica a ser levada em conta no desenvolvimento de suspensões de uso oral do anti-inflamatório.

- O meio tampão fosfato pH 7,4 com poli 80 a 1,0% foi o que forneceu o mais alto percentual de dissolução da NMS, em função do tensoativo e do pH mais elevado, entretanto apresentou menor poder discriminatório para as formulações.

- Os perfis de dissolução obtidos com os meios SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0 e 1,5% (p/V), são quase sobreponíveis, mostrando que um aumento na concentração do tensoativo não proporciona um correspondente aumento na dissolução do fármaco, fato que dispensa a utilização de concentrações de poli 80 superiores a 1,0%.

- O meio de dissolução SES pH 6,8 com poli 80 a 1,0%, foi o meio mais adequado às suspensões de NMS, por apresentar um bom poder discriminatório entre produtos com características diferentes, além de utilizar um tensoativo não iônico numa concentração adequada.

- A velocidade de agitação de 50 rpm se mostrou mais adequada, pois não proporcionou estagnação do processo como ocorreu com 25 rpm, sem, entretanto, acelerar demais a velocidade de dissolução.

- O modelo de Weibull foi uma boa ferramenta no tratamento de dados dos perfis de dissolução, auxiliando na seleção do meio de dissolução e da velocidade de agitação, mesmo tendo merecido uma melhor estimativa de Td.

- O medicamento TS foi o único equivalente ao medicamento referência RA, em todos os meios testados, quanto ao perfil de dissolução.

*REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, H. M. Dissolution. In: Remington: *The science and practice of pharmacy*. 19. ed. Easton: Mack Publishing Company, 1995, v. 1, p. 593-604.

- AIRES, M. M. Fisiologia. Rio de Janeiro. *Fisiologia do sistema digestivo*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 645-690.

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

- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. *Formas Farmacêuticas: considerações biofarmacêuticas. Farmacotécnica formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos*. 6. ed. Editorial Premier, p. 65-112, 2000.

- AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2 ed. Artmed Editora S.A. 2005.

- AZEMA, N. *Sedimentation behaviour study by three optical methods – granulometric end electrophoresis measurements, dispersion optical analyser*. *Powder Technology*, v. 165, p. 133-139, 2006.

- BERNAREGGI, A. *The pharmacokinetics profile of nimesulide in healthy volunteers*. *Drugs*, v. 46, suppl. 1, p. 64-72, 1993.

-
- BONLOKKE, L., CHRISTENSEN, F. N., KNUTSON, L., KRISTENSEN, H. G., LENNERNÅS, H. *A new approach for direct in vivo dissolution studies of poorly soluble drugs*. *Pharmaceutical Research.*, v. 14, n. 10, p. 1490-1492, 1997.

 - BRASIL. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 jun. 2003. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso em Jun. de 2004.

 - BRASIL. Resolução nº 310, de 1 de setembro de 2004. Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22 dez. 2000. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso em Set. de 2004.

 - BRASIL. Resolução nº 893, de 29 de maio de 2003. Guia para realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamento pós-registro de medicamentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 07 nov. 2003. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso em Mar. de 2005.

 - BRITISH PHARMACOPEIA 2004. London. The StationeryOffice, v.II, apendex XIID. Dissolution test for solid dosage forms.

 - BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v.13, p. 129-146, 2003.

 - BROOKFIELD ENGINEERING LABS., INC. *More Solutions to Sticky Problems*. p. 1-50, 2005. Disponível em: <<http://www.brookfield.com>.> Acesso em Jun de 2005.

 - BROWN, C. K.; CHOKSHI, H. P.; NICKERSON, B.; REED, R. A.; ROHRS, B. R.; SHAH, P. A. *Acceptable Analytical Practices for Dissolution Testing of Poorly Soluble*

Compounds. Pharmaceutical Technology, Dec. 2004. Disponível em: <<http://www.pharmatech.com>>. Acesso em: Jan. 2005.

- CÁRCAMO, E. C. *Cinetica de disolucion de medicamentos*. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1981. p. 103.

- CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; MESSINA, C.; DETAZZARI, A.; DI ROSA, D.; GIANNETTO, A. *Differential scanning calorimetry differences in micronized and unmiconized nimesulide uptake processes in biomembrane models*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 19, p. 237-243, 2003.

- CDER/FDA. Guidance for Industry. Dissolution testing of immediate via solid oral dosage forms, 1997a. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.

- CDER/FDA. Guidance for Industry. Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In vitro/In vivo Correlations, 1997b. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.

- COSTA, P. J. C. *Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 38, n. 2, p.141-153, 2002.

- DAVIS, R.; BROGDEN, R. N. *Nimesulide: Update of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy*. Drugs, v. 48, n. 3, p. 431-454, 1994.

- DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS: DEF 2005/2006, 33.ed. Rio de Janeiro: Publicações científicas, 2004.

-
- DOKOUMETZIDIS, A.; PAPADOPOULOU, V.; MACHERAS, P. *Analysis of dissolution data using modified versions of Noyes-Whitney equation and the Weibull function*. *Pharmaceutical Research*, v. 23, n. 2, p. 256-261, 2006.

 - 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*. *Pharmaceutical Research*, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.

 - ELKOSHI, Z. *On the variability of dissolution data*. *Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 10, p. 1355-1362, 1997.

 - FALLAVENA, P. R. B.; SCHAPOVAL, E. E. S. *pKa determination of nimesulide in methanol – water mixtures by potentiometric titrations*. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 158, p. 109-112, 1997.

 - FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988a. V. 1. 5. Determinação do tempo de dissolução para comprimidos e cápsulas.

 - _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988b. V. 2. 2. Determinação da perda por dessecação.

 - _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988c. V. 2. 2. Determinação de temperatura e faixa de fusão.

 - _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988d. V. 2. 5. Determinação da densidade de massa e densidade relativa.

 - _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2002a. fasc. 4. Monografia Nimesulida matéria prima 202.

-
- _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2002b. fasc. 4. Monografia Nimesulida comprimidos 202.1.

 - _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2006. V.1.8. Teste de gotejamento. Consulta pública disponível em: <http://www.farmacopeia.org.br/docs_consultas/cons_1_teste_de_gotejamento.pdf>. Acesso em Jan. 2007.

 - FASULIDE®: nimesulida. Elaine C. M. Pessoa. São Paulo: Bunker Indústria Farmacêutica LTDA. 2004. Bula.

 - FLISZAR, K. A.; FORSYTH, R. J.; LI, Z.; MARTIN, G. P. *Effects of dissolved gases in surfactant dissolution media*. Dissolution Technologies, p. 6-9, 2005.

 - FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. *Princípios Físico-Químicos em Farmácia*, 3. ed. São Paulo: EDUSP, 2003.

 - FORTUNATO, D. *Dissolution method development for immediate release solid oral dosage forms*. Dissolution Technologies, p. 12-14, 2005

 - GALIA, E.; NICOLAIDES, E.; HORTER, D.; LOBENBERG, R.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J. B. *Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs*. Pharmaceutical Research, v. 15, n. 5, p. 698-705, 1998.

 - GREENWOOD, R. *Review of the measurement of zeta potencial in concentrated aqueous suspension using electroacoustics*. Advanced in Colloid and Interface Science, v. 106, p. 55-81, 2003.

- HANSON, W. A. *Handbook of dissolution testing*. 2. ed. Oregon: Aster Publishing Corporation, 1991. p. 159.

- HE, Z.; ZHONG, D.; CHEN, X.; LIU, X.; TANG, X.; ZHAO, L. *Development of a dissolution medium for nimodipine tablets based on bioavailability evaluation*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 21, p. 487-491, 2004.

- HÖRTER, D.; DRESSMAN, J. B. *Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract*. *Adv. Drug Deliv.* 46, p. 75-87, 2001.

- JAMZAD, S. & FASSIHI, R. *Role of surfactant and pH on dissolution properties of fenofibrate and glipizide – A technical note*. *AAPS PharmSciTech*, n. 7, v. 33, p. E1-E6, 2006. Disponível em: <<http://www.pharmascitech.org>>. Acesso em Set. 2006.

- JENKE, D. R. *Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures. II Guidelines for primary parameters*. *Journal Liquid Chromatographic Related Technologies*, v. 19, n.5, p. 737-757, 1996.

- JINNO, J.; KAMADA, N.; MIYAKE, M.; YAMANDA, K.; MUKAI, T.; ODOMI, M.; TOGUCHI, H.; LIVERSIDGE, G. G.; HIGAKI, K.; KIMURA, T. *Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs*. *Journal of Controlled Release*, n. 111, p. 56-64, 2006.

- KULKARNI, S. K. *On the safety of nimesulide, a preferencial COX-2 inhibitor*. *Current Science*, v. 83, n. 12, p. 1442-1443, 2002.

- LABASTIE, M.; NACCO, R.; CUMPS, J. *Tablets dissolution parameters: a statistical evaluation*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 10, p. 1105-1108, 1992.

- LACHMANN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1986.

- LANGENBUCHER, F. *Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution*. Journal of Pharm. Pharmac., v. 24, p. 979-981, 1972.

- LINDENBERG, M.; WIEGAND, C.; DRESSMAN, J. B. *Comparison of the adsorption of several drugs to typical filter materials*. Dissolution Technologies, p. 22-25, 2005.

- MARCZYK, L. R. S. *Estudo randomizado do nimesulida, aceclofenaco e diclofenaco no tratamento de afecções traumáticas do aparelho locomotor*. ACTAORTOPBRAS, v. 5, n. 3, p.103-109, 1997.

- MARTIN, A. *Physical pharmacy*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993a, p. 477-486.

- MARTIN, A. *Physical pharmacy*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993b, p. 362-422.

- MARTINDALE: *The Complet Drug Reference*. 32. ed. London: Pharmaceutical Press, 1999.

- MERCK INDEX. 13.ed. New Jersey: Merck & Co, p. 1174, 2001.

- MITHANI, D. S.; BAKATSELON, V.; TENHOOR, C. N.; DRESSMAN, J. B. *Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration*. Pharmaceutical Research, v. 13, n. 1, p. 163-167, 1996.

- MORITA, T. Manual de soluções, reagentes e solventes. *Padronização – preparação – purificação*. Ed. Edgard Blücher Ltda. IV. 56.11, 2001, p.276.

- MOSHARRAF, M.; NYSTROM, C. *The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micronized practically insoluble drugs*. International Journal of Pharmaceutics, 122, p. 35-47, 1995.

- NETZ, P. A. & ORTEGA, G. G. *Fundamentos de físico-química: uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas*. Sistemas dispersos. 1ed. Ed. Artmed. 2002. p. 265-289.

- NIMESULIN[®]: nimesulida. Artur A. da Silva . Minas Gerais: Cifarma Científica Farmacêutica LTDA. 2004. Bula.

- NISULID[®]: nimesulida. Emy Ayako Ogawa. São Paulo: Ache Laboratório Farmacêutico SA. 2004. Bula.

- NOORY, C.; TRAN, N.; OUDERKIRK, L.; SHAH, V. Steps for development of a dissolution test for sparingly water-soluble drug products. *Dissolution technologies*, n. 3, p. 1-4, 2000.

- OLIVEIRA, M. R. S. *Estudos de correlação in vivo/in vitro empregando comprimidos de nimesulida não bioequivalentes*. 2003. 101p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- PARK, S. H. & CHOI, H. K. *The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs*. International Journal of Pharmaceutics, v.321, p. 35-41, 2006.

- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. *Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica*. Ed. Fundação Calouste Gulbenkian. v. 1., 3. ed. 1981. p. 1182-1254.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. *Farmacologia*. Agentes antiinflamatórios e imunossupressores. 4 ed. Ed. Guanabara Koogan, 2000. p. 189-203.
- RAWLE, A. *Basic principles of particle size analysis*. Disponível em: <<http://www.malvern.co.uk>>. Acesso em: 08/05/2006.
- RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos*. Química Nova, v 27, n 5. p. 771-780, 2004.
- ROHRS, B. R. Dissolution method development for poorly soluble compounds. *Dissolution technologies*, p. 1-5, 2001.
- SCAFLAM[®]: nimesulida. Lúcia Lago Hammes. Rio de Janeiro: Indústria Química e Farmacêutica Schering Plough SA. 2004. Bula.
- SHAH, V. P.; NOORY, A.; NOORY, C.; McCULLOUGH, B.; CLARKE, S.; EVERETT, R.; NAVIASKY, H.; SRINIVASAN, B. N.; FORTMAN, D.; SKELLY, J. P. *In vitro dissolution of sparingly water-soluble drug dosage forms*. International Journal of Pharmaceutics, v. 125, p. 99-106, 1995.
- SHAH, V. P.; WILLIAMS, R. L. *In vivo and in vitro correlations: scientific and regulatory perspectives*. In: Jackson, A. J., Ed. Generics bioequivalence. Boca Raton, 1994. p. 101-111.

-
- SHARGEL, L.; YU, A. Biopharmaceutic consideration in drug product design. *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics*. 4. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999.

 - SIEWERT, M.; DRESSMAN, J.; BROWN, C. K.; SHAH, V. P. *FIP/AAPS Guidelines to dissolution / in vitro release testing of novel / special dosage forms*. AAPS PharmSciTech, Jan. 2003. Disponível em: <<http://www.pharmascitech.org>>. Acesso em: 08/01/2004.

 - SILVA, R. L. *Dissolução de comprimidos de nimesulida de liberação imediata, biodisponibilidade e correlação in vivo-in vitro*. 2001. 185p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

 - SILVA, R. L.; VOLPATO, N. M. *Meios para dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 38, n. 2, p. 163-172, 2002.

 - SIMÕES, S.; SOUSA, A.; FIGUEIREDO, M. *Dissolution rate studies of pharmaceutical multisized powders – a practical approach using the Coutler method*. International Journal of Pharmaceutics, v 127, p. 283-291, 1996.

 - SINGH, S.; SHARDA, N.; MAHAJAN, L. *Spectrophotometric determination of pKa of nimesulide*. International Journal of Pharmaceutics, v. 176, p. 261-264, 1999.

 - SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 335-347, 2004.

 - SKOUG, J. W., HALSTEAD, G. W., THEIS, D. L., FRIEMAN, J. E., FAGAM, D. T., ROHRS, B. R. *Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de dissolução em*

formas farmacêuticas sólidas para uso oral. Pharmaceutical Technology, p. 34-43, abr. 1997.

- STORPIRITS, S., CONSIGLIERI, V. O. *Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos*. Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, v. 31, n. 2. p. 63-70, jul./dez. 1995.

- STORPIRITS, S., OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. *Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e absorção de fármacos*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 35, n. 1, p. 1-15, jan./jun. 1999.

- SNYDER; LLOYD, K.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. *Practical HPLC method development*. 2 ed. John Wiley & Sons, 1997, p.77-79.

- TINKE, A. P., VANHOUTTE, K., DE MAESSCHALCK, R., VERHEYEN, S., DE WINTER, H. *A new approach in the prediction of the dissolution behavior of suspended particles by means of their particle size distribution*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.39, p. 900-907, 2005.

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

- UNITED STATES PHARMACOPEIA. *General Chapters, In vitro and in vivo evaluation of dosage forms*. 27. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2004. Cap. 1088, p. 2670-2675.

- _____. *Official monographs*. 28. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2005.

- _____. General Chapters, *Dissolution*. 29. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006a. Cap.711, p. 2675-2680.

- _____. Reagents, 29. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006b. p. 3167-3168.

- _____. General Chapters, *Chromatography – high-pressure liquid chromatography*. 29. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006c. Cap.621, p. 2644-2648.

- _____. Official monographs, *Validation of compendial methods*. 29. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006d. Cap.1225, p. 3050-3053.

- YAKABE, C. *Determinação espectrofotométrica da nimesulida em formulações farmacêuticas*. 1998. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

- WANG, J. & FLANAGAN, D. R. *General solution for diffusion-controlled dissolution of spherical particles. 1. Theory*. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.88, n. 7, p. 731-738, 1999.

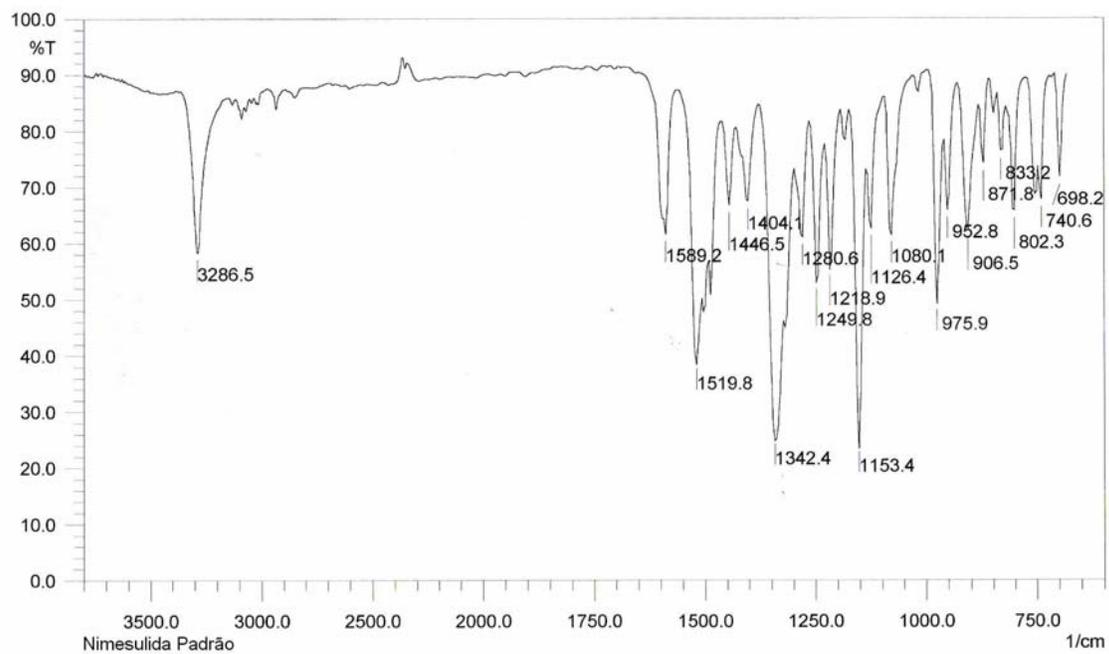
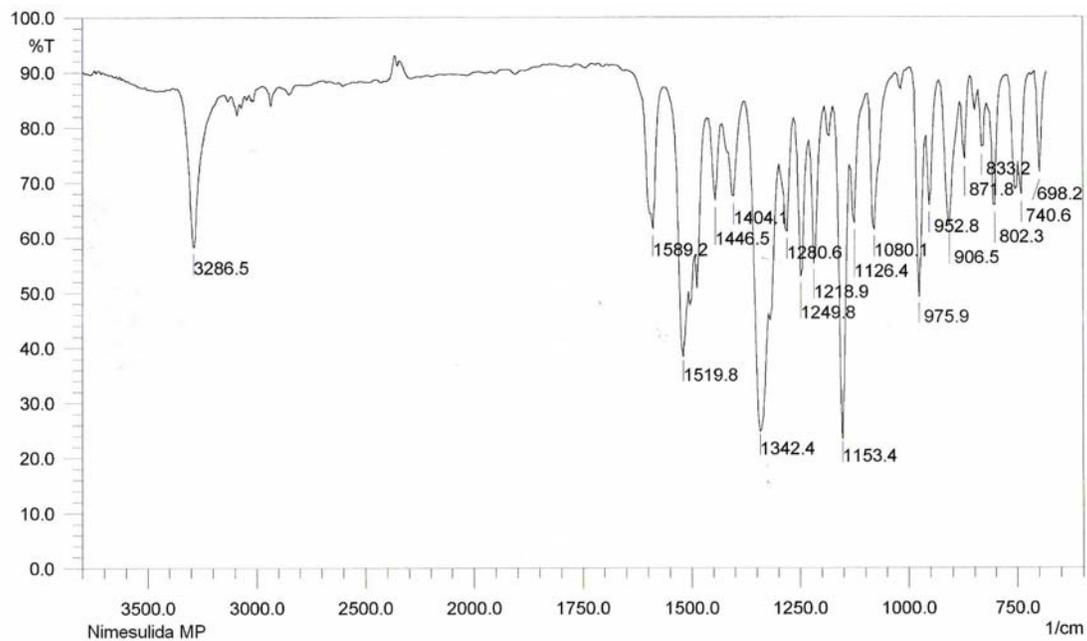
- WANG, J. & FLANAGAN, D. R. *General solution for diffusion-controlled dissolution of spherical particles. 1. Evaluation of experimental data*. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.91, n. 2, p. 534-542, 2002.

- WUELFING, W. P., KOSUDA, K., TEMPLETON, A. C., HARMAN, A., MOWERY, M. D., REED, R. A. *Polisorbate 80 UV/vis spectral and chromatographic characteristics – defining boundary conditions for use of the surfactant in dissolution analysis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v 41, p. 774-782, 2006.

ANEXOS

ANEXO I

Espectros de Infra-vermelho



ANEXO II

Resultados médios individuais das viscosidades das suspensões

Velocidade (RPM)	RA (cps) média ± dp	TB (cps) média ± dp	TS (cps) média ± dp	TC (cps) média ± dp
0,3	12630 ± 724,26	2815 ± 699,42	14440 ± 899,63	2787 ± 105,94
0,6	8563 ± 496,14	1620 ± 431,53	9058 ± 471,05	2245 ± 28,38
1,5	4706 ± 203,15	1079 ± 245,78	4796 ± 200,51	1470 ± 17,00
3	2802 ± 90,04	802 ± 17,64	2785 ± 38,08	1040 ± 0,00
6	1645 ± 46,96	460,8 ± 21,35	1550 ± 13,33	716 ± 0,00
12	1025 ± 9,72	315,50 ± 11,98	930,3 ± 5,85	471 ± 0,00
30	519,1 ± 2,33	178,9 ± 3,60	474,8 ± 1,69	263,2 ± 1,03
60	318,6 ± 1,78	113,8 ± 2,35	294 ± 1,63	167 ± 0,00
60	318,6 ± 1,78	113,8 ± 2,35	294 ± 1,63	167 ± 0,00
30	517,7 ± 3,20	179,7 ± 4,08	477,3 ± 3,09	261 ± 0,00
12	991,8 ± 12,68	306,7 ± 1,70	939,7 ± 11,75	466 ± 0,00
6	1661 ± 23,31	490,8 ± 22,04	1616 ± 9,66	701 ± 0,00
3	2789 ± 88,75	708,2 ± 46,31	2603 ± 85,90	1025 ± 5,27
1,5	4414 ± 123,22	1068,4 ± 117,20	4375 ± 196,03	1432 ± 13,98
0,6	8196 ± 441,34	1681 ± 408,31	8126 ± 442,90	2145 ± 28,38
0,3	13400 ± 2512,63	2362 ± 912,99	12800 ± 1002,22	2848 ± 88,04

ANEXO III

**Resultados dos valores médios individuais do % dissolvido e seus respectivos
desvios**

MEIO: SES pH 6,8 c/ poli 80 a 1,0%.

- 25 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	56,08	9,69	17,27
15	71,98	12,21	16,96
20	76,47	13,10	17,13
30	83,41	11,22	13,45
45	91,02	9,53	10,47
60	99,05	7,79	7,87
90	102,30	3,72	3,64
120	103,07	0,99	0,96
150	103,47	0,72	0,70
180	102,70	0,63	0,62

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	64,98	4,60	7,08
15	72,65	2,68	3,69
20	76,38	2,58	3,38
30	81,10	2,54	3,13
45	86,05	2,35	2,73
60	93,06	1,17	1,26
90	94,54	0,45	0,48
120	94,23	0,63	0,67
150	96,81	0,48	0,49
180	95,80	0,71	0,74

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	44,72	1,51	3,38
15	70,32	0,72	1,02
20	76,03	1,00	1,31
30	80,36	0,92	1,15
45	87,46	1,08	1,24
60	88,68	1,51	1,71
90	88,87	1,38	1,56
120	89,17	0,83	0,93
150	89,73	1,37	1,53
180	89,53	0,72	0,80

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	12,14	1,82	14,99
15	21,23	2,73	12,86
20	24,30	2,62	10,79
30	26,80	2,59	9,68
45	28,44	2,24	7,89
60	29,11	2,12	7,27
90	30,35	2,09	6,90
120	30,66	2,21	7,21
150	31,15	2,14	6,88
180	31,64	1,92	6,06
210	32,06	1,89	5,91
240	33,71	2,13	6,33
270	35,40	2,01	5,69
300	35,56	2,08	5,85

ANEXO III – Continuação

- 50 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	59,59	8,01	13,44
15	83,26	8,17	9,81
20	88,47	7,03	7,95
30	94,23	2,25	2,38
45	102,69	0,75	0,73
60	103,20	1,03	1,00
90	102,48	0,79	0,77

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	67,30	7,95	11,81
15	84,12	5,98	7,11
20	87,50	3,76	4,30
30	90,93	0,75	0,82
45	100,26	1,07	1,06
60	99,69	1,28	1,29
90	101,60	0,35	0,34

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	53,72	0,92	1,71
15	76,02	1,23	1,61
20	80,18	0,92	1,14
30	84,52	0,97	1,15
45	89,95	0,71	0,79
60	92,72	0,96	1,04
90	95,06	0,72	0,75

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	11,10	2,59	23,34
15	21,39	3,54	16,54
20	25,54	4,37	17,09
30	29,42	5,88	19,97
45	34,45	6,36	18,46
60	38,15	7,12	18,67
90	46,11	8,67	18,80
120	50,90	8,57	16,83
150	58,47	5,98	10,23
180	60,02	10,36	17,26

MEIO: SES pH 6,8 c/ poli 80 a 1,5%.

- 25 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	65,73	11,68	17,77
15	77,20	12,85	16,64
20	79,70	12,53	15,73
30	83,61	11,48	13,73
45	92,93	9,12	9,82
60	96,76	6,27	6,48
90	100,27	2,72	2,71
120	101,94	1,60	1,57
150	106,59	1,03	0,96
180	104,82	0,73	0,70

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	73,32	14,21	19,38
15	79,84	13,74	17,21
20	82,25	12,56	15,27
30	85,57	10,66	12,45
45	89,91	7,66	8,52
60	91,55	4,30	4,70
90	92,96	1,19	1,28
120	93,36	1,03	1,10
150	93,70	0,76	0,82
180	94,23	1,10	1,17

ANEXO III – Continuação

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	54,30	1,35	2,49
15	75,27	0,65	0,87
20	80,47	0,75	0,93
30	84,74	1,03	1,22
45	94,18	0,81	0,86
60	93,90	1,18	1,26
90	94,40	1,10	1,17
120	94,14	0,86	0,91
150	96,04	1,72	1,79
180	94,70	0,58	0,61

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	12,69	3,39	26,69
15	20,12	5,30	26,37
20	22,73	6,03	26,53
30	25,15	5,88	23,40
45	26,89	5,26	19,56
60	28,00	5,00	17,84
90	28,72	4,51	15,69
120	29,09	4,63	15,91
150	30,50	4,81	15,78
180	29,83	5,32	17,84
210	32,10	4,91	15,29
240	32,76	4,74	14,48
270	32,97	4,81	14,59
300	33,48	4,61	13,77

- 50 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	73,23	7,29	9,95
15	90,04	6,24	6,93
20	97,12	4,06	4,18
30	99,48	0,97	0,97
45	100,77	1,31	1,30
60	99,91	0,52	0,52
90	103,85	0,91	0,87

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	56,83	1,85	3,25
15	82,21	0,59	0,72
20	88,87	0,61	0,69
30	93,80	1,08	1,15
45	103,23	0,85	0,83
60	105,28	1,35	1,28
90	106,91	1,21	1,13

ANEXO III – Continuação

MEIO: SES pH 6,8 c/ LSS a 0,5%.

- 25 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	63,39	2,07	3,26
15	74,12	1,71	2,31
20	77,81	1,60	2,06
30	79,19	1,28	1,62
45	80,27	0,98	1,22
60	80,46	1,15	1,43
90	82,25	1,13	1,37
120	82,41	0,89	1,08
150	80,58	1,76	2,19
180	80,60	0,64	0,79

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	69,49	3,02	4,34
15	78,47	2,37	3,02
20	81,35	2,23	2,74
30	83,40	2,00	2,40
45	84,60	1,42	1,68
60	85,52	1,52	1,78
90	88,94	1,61	1,81
120	88,59	2,23	2,52
150	89,78	3,04	3,39
180	88,87	2,75	3,10

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	40,91	0,79	1,94
15	55,92	0,94	1,69
20	60,23	0,62	1,03
30	64,11	0,79	1,23
45	66,94	0,44	0,65
60	70,65	0,76	1,07
90	70,81	1,26	1,78
120	74,91	2,19	2,93
150	73,56	0,34	0,47
180	73,21	0,39	0,53

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	9,23	1,16	12,61
15	14,45	1,97	13,62
20	16,51	1,91	11,60
30	18,63	1,97	10,56
45	20,32	1,86	9,15
60	20,66	1,98	9,58
90	21,52	1,78	8,29
120	21,66	1,55	7,15
150	21,87	1,62	7,43
180	22,28	1,69	7,60
210	22,42	1,61	7,17
240	22,98	1,70	7,40
270	23,78	1,84	7,73
300	23,76	1,60	6,73

ANEXO III – Continuação

MEIO: Tampão fosfato pH 7,4 c/ poli 80 a 1,0%.

- 25 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	55,86	20,89	37,39
15	60,30	22,39	37,13
20	63,82	22,52	35,29
30	68,99	20,99	30,43
45	79,43	19,69	24,78
60	86,55	15,47	17,87
90	96,01	10,36	10,79
120	99,21	4,78	4,82
150	101,07	2,07	2,04
180	101,27	1,27	1,25

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	72,00	3,54	4,91
15	80,05	4,88	6,09
20	80,91	3,56	4,40
30	82,72	2,86	3,46
45	85,36	1,21	1,42
60	85,84	0,61	0,71
90	84,85	0,60	0,70
120	84,93	0,81	0,95
150	87,18	0,57	0,65
180	85,83	0,79	0,92

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	70,84	1,45	2,05
15	86,94	0,96	1,10
20	90,46	1,32	1,46
30	91,70	0,87	0,95
45	92,28	0,69	0,75
60	92,33	0,70	0,75
90	97,76	0,68	0,69
120	96,18	0,60	0,63
150	95,79	1,37	1,43
180	95,19	0,75	0,79

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	21,88	8,77	40,06
15	31,27	11,93	38,15
20	32,92	12,45	37,81
30	35,25	11,84	33,58
45	37,42	10,39	27,75
60	38,21	9,72	25,42
90	41,04	9,83	23,95
120	41,59	9,51	22,86
150	42,18	9,48	22,47
180	42,28	9,20	21,76
210	41,72	9,40	22,53
240	44,93	9,15	20,37
270	45,63	9,17	20,10
300	45,63	9,03	19,79

ANEXO III – Continuação

- 50 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	65,57	15,70	23,95
15	85,79	12,23	14,26
20	90,99	8,33	9,15
30	96,16	0,82	0,85
45	103,41	1,52	1,47
60	102,31	2,07	2,03
90	102,97	1,19	1,15

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	87,36	10,29	11,78
15	91,05	1,61	1,77
20	92,83	0,25	0,27
30	93,17	0,63	0,68
45	98,67	0,51	0,52
60	98,94	0,76	0,77
90	98,22	0,67	0,68

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	70,53	1,20	1,70
15	90,77	0,90	0,99
20	94,27	1,45	1,54
30	96,20	1,05	1,09
45	97,04	0,98	1,01
60	97,76	1,12	1,15
90	100,82	1,41	1,40

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	36,07	1,13	3,12
15	54,84	1,26	2,29
20	60,38	3,80	6,29
30	66,32	4,04	6,09
45	71,19	3,53	4,95
60	75,27	3,64	4,84
90	84,54	3,35	3,96
120	88,65	3,08	3,48
150	92,43	2,42	2,62
180	94,24	1,99	2,11

ANEXO III – Continuação

MEIO: Solução aquosa com LSS a 1,0%.

- 25 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	54,57	15,14	27,75
15	67,48	20,64	30,59
20	69,27	19,05	27,50
30	77,61	16,96	21,85
45	85,87	14,39	16,75
60	92,94	10,58	11,38
90	98,82	4,25	4,30
120	103,97	1,01	0,97
150	103,25	1,55	1,50
180	102,40	0,85	0,83

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	51,64	11,55	22,37
15	60,05	11,87	19,76
20	64,24	12,41	19,32
30	71,00	10,80	15,21
45	7766%	8,08	10,41
60	83,97	6,01	7,16
90	91,04	1,97	2,16
120	92,47	0,61	0,66
150	95,44	0,42	0,44
180	93,88	0,46	0,48

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	53,28	0,55	1,02
15	73,39	1,07	1,46
20	78,56	1,02	1,30
30	81,51	0,45	0,55
45	83,77	0,75	0,90
60	84,97	0,88	1,04
90	85,39	0,89	1,05
120	85,25	0,61	0,71
150	87,29	1,32	1,51
180	86,94	0,46	0,53

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	5,73	3,91	68,20
15	10,96	6,50	59,34
20	12,38	7,08	57,21
30	14,29	7,09	49,65
45	18,27	5,90	32,31
60	20,98	4,04	19,26
90	23,06	3,25	14,08
120	23,77	2,86	12,01
150	25,05	3,09	12,32
180	25,57	3,06	11,99
210	26,07	3,04	11,68
240	26,45	2,94	11,13
270	27,31	2,98	10,92
300	27,62	2,74	9,93

ANEXO III – Continuação

- 50 rpm

RA

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	52,75	11,87	22,51
15	74,75	10,77	14,41
20	83,19	9,30	11,17
30	91,46	5,12	5,60
45	97,25	0,69	0,71
60	97,93	1,15	1,18
90	97,71	0,77	0,78

TS

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	67,30	7,95	11,81
15	84,12	5,98	7,11
20	87,50	3,76	4,30
30	90,93	0,75	0,82
45	100,26	1,07	1,06
60	99,69	1,28	1,29
90	101,60	0,35	0,34

TB

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	57,45	0,68	1,19
15	78,49	1,60	2,04
20	83,28	1,19	1,42
30	88,39	1,56	1,77
45	93,35	2,57	2,75
60	97,92	1,59	1,62
90	104,08	2,35	2,25

TC

Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
0	0	0	0
5	15,00	0,74	4,94
15	31,70	1,16	3,65
20	36,04	1,38	3,82
30	40,19	1,78	4,44
45	44,28	2,73	6,17
60	47,88	3,51	7,32
90	55,73	3,73	6,69
120	63,99	3,84	6,00
150	69,42	4,36	6,28
180	75,57	3,98	5,27