



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

Estudo de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Comprimidos
de Liberação Imediata contendo Diazepam

Ana Paula dos Santos Matos

Rio de Janeiro
2014

ANA PAULA DOS SANTOS MATOS

**Estudo de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Comprimidos de Liberação
Imediata contendo Diazepam**

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

Orientadoras: Prof.^a. Dr.^a. Carla Holandino e
Dr.^a. Alessandra Lifitch Viçosa

Rio de Janeiro

2014

M433e Matos, Ana Paula dos Santos.

Estudo de pré-formulação e desenvolvimento de comprimidos de liberação imediata contendo diazepam/ Ana Paula dos Santos Matos; orientadores Carla Holandino, Alessandra Lifitch Viçosa. – Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2014.

xxiii, 212f. : il. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Pré-formulação. 2. Compatibilidade fármaco-excipiente. 3. Desenvolvimento farmacotécnico. 4. Diazepam. I. Holandino, Carla. II. Viçosa, Alessandra Lifitch. III. Título

CDD 615.15

ANA PAULA DOS SANTOS MATOS

Estudo de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Comprimidos de Liberação Imediata contendo Diazepam

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

Aprovada em:

Orientadoras:

Prof^a. Dr^a. Carla Holandino Quaresma
Faculdade de Farmácia/UFRJ

Dr^a. Alessandra Lifschitz Viçosa
Farmanguinhos/FIOCRUZ

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Adriana Passos Oliveira
Faculdade de Farmácia/UFRJ

Prof. Dr. Eduardo Ricci Junior
Faculdade de Farmácia/UFRJ

Prof. Dra. Rita de Cássia Elias Estrela Marins
Faculdade de Farmácia/UFRJ

Aos meus pais, Ana Cristina e Paulo Roberto
por terem me ajudado sempre;
Ao José Duarte por todo o carinho;
A toda minha família pelo apoio.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por me guiar nas escolhas e caminhos escolhidos e me dar força para superar todos os obstáculos;

A **toda minha família** por tudo o que fizeram e fazem por mim;

As minhas orientadoras e amigas **Carla Holandino e Alessandra Viçosa** pelo incentivo, apoio, orientação, confiança e amizade durante esses dois anos;

Aos amigos do *Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - LTF - Farmanguinhos* (**Alexandre Carnevale, Ana Lúcia, Ana Cláudia, Ana Carolina, Andreia – Madrinha, André, Sr. Celso, Daniel, Douglas, Evanil, Sr. Fernando, Fernandinha, Jônatas, Márcia, Thiago Frances, Thiago Moraes, Vitor**) por todo o carinho, apoio, ensinamentos, conselhos, conversas e colaboração nesse trabalho;

Aos amigos do *Laboratório de Estudos do Estado Sólido - LEES - Farmanguinhos* (**Altivo, Janine, Fernanda, Rafael, Sabrina**) por todo auxílio, ensinamentos e colaboração nessa dissertação;

Aos colegas do *Controle de Qualidade prédio 70 - CQ - Farmanguinhos* por me deixarem usufruir do espaço para a realização dos experimentos;

Aos colegas do *Laboratório de Validação Analítica – LDVA - Farmanguinhos* (**Rosemberg, Luciana, Lucia, Diogo, Flávia, Érica, Miria, Ivone, Graça, Dona Vera**) pelo apoio, colaboração, carinho;

Aos colegas da *Síntese Química*, em especial a **Paula de Sá**, por todo auxílio nos ensaios preliminares de solubilidade e na revelação das CCFs;

Aos colegas do *Centro de Equivalência Farmacêutica - CEF - Farmanguinhos* (**Adelaine, Karley, Valeria, Lindalva, Laís**) pelo auxílio nas análises de infravermelho e cromatografia líquida de alta eficiência e no fornecimento de reagentes;

Aos colegas de *Bioprodutos - Farmanguinhos*, em especial a **Guta**, por todo o carinho, apoio e fornecimento de espaço e vidrarias;

À *Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth – Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz* (**Roger, Rômulo, Suzana**) pelo auxílio nas análises de microscopia eletrônica;

Ao *Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica - LAQFA* pela utilização das câmaras climáticas para o estudo de compatibilidade fármaco-excipientes;

Ao **prof. Dr. Paulo Picciani e ao técnico Alan** do *Instituto de Macromoléculas - IMA – UFRJ* pelas análises de difração de raio-X;

Ao **Dr. Fabio Dantas e ao técnico Izamir** do *Instituto Nacional de Tecnologia - INT* pelas análises de tensão superficial das amostras do estudo de molhabilidade;

À **prof. Dra. Rita Estrela** e ao *Laboratório de Farmacometria – Lab Farma - UFRJ* pela ajuda e orientação nas análises de correlação *in vitro in vivo*;

Aos meus amigos do *LabDeff - Farmanguinhos*, principalmente **Jéssica Costa e Lucas Chagas** por toda ajuda e carinho em várias etapas dessa dissertação;

Aos amigos do *LabCholandino - UFRJ* (**Carla, Venicio, Cesar, Camila, Fortune, Felipe, Fran, Isadora, Gleyce**) que me acolheram da melhor forma possível no laboratório, pelo carinho, amizade e ajuda;

Aos meus amigos da *faculdade* (**Amanda, Clarice, Diego, Rafael, Renato**) que entendiam os meus sumiços e minha falta de tempo para eventuais encontros;

Aos membros da banca de acompanhamento (**prof. Dra. Rita Estrela e a prof. Dra. Sheila Garcia**) e da banca da defesa (**prof. Dra. Adriana Passos, prof. Dr. Eduardo Ricci, prof. Dra. Rita Estrela**) e aos membros suplentes (**prof. Dr. Edemilson da Conceição, prof. Dra. Lucia Jaeger**) por terem aceitado o convite;

Ao Curso de Pós – **graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio de Janeiro** pela oportunidade de crescimento profissional;

A **Capes** pela bolsa de pesquisa;

A todas as pessoas que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

MATOS, Ana Paula dos Santos. **Estudo de pré-formulação e desenvolvimento de comprimidos de liberação imediata contendo diazepam**. Rio de Janeiro, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

O desenvolvimento de uma formulação segura, eficaz e estável precisa considerar as características físicas, químicas e biológicas de todos os componentes utilizados na fabricação de um medicamento, principalmente no desenvolvimento de produtos genéricos ou similares. Um dos principais desafios das indústrias farmacêuticas é o desenvolvimento de formulações sólidas orais contendo fármacos de baixa solubilidade em água que, como consequência, apresentam baixa taxa de dissolução e baixa biodisponibilidade oral. Um exemplo de fármaco que apresenta baixa solubilidade em água é o diazepam, um fármaco ansiolítico pertencente ao grupo dos derivados 1,4 benzodiazepínicos que possui grande importância farmacêutica. Neste trabalho foi desenvolvido o estudo de pré-formulação, desenvolvimento de uma formulação sólida oral, estudo de estabilidade da formulação eleita, estudo de equivalência e bioequivalência farmacêutica e correlação *in vitro in vivo* envolvendo o fármaco diazepam. Foram utilizados três lotes da matéria-prima diazepam que foram caracterizados quanto suas características físicas e físico-químicas. O lote que apresentou as características mais adequadas para o desenvolvimento de uma formulação sólida oral (comprimidos de liberação imediata) foi submetido a um estudo de compatibilidade fármaco-excipiente e a um estudo de solubilidade em três diferentes meios (pH 1,2; pH 4,5 e pH 6,8). Não foi detectada incompatibilidade fármaco-excipiente com os excipientes propostos nesse estudo, e durante o ensaio de solubilidade pode-se observar que o diazepam é classe I segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Após esses estudos, foi realizado o desenvolvimento de lotes experimentais e estes foram avaliados quanto às características físicas e físico-químicas. De acordo com os resultados, foram desenvolvidos lotes pilotos com a formulação eleita. Os lotes pilotos apresentaram adequada estabilidade e foram aprovados quanto aos estudos de equivalência e bioequivalência farmacêutica quando comparados ao medicamento referência. Além disso, foi obtida uma correlação *in vitro in vivo* nível C múltiplo comparando as formulações teste e referência. Com isso, a formulação desenvolvida apresentou resultados satisfatórios

para a submissão ao processo de re-desenvolvimento do medicamento à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Palavras-chave: pré-formulação, compatibilidade fármaco-excipiente, desenvolvimento farmacotécnico, diazepam.

ABSTRACT

MATOS, Ana Paula dos Santos. **Pre-formulation study and development of immediate release tablets containing diazepam.** Rio de Janeiro, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

The development of a safe, stable and effective formulation should be consider the physical, chemical and biological characteristics of all components used in the medicine production, especially during the development of generic or similar products. One of the major challenges in pharmaceutical industry consist in the development of oral solid formulations containing drugs with low water solubility, hence, with a low rate of dissolution and low oral bioavailability. Diazepam, an example of drug with low water solubility, is an anxiolytic drug belonging in the 1,4 benzodiazepine derivates group and with a large pharmaceutical importance. In this work several studies involving diazepam drug were conducted, as: pre-formulation study; development of an oral solid formulation; stability study of the selected formulation; study of pharmaceutical equivalence and bioequivalence; and *in vitro-in vivo* correlation (*IVIVC*). Three batches of diazepam raw material were used in physical and physico-chemical characterization. The batch, which presented the most suitable characteristics for development of an oral solid formulation (immediate release tablets), was submitted to a compatibility drug-excipient study and a solubility test in three different media (pH 1.2, pH 4.5 and pH 6.8). Any drug-excipient incompatibility with the excipients proposed were detected in this study and the solubility test indicated that diazepam is a class I drug according to the Biopharmaceutical Classification System. After these studies, the production of experimental batches was performed and their physical and physico-chemical characteristics were analyzed. The pilot batches were produced with the selected formulation based on experimental batches results. These batches showed an appropriate stability and one of them has been approved in pharmaceutical equivalence and bioequivalence studies when compared to the reference drug. In addition, the *in vitro-in vivo* correlation level C multiple was obtained comparing test and reference formulations. Thus, the formulation developed has satisfactory results for the submission of the renewal renovation process in Brazilian National Health Surveillance Agency (ANVISA).

Keywords: pre-formulation, compatibility drug-excipients, pharmaceutical development, diazepam.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Propriedades dos materiais e as principais características que influenciam a estrutura da própria partícula, mistura de materiais e formulação	30
Figura 2 - Esquema representativo de um microscópio eletrônico de varredura	31
Figura 3 - Diferença entre os dois métodos de detecção de tamanho de partícula por espalhamento de luz laser	34
Figura 4 - Imagem do equipamento de análise de fluxo	38
Figura 5 – Esquema de um difratômetro tradicional ou DRXP	43
Figura 6 – Representação do método de Stevens	44
Figura 7 – Efeito da força de compressão em um material sólido	46
Figura 8 – Fatores que comprometem a compatibilidade entre o insumo farmacêutico ativo (IFA) e excipientes de uma formulação	49
Figura 9 – Fórmula estrutural do diazepam	55
Figura 10 – Biotransformação do diazepam	57
Figura 11 – Fluxograma da sistemática do trabalho	60
Figura 12 – Imagens do desenvolvimento do teste de Stevens: (a) e (b) tamisação do diazepam sobre a placa de Petri contendo solução corada e (c) placa de Petri com amostra tempo inicial	66
Figura 13 – Imagem do tensiômetro e do procedimento de medida da tensão superficial das soluções preparadas para análise de molhabilidade	67
Figura 14 – Sequência de preparo dos comprimidos para o ensaio de compressibilidade do diazepam	69
Figura 15 - Imagem do equipamento preparado para a análise de solubilidade do diazepam	71
Figura 16 – Acondicionamento das misturas do estudo de compatibilidade	74
Figura 17 – Acondicionamento das amostras na câmara climática	75
Figura 18 – Etapas do processo produtivo para obtenção do produto diazepam 10mg comprimidos	79

Figura 19 – Embalagens primárias utilizadas no produto diazepam 10mg comprimidos	80
Figura 20 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura de (a) DZA, (b) DZB e (c) DZC	88
Figura 21 – Resultado da distribuição granulométrica dos três lotes de diazepam	90
Figura 22 – Distribuição granulométrica dos três lotes de diazepam por espalhamento de luz laser	91
Figura 23 – Perfil de dissolução do medicamento referência Valium®10mg comprimidos realizado em três meios distintos	92
Figura 24 – Perfil de dissolução, em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5, por dispersão do diazepam	94
Figura 25 – Análise de densidade dos três lotes de diazepam	96
Figura 26 – Imagem após o teste de escoamento de fluxo de uma das três amostras da matéria-prima diazepam	98
Figura 27 – Análise de ângulo de repouso dos três lotes de diazepam	98
Figura 28 – Imagens das curvas de calorimetria exploratória diferencial dos três lotes de diazepam analisados e suas respectivas duplicatas	100
Figura 29 – Imagens das curvas de termogravimetria dos três lotes de diazepam analisados e suas respectivas duplicatas	102
Figura 30 – Resultado da análise de DRXP dos lotes de diazepam	103
Figura 31 – Espectroscopia de infravermelho das amostras DZA, DZB e DZC	104
Figura 32 – Imagens do <i>screening</i> inicial realizado com a amostra DZB	106
Figura 33 – Imagem do <i>screening</i> final das três amostras de diazepam	108
Figura 34 - Imagem do <i>screening</i> final do ensaio de molhabilidade das amostras DZA e DZC	109
Figura 35 – Resultados do estudo de compressibilidade do	112

diazepam

Figura 36 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em água	114
Figura 37 – CCF do diazepam em água ultrapura (A- amostra, R – padrão)	115
Figura 38 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em tampão fosfato pH 6,8.	116
Figura 39 – CCF do diazepam em meio tampão fosfato pH 6,8 (A- amostra, R –padrão).	117
Figura 40 – Curva de calibracão da solubilidade do diazepam em tampão acetato pH4,5	118
Figura 41 – CCF do diazepam em meio tampão acetato pH 4,5 (A- amostra, R –padrão).	119
Figura 42 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M.	120
Figura 43 – Ensaio de solubilidade de diazepam em meio HCl 0,1M.	121
Figura 44 – CCF do resultado do ensaio de solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M (A- amostra, R –padrão).	121
Figura 45 – Análise de DSC das misturas (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3)	123
Figura 46 – Análise de TG das misturas de (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3)	125
Figura 47 - Análise de infravermelho com transformada de Fourier das misturas (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3)	126
Figura 48 - Análise de DSC das misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1)	127
Figura 49 - Resultados das análises de TG para as misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1)	129
Figura 50 - Resultados da análise de FTIR das misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1)	131
Figura 51 – Cromatogramas das misturas físicas diazepam e dióxido de silício(a) diazepam matéria-prima, (b) dióxido de silício	132

matéria-prima, (c) DZP+DSI 1:1 três meses de estabilidade (40°C / 75%UR), (d) DZP+DSI 1:0,1 três meses de estabilidade (40°C / 75%UR).

Figura 52 – Resultados de peso médio dos comprimidos dos lotes experimentais	135
Figura 53 – Resultados de dureza dos comprimidos dos lotes experimentais	136
Figura 54 – Resultados de friabilidade dos comprimidos dos lotes experimentais	136
Figura 55 - Perfil de dissolução, em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5, comparativo entre amostras de comprimidos de diazepam 10 mg	137
Figura 56 - Perfil de dissolução em meio tampão acetato pH 4,5 dos três lotes pilotos no ponto zero de estabilidade	141
Figura 57 - Correlação <i>in vitro in vivo</i> nível C múltiplo dos medicamentos referência e teste do diazepam 10mg comprimidos.	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens dos comprimidos	28
Tabela 2 – Etapas produtivas para a obtenção de comprimidos pelos três métodos	28
Tabela 3 – Classificação do pó quanto sua granulometria	33
Tabela 4 – Fatores que afetam a velocidade de dissolução de um fármaco	36
Tabela 5 – Classificação do tipo de fluxo de um pó	39
Tabela 6 – Nomenclatura de caracterização da molhabilidade de um pó	45
Tabela 7 – Classificação da solubilidade de uma substância	47
Tabela 8 – Parâmetros utilizados para cada nível de correlação <i>in vitro in vivo</i>	54
Tabela 9 – Classificação biofarmacêutica de fármacos	54
Tabela 10 – Lista dos parâmetros para a realização do ensaio de compressibilidade do diazepam	68
Tabela 11 – Descrição da formulação do medicamento referência Valium®10mg comprimidos	72
Tabela 12 – Listagem das matérias-primas, suas respectivas funções e suas siglas de identificação utilizadas no estudo de compatibilidade fármaco-excipiente	73
Tabela 13 – Listagem das misturas de diazepam e excipientes com proporção de uma formulação	74
Tabela 14 – Protocolo do estudo de estabilidade das amostras do ensaio de compatibilidade	75
Tabela 15 – Nomenclatura adotada para identificação dos lotes de comprimidos de diazepam 10mg produzidos	77
Tabela 16 – Descrição das formulações preparadas no desenvolvimento dos lotes experimentais de comprimidos de diazepam 10mg	77
Tabela 17 – Distribuição granulométrica dos três lotes de matéria-prima diazepam	89

Tabela 18 – Distribuição do tamanho de partícula das amostras de diazepam	91
Tabela 19 – Porcentagem de dissolução dos três lotes de diazepam	95
Tabela 20 – Índice de Carr e Índice de Hausner das matérias-primas	97
Tabela 21 – Classificação do fluxo das amostras de diazepam baseado nos resultados do ângulo de repouso	99
Tabela 22 – Resultados obtidos do <i>screening</i> inicial do estudo de molhabilidade do diazepam	107
Tabela 23 – Resultados do <i>screening</i> final do ensaio de molhabilidade do diazepam	108
Tabela 24 – Resultados obtidos no <i>screening</i> final do ensaio de molhabilidade das amostras DZA e DZC	110
Tabela 25 – Número de molhagem dos três lotes de diazepam	110
Tabela 26 – Pontos da curva de calibração do diazepam padrão primário USP em água	114
Tabela 27 – Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em água após 24 horas de ensaio	115
Tabela 28 – Pontos da curva de calibração do diazepam padrão primário USP em tampão fosfato de potássio pH 6,8	116
Tabela 29 - Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em tampão fosfato pH 6,8 após 24 horas de ensaio	117
Tabela 30 – Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em tampão acetato pH 4,5 após 24 horas de ensaio	118
Tabela 31 - Parâmetros térmicos obtidos por DSC das misturas DZP+DSI	128
Tabela 32 - Resultados do controle em processo dos seis lotes experimentais produzidos	135
Tabela 33 - Resultados da análise do fator de semelhança dos lotes experimentais de diazepam 10mg comprimidos	139
Tabela 34 - Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos do lote experimental e dos lotes de aumento de escala (lotes pilotos)	140

Tabela 35 - Resultados do estudo do fator de semelhança dos lotes pilotos de diazepam 10mg comprimidos de liberação imediata	142
Tabela 36 - Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos após três meses do estudo de estabilidade acelerada	144
Tabela 37 - Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos após seis meses do estudo de estabilidade acelerada	145
Tabela 38 - Parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência	147
Tabela 39 - Parâmetros farmacocinéticos para o estudo de CIVIV nível C múltiplo	148
Tabela 40 - Dados de dissolução para o estudo de CIVIV nível C múltiplo	148
Tabela 41 – Validação dos dados de $ASC_{parcial}$ obtidos da equação da reta do medicamento referência	149
Tabela 42 - Validação dos dados de $ASC_{parcial}$ obtidos da equação da reta do medicamento teste	149

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Equação de Noyes–Witney	35
Equação 2 – Equação do Índice de Carr	38
Equação 3 – Equação do Índice de Hausner	38
Equação 4 – Equação do ângulo de repouso	39
Equação 5 – Equação de variação de entalpia	40
Equação 6 – Equação da lei de difração de Bragg	42
Equação 7 – Equação do fator de diferença (f1)	51
Equação 8 – Equação do fator de semelhança (f2)	52
Equação 9 – Equação da porcentagem de massa retida no tamis	62
Equação 10 – Equação do índice de polidispersão ou span	62
Equação 11 – Equação de molhabilidade	66
Equação 12 – Equação de quantidade de teor (mg/comp)	82
Equação 13 –Equação de % Teor	83

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AGS - amido glicolato de sódio
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APG – amido pré-gelatinizado
ASC – Área sob a curva
CCF – Cromatografia em camada fina
CCS – croscarmelose sódica
CIVIV – Correlação *in vitro in vivo*
CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
 $C_{máx}$ – Concentração máxima
comp. – comprimido
CYP – citocromo P
DCB – Denominação comum brasileira
DCI – Denominação comum internacional
DRXP – Difração de raio-X de pó
DSC – Calorimetria exploratória diferencial
DSI – dióxido de silício coloidal
DZP - diazepam
dynes/cm –dynes por centímetro
EMG – estearato de magnésio
g- grama
GABA – ácido gama aminobutírico
HCl – ácido clorídrico
FB – Farmacopeia Brasileira
FDA – Food and Drug Administration
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
FTIR – infravermelho com transformada de Fourier
f1 – fator de diferença
f2 – fator de semelhança
h - horas
IC – Índice de Carr
IH – Índice de Hausner
IFA – Insumo farmacêutico ativo
IMA – Instituto de Macromoléculas Heloisa Mano
INT – Instituto Nacional de Tecnologia
J/g – joule por grama
KBr – brometo de potássio
K/min – Kelvin por minuto
Ke – constante de eliminação
Kg - quilograma
kN – quilonewton
kV – quilovolt
L - litro
LabFARMA – Laboratório de Farmacocinética
LAC – lactose monohidratada “spray-dried”
LAQFA – Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica
LDVA – Laboratório de Validação Analítica
M – molar

mA – miliampère
MCC – celulose microcristalina 102
MEV – microscopia eletrônica de varredura
mg – miligramas
mg/L – miligramas por litro
mg/mL – miligrama por mililitro
min – minutos
mL – mililitro
mL/min – mililitro por minuto
mm – milímetro
mTORR – millitorr
m/v – massa por volume
nm – nanômetro
Pa - Pascal
pH – potencial hidrogênico
pKa – constante de acidez
p/p – peso peso
PVC – policloreto de vinila
PVdC – policloreto de vinilideno
RDC – Resolução de Diretoria Colegiada
RE – Resolução
RENAME – Relação de medicamentos essenciais
rpm – rotações por minuto
 r^2 – coeficiente de correlação
SCB – Sistema de classificação biofarmacêutica
seg – segundos
span – índice de polidispersão
TAL – talco 325 Mesh
TDM – tempo de dissolução médio
TGA – análise termogravimétrica
TG – termogravimetria
 $T_{máx}$ – tempo da concentração máxima
 $t_{1/2}$ - tempo de meia vida do fármaco
TRM – tempo de residência média
UR – Umidade relativa do ar
USA – United States of America
USP – The United States Pharmacopeia
UV – Ultravioleta
Vis - visível
 ΔH – entalpia
 μL – microlitro
 μm – micrometro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1. Formulações Sólidas Orais	27
2.2. Estudo de Pré-formulação	29
2.2.1. Morfologia	30
2.2.2. Tamanho de Partícula	32
2.2.3. Dissolução	35
2.2.4. Fluidez	37
2.2.5. Estabilidade Térmica, Pureza e Composição Química	40
2.2.6. Cristalinidade	42
2.2.7. Molhabilidade	44
2.2.8. Compressibilidade	45
2.2.9. Solubilidade	47
2.2.10. Compatibilidade	49
2.3. Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência	50
2.4. Correlação <i>In Vitro In Vivo</i> (CIVIV)	52
2.5. Diazepam	55
2.5.1. Propriedades Físico-químicas	55
2.5.2. Propriedades Farmacodinâmicas e Mecanismo de Ação	56
2.5.3. Propriedades Farmacocinéticas	56
2.5.3.1. Absorção e Distribuição	56
2.5.3.2. Metabolismo e Eliminação	57
2.5.3.3. Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)	58
2.5.3.4. Formas Farmacêuticas	58
3. OBJETIVOS	59
3.1. Objetivo Geral	59
3.2. Objetivos Específicos	59
4. MATERIAL E MÉTODOS	60
4.1. <u>Estudo de Pré-formulação</u>	60
4.1.1. Análise Visual	60
4.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	61
4.1.3. Análise de Distribuição Granulométrica	61
4.1.3.1. Tamisação	61
4.1.3.2. Espalhamento de Luz Laser	62
4.1.4. Perfil de Dissolução	63
4.1.4.1. Avaliação de Diferentes Meios de Dissolução com o Medicamento Referência Valium® 10mg Comprimidos	63
4.1.4.2. Perfil de Dissolução por Dispersão	63
4.1.5. Densidade Aparente e Batida	64

4.1.6. Análise de Fluxo	64
4.1.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	65
4.1.8. Análise Termogravimétrica (TGA)	65
4.1.9. Difração de Raio-X de Pó (DRXP)	65
4.1.10. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	65
4.1.11. Ensaio de Molhabilidade	66
4.1.12. Ensaio de Compressibilidade	67
4.1.13. Ensaio de Solubilidade	69
4.2. <u>Estudo de Compatibilidade Fármaco-excipiente</u>	72
4.3. <u>Desenvolvimento Farmacotécnico</u>	76
4.3.1. Peso Médio	80
4.3.2. Dureza	80
4.3.3. Friabilidade	81
4.3.4. Desintegração	81
4.3.5. Teor	81
4.3.5.1. Condições Cromatográficas	81
4.3.5.1.1. Preparo de Padrão	82
4.3.5.1.2. Preparo de Amostra	82
4.3.5.1.3. Cálculo da Quantidade de Diazepam	82
4.3.6. Perfil de Dissolução	83
4.3.7. Uniformidade de Conteúdo	83
4.4. <u>Estudo de Estabilidade Acelerada</u>	84
4.4.1. Substâncias Relacionadas do Diazepam	84
4.5. <u>Estudo de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência</u>	85
4.6. <u>Correlação <i>In Vitro-In Vivo</i> (CIVIV)</u>	85
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
5.1. <u>Estudo de Pré-formulação</u>	87
5.1.1. Análise Visual	87
5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	87
5.1.3. Análise de Distribuição Granulométrica	89
5.1.3.1. Tamisação	89
5.1.3.2. Espalhamento de Luz Laser	91
5.1.4. Perfil de Dissolução	92
5.1.4.1. Avaliação de Diferentes Meios de Dissolução com o Medicamento Referência Valium® 10mg Comprimidos	92
5.1.3.2. Perfil de Dissolução por Dispersão	94
5.1.5. Análise de Densidade Aparente e Batida	96
5.1.6. Análise de Fluxo	97
5.1.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	99
5.1.8. Análise Termogravimétrica (TGA)	101

5.1.9. Difração de Raio-X de Pó (DRXP)	103
5.1.10. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	104
5.1.11. Ensaio de Molhabilidade	105
5.1.12. Ensaio de Compressibilidade	111
5.1.13. Ensaio de Solubilidade	113
5.2. <u>Estudo de Compatibilidade Fármaco-excipiente</u>	122
5.3. <u>Desenvolvimento Farmacotécnico</u>	133
5.3.1. Desenvolvimento de Formulações	133
5.3.2. Controle em Processo	134
5.3.3. Perfil de Dissolução dos Comprimidos do Produto Diazepam 10mg	137
5.3.4. Desenvolvimento de Lotes Pilotos	139
5.3.5. Perfil de Dissolução dos Lotes Pilotos	141
5.4. <u>Estudo de Estabilidade Acelerada</u>	143
5.5. <u>Estudo de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência</u>	146
5.6. <u>Correlação <i>In Vitro-In Vivo</i> (CIVIV)</u>	147
6. CONCLUSÃO	151
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153
8. ANEXOS	168

1. INTRODUÇÃO:

Os fármacos ou insumos farmacêuticos ativos (IFA) são raramente administrados sozinhos, e sim como parte de uma formulação em combinação com vários componentes não medicinais (excipientes) com função farmacêutica variada e especializada. Para o desenvolvimento de uma formulação segura, eficaz e estável é necessário considerar as características físicas, químicas e biológicas de todos os ingredientes utilizados na fabricação do produto. As formas farmacêuticas sólidas orais, como cápsulas e comprimidos, constituem em mais de 80% das formulações encontradas no mercado mundial (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007; SARRAGUÇA *et al.*, 2010; GHOROI *et al.*, 2013). Isto pode ser explicado pela melhor estabilidade desses produtos, maior facilidade de produção em larga escala e melhores formas de apresentação para o paciente, facilitando sua administração e adesão ao tratamento (ANGIOLUCCI *et al.*, 2012).

Uma das formas farmacêuticas sólidas mais comumente comercializada é o comprimido. Este pode ser preparado por três vias de produção diferentes: compressão direta, granulação via seca e granulação via úmida (AULTON, 2005). A compressão direta é o processo mais realizado nas indústrias farmacêuticas por ser mais econômico e apresentar menor número de etapas de produção (pesagem dos materiais, mistura e compressão). Além disso, por ser um processo que não necessita de presença de água e nem alterações na temperatura, proporciona uma estabilidade maior ao produto final (VILANOVA, AYRES & ORÉFICE, 2011).

Previamente as realizações dos experimentos de formulação para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos novos, é necessário fazer uma avaliação minuciosa das características do insumo farmacêutico (ativo e excipientes) e das influências destas características que impactam na qualidade do medicamento final a ser desenvolvido, na formulação e na via de administração do fármaco analisado (LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001). Infelizmente, a grande maioria das empresas farmacêuticas não executa esta etapa, chamada de pré-formulação, no intuito de ganhar tempo no cronograma de lançamento de novos produtos. Tempo este que pode ser perdido em função de algum insucesso durante o desenvolvimento farmacotécnico dos medicamentos por falta de uma avaliação prévia bem feita dos insumos de partida. Os estudos de pré-formulação visam

melhorar o entendimento do comportamento do fármaco e do medicamento final objetivando o desenvolvimento de formulações mais eficazes e seguras (MAXIMILIANO *et al.*, 2010).

O entendimento e controle das características dos insumos farmacêuticos no estado sólido, como substâncias puras ou produtos formulados, constituem uma parte muito importante do processo de desenvolvimento de novos medicamentos (JINNO *et al.*, 2006) e/ou medicamentos genéricos ou similares.

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente é uma das etapas do estudo de pré-formulação (TITA *et al.*, 2011). Este é importante para o conhecimento de interações físicas e químicas entre fármacos e excipientes que podem influenciar a natureza química, a estabilidade, a solubilidade e a absorção *in vivo* do fármaco (MURA *et al.*, 1998) e a segurança e eficácia do medicamento (DOUSA *et al.*, 2011).

Para o desenvolvimento dos medicamentos genéricos, são imprescindíveis as análises das características dos componentes da formulação, já que estes podem apresentar formulação e processo de fabricação diferentes do medicamento referência, devido à grande variedade de equipamentos e fornecedores de matéria-prima existentes. Entretanto, essas diferenças não podem comprometer o ensaio de bioequivalência entre o produto genérico e o referência (STORPIRTIS *et al.*, 2004), ensaio, este, que garante a intercambialidade dos dois tipos de medicamentos (BRASIL, 1999).

Uma alternativa a realização do ensaio de bioequivalência de medicamentos genéricos e referência é a realização de um estudo de correlação *in vivo-in vitro* (CIVIV). Este estudo permite relacionar os parâmetros *in vitro* com os dados *in vivo* e é um método alternativo para a análise de formulações que apresentam a dissolução como parâmetro limitante da absorção do fármaco. Além disso, a CIVIV pode ser utilizada em casos de alterações pós-registro, minimizando os estudos em humanos, e para os fármacos considerados bioisentos de estudos de bioequivalência (EMANI, 2006).

Um dos principais desafios farmacotécnicos em indústrias farmacêuticas é o desenvolvimento de formulações contendo fármacos de baixa solubilidade em água e o melhoramento das taxas de dissolução destes fármacos (LEUNER & DRESSMAN, 2000; FORSTER *et al.*, 2001). Os fármacos que apresentam baixa solubilidade em água apresentam baixa biodisponibilidade por via oral e precisam ter

sua taxa de dissolução melhorada. Para melhorar a taxa de dissolução da matéria-prima podem ser utilizados diversos métodos, como micronização, dispersão sólida, deposição de solvente, dentre outros (SUGIMOTO *et al.*, 1998). Além disso, para realizar os testes de dissolução deste grupo de fármacos é necessário preparar um meio de dissolução que promova a dissolução do fármaco analisado. Neste caso, o meio de dissolução pode ser preparado com o uso de substâncias surfactantes, co-solventes ou alterações de pH para fármacos ionizáveis (EL-MASSIK *et al.*, 1996). A dissolução de um produto pode ser afetada por vários fatores, como o estado físico da formulação, a natureza dos excipientes, o revestimento do comprimido e o tamanho de partículas (DAHLBERG *et al.*, 2010). Este último é um parâmetro físico determinante no perfil de dissolução, já que a taxa de dissolução é diretamente proporcional à área superficial de um IFA (HÖRTER & DRESSMAN, 2001).

Para se avaliar a influência de tais características, foi escolhido, para este estudo, um fármaco modelo de baixa solubilidade em água (VERHEYEN *et al.*, 2002), o diazepam, que pertence ao grupo dos derivados de 1,4-benzodiazepínicos e possui grande importância terapêutica.

Nesse âmbito, Farmanguinhos, uma empresa farmacêutica estatal ligada a Fundação Oswaldo Cruz e reconhecida como o maior laboratório oficial vinculado ao Ministério da Saúde, vem desenvolvendo diversos medicamentos para atender as demandas do Sistema Único de Saúde (SUS) (FARMANGUINHOS, 2013). Dentre os medicamentos produzidos por Farmanguinhos está o diazepam 10mg, comprimidos de liberação imediata que, para fins de revalidação do registro do referido produto na ANVISA, foi necessário o seu re-desenvolvimento. Tal fato desencadeou um novo delineamento de estudo desse fármaco e do produto, visto que este medicamento apresenta uma grande importância para saúde pública por tratar de diversos distúrbios e por estar presente na relação de medicamentos essenciais (RENAME) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2. REVISÃO DA LITERATURA:

2.1. Formulações Sólidas Orais

Os medicamentos são produtos elaborados com a função de prevenir, curar ou aliviar sintomas compostos por um ou mais princípios ativos ou fármacos e excipientes, dispostos em diferentes formas farmacêuticas no mercado (ANVISA, 2010).

As formas farmacêuticas são desenvolvidas no intuito de promover a liberação de um fármaco de acordo com a via de administração escolhida (AULTON, 2005). Esta via de administração pode ser: oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, retal, ocular, nasal, transdérmica ou tópica e deve ser escolhida segundo a finalidade do produto (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007).

A via de administração oral é a mais comumente utilizada e é planejada para promover um efeito sistêmico através da absorção do fármaco pelas diferentes mucosas e epitélios do trato gastrointestinal. Apesar da via oral apresentar inúmeras desvantagens (início lento do efeito do fármaco, absorção irregular, degradação de alguns fármacos), é a via de administração mais segura, simples e conveniente (AULTON, 2005).

As formas farmacêuticas orais podem ser líquidas (soluções, emulsões) ou sólidas (comprimidos e cápsulas), sendo as formas sólidas mais comercializadas e consumidas no mundo por apresentarem maior estabilidade do fármaco e formulação, facilidade de produção em larga escala, administração de dose única e facilidade de autoadministração (ANGIOLUCCI *et al.*, 2012).

O comprimido consiste em uma forma farmacêutica obtida pela compressão de pós ou grânulos podendo variar tamanho, forma, peso, dureza, desintegração, coloração e forma de liberação (imediate ou modificada) (FERNANDES, 2003), sendo a forma farmacêutica mais desejável, pois é a forma preferida de consumo dos pacientes e de menor custo para a indústria (VILLANOVA, AYRES & ORÉFICE, 2011). Apesar de apresentar inúmeras vantagens, esta forma farmacêutica também apresenta desvantagens. A Tabela 1 relaciona as principais vantagens e desvantagens dessa forma farmacêutica.

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens dos comprimidos (adaptado de AULTON, 2005).

<i>Vantagens</i>	<i>Desvantagens</i>
Baixo custo; Boa estabilidade físico-química e microbiológica; Facilidade de administração; Forma compacta; Maior facilidade de produção em larga escala; Maior precisão e unitarização de dose; Mascaramento de sabor e odor desagradáveis.	Baixa disponibilidade de fármacos pouco solúveis em água; A desintegração de alguns fármacos pode provocar irritação gástrica; Alguns fármacos não apresentam propriedades compressionais adequadas.

Os comprimidos podem ser produzidos por três métodos diferentes: compressão direta, granulação via seca e granulação via úmida. A Tabela 2 descreve as etapas deste processo produtivo.

Tabela 2 – Etapas produtivas para a obtenção de comprimidos pelos três métodos (adaptado de GOHEL & JOGANI, 2005).

<i>Compressão Direta</i>	<i>Granulação via úmida</i>	<i>Granulação via seca</i>
Pesagem	Pesagem	Pesagem
Tamisação	Mistura	Moagem
Mistura	Granulação	Mistura
Compressão	Secagem	Compressão
	Tamisação	Tamisação
	Mistura	Compressão
	Compressão	

O processo de compressão direta é o mais desejado pelas indústrias por possuir menor número de etapas e ser simples, reduzindo custos e tempo de processo de um produto (AULTON, 2005; GOHEL & JOGANI, 2005). Porém, para este processo ser realizado de forma eficiente é necessário otimizar alguns parâmetros como: faixa de granulometria das partículas adequada (tamanho e forma

das partículas), emprego de adjuvantes adequados (promotores de fluxo, aglutinantes e/ou desintegrantes) e utilização de dispositivos mecânicos (intensidade e tempo de aplicação da força de compressão) (SOARES & PETROVICK, 1999). A compressão direta apresenta como desvantagem o uso limitado em formulações que apresentam porcentagem de fármaco correspondente a mais de 30% da formulação ou mais que, aproximadamente, 50mg. Além disso, este processo não pode ser utilizado com materiais de baixa densidade (formam comprimidos muito finos) e com fármacos com baixo fluxo (JIVRAJ, MARTINI & THOMSON, 2000).

2.2. Estudos de Pré-formulação

Os estudos de pré-formulação envolvem análises das propriedades do estado sólido, tais como: de cristalinidade e morfologia; solubilidade e dissolução; ponto de fusão; densidade; higroscopicidade; processabilidade; estabilidade e compatibilidade (BRITAIN, 1995) e propriedades compressionais (LAU, 2001; STEELE, 2009).

As propriedades dos materiais podem influenciar não só as características do próprio material como também da formulação. A Figura 1 apresenta uma relação das propriedades dos materiais e as características que mais influenciam não só a composição do pó, mas, também, as etapas de produção e formulação.



Figura 1 – Propriedades dos materiais e principais características que influenciam a estrutura da própria partícula, a mistura de materiais e a formulação (adaptado HAMAD *et al.*, 2010).

2.2.1. Morfologia

A identificação da morfologia permite supor o comportamento do fármaco em relação a sua velocidade de dissolução e a velocidade e extensão de absorção *in vivo* (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007). As partículas amorfas apresentam uma rápida velocidade de dissolução por serem altamente solúveis, pois apresentam alta energia e uma maior mobilidade molecular (CHIENG, RADES & AALTONEN, 2010) quando comparadas as partículas com formato definido (cristalinas) que apresentam uma velocidade de dissolução menor.

A variação da morfologia e tamanho das partículas de um fármaco pode ser relacionada com problemas no processo de desenvolvimento farmacotécnico, pois possíveis modificações da estrutura das partículas podem indicar alterações na velocidade de dissolução *in vitro* e absorção *in vivo*, além de modificações polimórficas, caso o fármaco apresente polimorfismo (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007).

A microscopia eletrônica de varredura permite identificar a morfologia e elementos químicos de amostras sólidas (CHIENG, RADES & AALTONEN, 2011), além de identificar possíveis formas polimorfas que apresentam formas cristalinas distintas que interferem nas propriedades físicas do fármaco (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007). Além disso, é utilizada para analisar o tamanho de partícula de um fármaco (LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001; AULTON, 2005). É um dos tipos de microscopia mais utilizado por apresentar alta resolução e aparência tridimensional das imagens geradas. Esse microscópio utiliza uma fonte de elétrons que incide sobre uma amostra, a qual precisa passar por um processo de preparo denominado de metalização. A metalização é um processo em que a amostra sólida, colocada sobre uma fita dupla-face no porta-amostra ("STUB"), é inserida em um equipamento conhecido como metalizador, no qual, sob uma atmosfera de gás argônio, ocorre um recobrimento de ouro, ou liga ouro-paládio, na amostra sólida. Esse recobrimento é necessário para permitir a interação do feixe de elétrons do microscópio com a superfície da amostra. Os elétrons refletidos por essa interação são detectados pelo detector que formará a imagem (DEDAVID, GOMES & MACHADO, 2007). Um desenho esquemático sobre o microscópio de eletrônico de varredura está mostrado na Figura 2.

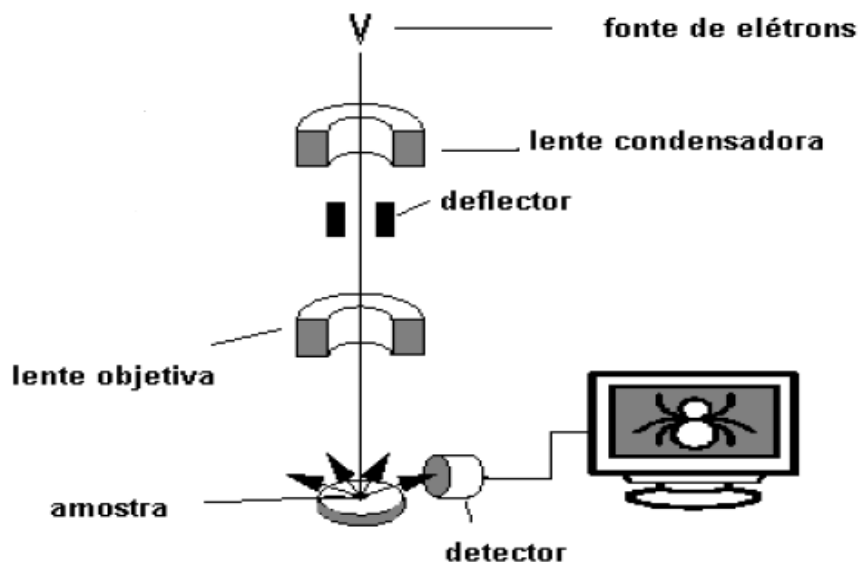


Figura 2 – Esquema representativo de um microscópio eletrônico de varredura (adaptado de DEDAVID, GOMES & MACHADO, 2007).

Kaialy e colaboradores (2014) analisaram as modificações da morfologia dos cristais de paracetamol e do tamanho das partículas proporcionados pela cristalização deste fármaco com diferentes excipientes. Ghugare e colaboradores (2010) analisaram por microscopia eletrônica de varredura as diferentes formas polimórficas cristalinas da indapamida, observando que a forma comercial deste fármaco apresenta morfologia diferente da forma polimórfica I e dos solvatos preparados. Nery e colaboradores (2008) analisaram a morfologia de diferentes lotes da matéria-prima glibenclamida presente no mercado brasileiro e observaram uma diferença de morfologia e tamanho de um dos lotes analisados comparado com as características observadas nos demais lotes avaliados. Seo e colaboradores (2003) avaliaram por microscopia eletrônica de varredura a morfologia obtida após a realização de um processo de granulação úmida contendo dispersão sólida do diazepam e observaram uma melhora no perfil de dissolução do diazepam e que o processo de granulação úmida pode ser uma forma de produção em larga escala de formulações contendo dispersões sólidas.

2.2.2. Tamanho de Partícula

Para a determinação do tamanho de partícula de um material podem ser utilizadas diversas técnicas, dentre estas: o ensaio de tamisação (técnica mais grosseira) e o ensaio de espalhamento de luz laser (técnica mais refinada e mais sensível).

O ensaio de tamisação consiste em analisar a distribuição granulométrica através da passagem ou não da amostra em tamises de diferentes aberturas. Os tamises são escolhidos e organizados de acordo com a abertura do diâmetro da malha (do maior para o menor). Após a pesagem da amostra, a sequência de tamises é colocada em um equipamento que realiza movimentos vibratórios promovendo a separação do material por tamanho de partícula (adaptado de BRASIL, 2010a). De acordo com o resultado de distribuição de tamanho de partícula pode-se classificar o pó quanto sua granulometria, seguindo Tabela 3 apresentada a seguir.

Tabela 3 – Classificação do pó quanto á sua granulometria (adaptado de BRASIL, 2010a).

Classificação do pó	Descrição
Grosso	Apresenta partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 1,70 mm e apresenta, no máximo, 40% das partículas que passam pelo tamis de malha de 355 μm .
Moderadamente grosso	Apresenta partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 710 μm e apresenta, no máximo, 40% das partículas que passam pelo tamis de malha de 250 μm .
Semifino	Apresenta partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 355 μm e apresenta, no máximo, 40% das partículas que passam pelo tamis de malha de 180 μm .
Fino	Apresenta partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 180 μm .
Finíssimo	Apresenta partículas que passam em sua totalidade pelo tamis de malha 125 μm .

Já o espalhamento de luz laser é uma técnica de avaliação de tamanho de partícula que consiste em realizar uma dispersão das partículas de um pó em um meio líquido (PAPINI, 2003) e essa suspensão é colocada no equipamento. A dispersão de luz das partículas é realizada em um ângulo inversamente proporcional ao tamanho das partículas. A intensidade angular da luz dispersada é, então, medida por uma série de detectores fotossensíveis. Podem ser utilizadas duas técnicas para análise dos resultados: a de Mie e a de Fraunhofer (KIPPAX, 2011). A diferença entre as duas está mostrada na Figura 3.

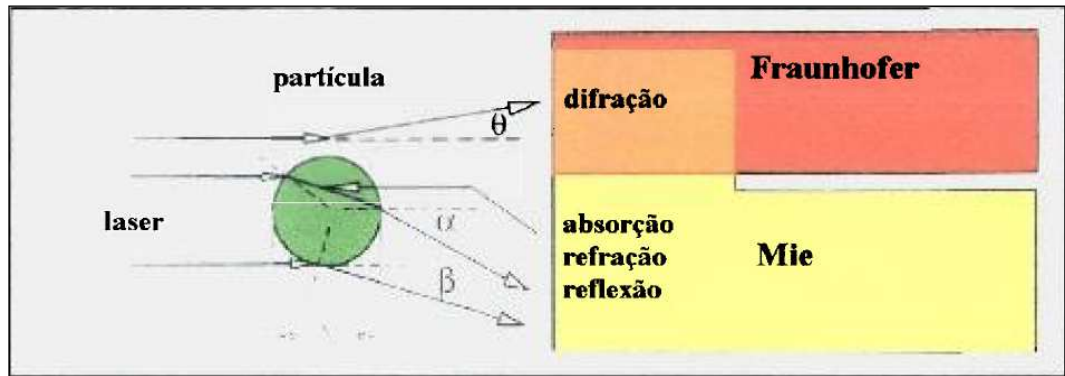


Figura 3 – Diferença entre os dois métodos de detecção de tamanho de partícula por espalhamento de luz laser (PAPINI, 2003).

O método de Fraunhofer assume que as partículas são opacas e não transmite a luz incidida, analisando a difração desta. Este método também assume que todas as partículas são esféricas medindo seus diâmetros (KIPPAX, 2011). O método de Mie utiliza um cálculo matemático para o espalhamento de luz incidente sobre diferentes formatos e aspectos das partículas, porém é necessário o conhecimento do índice de refração entre a partícula e o meio dispersante (PAPINI, 2003; KIPPAX, 2011).

A distribuição do tamanho de partícula de um fármaco influencia várias características físico-químicas, como: taxa de dissolução, biodisponibilidade, uniformidade de conteúdo, estabilidade. Além disso, as propriedades de fluxo e razão de sedimentação do pó também são fatores relacionados ao tamanho de partícula (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007). Partículas muito grandes apresentam uma velocidade de dissolução menor que partículas menores, sendo a redução do tamanho de partícula uma forma de melhorar o perfil e velocidade de dissolução de um fármaco e melhorar o perfil de absorção deste *in vivo* por aumentar a superfície de contato do fármaco com o meio de dissolução (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007; STORPIRTIS *et al.*, 2009).

A redução do tamanho de partícula pode favorecer a uniformidade de dosagem do medicamento, principalmente quando contém fármacos de baixa dosagem. No entanto, pode dificultar a capacidade de processamento com aglomeração e resultar em segregação. Isto pode acontecer devido a incompatibilidades de tamanho e forma de partículas, energia superficial, energia eletrostática, interação adesiva entre outras. Partículas de IFA muito grandes podem

melhorar os procedimentos farmacotécnicos embora comprometam a uniformidade de dose (HUANG & KU, 2010).

Jinno e colaboradores (2006) avaliaram o tamanho de partícula do cilastozol após a realização do processo de moagem do fármaco de diferentes formas e obtiveram tamanhos de partículas pequenos, porém diferentes entre si, melhorando o perfil de dissolução e a biodisponibilidade do fármaco. Verheyen e colaboradores (2002) avaliaram o tamanho de partícula dos fármacos diazepam e temazepam em preparações de dispersão sólida e obtiveram partículas menores, porém não proporcionando o melhoramento do perfil de dissolução dos fármacos. Abdelbary e Fahmy (2009) analisaram o tamanho de partícula de nanopartículas lipídicas de diazepam no desenvolvimento de formulações para uso retal e observaram que quanto maior a concentração de surfactantes incorporada na formulação, menor foi o tamanho de partículas encontrado e mais estável as partículas se tornavam.

2.2.3. Dissolução

A dissolução de um sólido em um meio líquido ocorre por meio de uma etapa interfacial (liberação das moléculas do soluto) e uma etapa de difusão do soluto dissolvido através das camadas limítrofes presentes na interface sólido-líquido (AULTON, 2005). Esta propriedade é importante porque fornece informações sobre a velocidade e extensão de liberação do fármaco *in vivo* (ROSA, 2005; STORPIRTIS *et al.*, 2011). A dissolução é utilizada para verificar a qualidade do produto e a biodisponibilidade do fármaco, ajudar na escolha de excipientes e do desenvolvimento do processo de fabricação, auxiliar modificações pós-registro e promover estudos de correlação *in vitro-in vivo* (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

A dissolução é influenciada por diversos fatores, como características físico-químicas do fármaco, solvente e formulação utilizados (ROSA, 2005). A velocidade de dissolução pode ser determinada pela equação de Noyes-Whitney (Equação 1).

$$\frac{dC}{dt} = K \frac{DS}{Vh} (C_s - C_t)$$

Equação 1

Onde:

dC/dt – razão de dissolução

K – constante de proporcionalidade

D – coeficiente de difusão

S – área superficial

$C_s - C_t$ – gradiente de concentração

V – volume do meio de dissolução

h – espessura da camada estagnante (adaptado de BAPTISTA, 2005).

A Tabela 4 correlaciona os fatores que afetam a velocidade de dissolução de um fármaco com os parâmetros da equação Noyes-Whitney.

Tabela 4 – Fatores que afetam a velocidade de dissolução de um fármaco (adaptado de AULTON, 2005).

<i>Parâmetro da equação Noyes-Whitney</i>	<i>Afetado por</i>
	Tamanho de partículas
S	Dispersibilidade do pó no meio de dissolução
	Porosidade das partículas
	Temperatura
	Natureza do meio de dissolução
C _s	Estrutura molecular do fármaco
	Forma cristalina do sólido
	Presença de outros compostos
	Volume do meio de dissolução
C _t	Qualquer processo que remova o sólido dissolvido no meio de dissolução
K	Espessura da camada limítrofe
	Coeficiente de difusão do soluto

Legenda: S – área superficial; C_s – solubilidade do sólido no meio; C_t – concentração do soluto na solução em um tempo t ; k – constante.

O principal parâmetro que influencia diretamente a velocidade de dissolução é o tamanho de partícula. Com a diminuição do tamanho de partícula de um fármaco, ocorre um aumento da área superficial deste e, conseqüentemente, ocorre um aumento da taxa de dissolução do fármaco analisado (ATILA, YILDIZ & ÇALIMLI, 2001).

2.2.4. Fluidez

A fluidez de um pó é um parâmetro importante para o processo de desenvolvimento de um produto, pois, normalmente, determina o peso, a dureza e a uniformidade de conteúdo de comprimidos (SHAH, TAWAKKUL & KHAN, 2008; MORIN & BRIENS, 2013). A verificação deste parâmetro é, normalmente, realizada antes da etapa de compressão dos comprimidos e antes da etapa de enchimento de cápsulas gelatinosas (SHAH, TAWAKKUL & KHAN, 2008).

O fluxo de um fármaco pode ser avaliado por diferentes testes: teste de densidade aparente e batida, teste de escoamento de pó e teste de ângulo de repouso. Estes testes são úteis para a determinação de impactos nas alterações das propriedades de um pó, uma vez que mudanças no tamanho, distribuição, densidade e forma das partículas do pó promovem alterações na fluidez dele (AULTON, 2005; MORIN & BRIENS, 2013). A morfologia das partículas influencia a interação partícula-partícula, visto que o aumento da área de contato das partículas promove um aumento no atrito entre elas levando a uma diminuição do fluxo do pó. Geralmente, partículas pequenas com densidade baixa e morfologia irregular apresentam fluxo pior quando comparado a partículas maiores, esféricas e com alta densidade (MORIN & BRIENS, 2013).

O teste de densidade aparente e batida avalia a fluidez de um pó pela comparação da densidade aparente com a densidade batida (AULTON, 2005). Através do volume ocupado pelo pó em uma proveta de 100mL é calculada a densidade aparente. As provetas, então, são colocadas no equipamento de densidade batida e submetidas a diferentes números de batidas (500, 750 e 1250). O valor encontrado na diferença entre o volume inicial com o final determina a densidade batida (adaptado de CASTRO *et al.*, 2003; EMERY *et al.*, 2009; adaptado de VILLANOVA, AYRES & ORÉFICE, 2011). Os valores obtidos de densidade

(aparente e batida) servem para o cálculo de Índice de Hausner (IH) e Índice de Carr (IC) importantes para análises de fluxo do material (USP, 2012a). As fórmulas para o cálculo dos dois índices estão mostradas nas Equações 2 e 3.

$$IC = (\rho_c - \rho_a / \rho_c) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

$$IH = \rho_c / \rho_a \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

ρ_c – densidade compactada;

ρ_a – densidade aparente (adaptado de BULHÕES, ANDENA & DIAS, 2011).

O escoamento do pó consiste em fazer uma correlação na quantidade de pó que escoar para a balança presente em um equipamento (Figura 4) com o tempo de abertura para esse escoamento.



Figura 4 – Imagem do equipamento de análise de fluxo (escoamento de pó e ângulo de repouso) (Fonte: <http://www.erweka.com/en/products/gt.html>).

O ângulo de repouso consiste em medir o ângulo formado entre a altura do pó (h) e o raio do cone (r) (ABED *et al.*, 2010, MAXIMILIANO *et al.*, 2010). O cálculo do ângulo de repouso está mostrado na Equação 4.

$$\tan \Phi = h/r$$

Equação 4

Os resultados encontrados de Índice de Carr, Índice de Hausner e de ângulo de repouso são relacionados com os valores e com a classificação do tipo de fluxo do pó, mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Classificação do tipo de fluxo de um pó (adaptado de USP 35, 2012b).

Fluxo	Ângulo de Repouso	Ind. Carr (IC)	Ind. Hausner (IH)
Excelente	25 - 30	<=10	1,00 - 1,11
Bom	31 - 35	11 - 15	1,12 - 1,18
Favorável	36 - 40	16 - 20	1,19 - 1,25
Aceitável	41 - 45	21 - 25	1,26 - 1,34
Pobre	46 - 55	26 - 31	1,35 - 1,45
Muito Pobre	56 - 65	32 - 37	1,46 - 1,59
Péssimo	>66	>38	>1,60

Vianna e colaboradores (2006) avaliaram as propriedades de fluxo da matéria-prima efavirenz para determinação do processo de obtenção dos comprimidos deste fármaco. Neste estudo, foi observada uma baixa densidade e uma dificuldade de escoamento do efavirenz que inviabiliza um processo de compressão direta, favorecendo a escolha do processo de granulação via úmida para a obtenção dos comprimidos desse antirretroviral. Emery e colaboradores (2009) avaliaram a influência da umidade no fluxo de dois excipientes, hidroxipropilmetil celulose (HPMC) e aspartame, e observaram que o aumento da umidade promove uma diminuição não linear do fluxo do HPMC, porém aumenta não linearmente o fluxo do aspartame. Abed e colaboradores (2010) avaliaram as propriedades de fluxo do diazepam no desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis por diferentes métodos obtendo uma fluidez melhor no processo de granulação via úmida do que no processo de compressão direta.

2.2.5. Estabilidade Térmica, Pureza e Composição Química

Para verificar a estabilidade térmica, pureza e composição de um material sólido podem ser utilizadas diversas técnicas, dentre estas: a análise térmica (calorimetria exploratória diferencial – DSC e termogravimetria – TG) e a espectroscopia de infravermelho.

O teste de calorimetria exploratória diferencial (DSC) avalia os fenômenos energéticos, físicos e/ou químicos produzidos pelo aquecimento ou resfriamento de uma amostra. As medidas de DSC permitem calcular o fluxo de calor diferencial entre a amostra e o material de referência. Este teste fornece informações de variações de entalpia, mudança de calor específico e temperaturas dos eventos endotérmicos ou exotérmicos que ocorreram durante a análise da amostra (CLAS, DALTON & HANCOCK, 1999; BRASIL, 2010b). O cálculo da variação de entalpia é realizado através da Equação 5.

$$\frac{dq}{dt} = - \sum_{i=1}^n \Delta H_i \frac{dn_i}{dt} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

dq/dt – sinal de potência obtido (normalmente em μW)

ΔH_i – mudança de entalpia durante o experimento

dni/dt – razão da derivada do número de experimentos e derivada do tempo do experimento (adaptado de SCHMITT *et al.*, 2001).

Já a análise termogravimétrica (TGA) ou termogravimetria (TG) avalia a variação de massa da amostra em função da temperatura ou tempo de aquecimento (ZAYED, FAHMEY & HAWASH, 2005). O equipamento contém uma termobalança composta por um forno elétrico e uma balança de alta precisão. A amostra é inserida em um porta-amostra sob atmosfera controlada. Enquanto a amostra está sendo aquecida, o equipamento mede a massa da substância (BRASIL, 2010b). O resultado pode ser representado pela curva obtida, propriamente dita ou pela derivada desta curva (DTG), através de um programa para facilitar a interpretação e

tornar as mudanças mais evidentes (GIRON, 1986).

A análise térmica é utilizada com várias finalidades na indústria farmacêutica, como na avaliação da estabilidade térmica, estudos de cinética de degradação, estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, determinação do grau de pureza e no controle de qualidade dos insumos farmacêuticos e produtos acabados. Além disso, também pode ser utilizada para identificação de polimorfos de um determinado fármaco, visto que diferentes polimorfos apresentam características térmicas diferentes (por exemplo: ponto de fusão, energia interna e entropia) (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Medeiros e colaboradores (2001) analisaram termicamente (DSC e TG) comprimidos de prednisona de duas formulações diferentes e misturas binárias da prednisona com diferentes excipientes e verificaram que a prednisona começa a decompor em torno de 230°C e seu pico de fusão é em torno de 239°C. Além disso, verificaram que as duas formulações de comprimidos de prednisona não apresentaram diferenças cinéticas, caracterizando formulações estáveis. Bazzo & Silva (2005) realizaram um estudo de análise térmica do captopril e de formulações de comprimidos de diferentes revestimentos contendo o fármaco e observaram que o captopril apresentou uma possível interação com o estearato de magnésio. Zayed, Fahmey & Hawash (2005) avaliaram a perda de massa do diazepam por TG e observaram que a decomposição desse fármaco ocorre na faixa de 204°C à 340°C. Abdelbary & Fahmy (2009) analisaram nanopartículas de diazepam por DSC e observaram que o ponto de fusão do diazepam puro é em torno de 130°C e que a fusão desse fármaco presente nas nanopartículas continuou em torno de 130°C.

A espectroscopia de infravermelho utiliza a faixa de infravermelho do espectro magnético para promover a identificação de moléculas por grupamentos funcionais verificando a pureza e a composição química do sólido analisado (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005; STORPIRTIS *et al.*, 2011). Estes grupamentos apresentam energias de vibração que absorvidas geram uma banda no espectro permitindo suas identificações. As energias de vibrações podem ser deformações axiais ou deformações angulares (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005). O infravermelho pode ser utilizado como técnica complementar no estudo de compatibilidade fármaco-excipiente e na avaliação de formas polimórficas.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier fornece um espectro mais rápido, pois o feixe de radiação contém todos os comprimentos de onda divididos em dois feixes. Isto proporciona um resultado com a variação completa dos comprimentos de onda (combinações construtivas e/ou destrutivas) e uma conversão do domínio do tempo e um domínio de frequência (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005).

Souza & Ferrão (2006) utilizaram a espectroscopia de infravermelho no controle de qualidade de formulações contendo o diclofenaco de potássio associada a uma análise de regressão multivariada e verificaram que essa associação de técnicas pode ser utilizada para quantificar um fármaco no controle de qualidade de uma indústria farmacêutica de forma mais rápida e simples. Singh & Nath (2011) realizaram um estudo de compatibilidade fármaco-excipiente com a lamivudina e observaram que a técnica de infravermelho indicou uma possível interação física da lamivudina com o estearato de magnésio que não foi confirmada por DSC. Gunasekaran, Kumar & Ponnusamy (2006) analisaram o espectro vibracional do diazepam por espectroscopia de infravermelho, observando diversas bandas referentes às ligações presentes na molécula do diazepam, com destaque para a banda da ligação C=O que apareceu em torno de 1682 cm⁻¹.

2.2.6. Cristalinidade

A cristalinidade de um sólido pode ser verificada pela técnica de difração de raio-X que consiste na detecção das difrações de um feixe de fótons incidido sobre uma amostra. O raio-X ao ser incidido na amostra é difratado e este fenômeno é captado pelo equipamento que gera o padrão de difração da amostra analisada. Como a difração só ocorre em amostras cristalinas (amostras amorfas não promovem difração), este teste permite a análise da cristalinidade do material (ALBERS *et al.*, 2002). A difração é baseada na lei de Bragg que está apresentada na Equação 6.

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

Equação 6

Onde:

n = ordem de difração

d = distância entre os planos dos átomos

θ = ângulo medido entre o feixe incidente e determinados planos do cristal

λ = comprimento de onda (adaptado de ALBERS *et al.*, 2002)

O equipamento conhecido como difratômetro pode ser de dois tipos: o difratômetro de monocristal e o difratômetro de pó ou difratômetro tradicional (DRXP) que é o mais utilizado. O DRXP segue um arranjo geométrico chamado de geometria Bragg-Brentano que permite a obtenção do ângulo 2θ (GOBBO, 2003) (Figura 5).

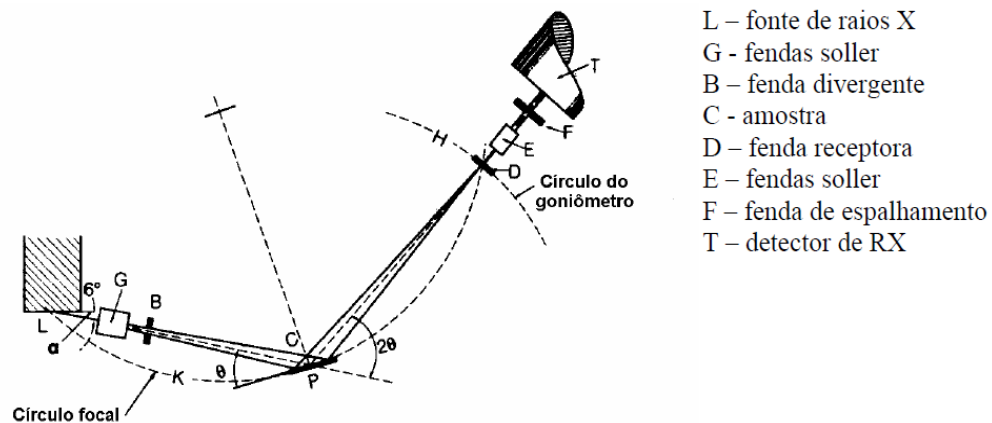


Figura 5 – Esquema de um difratômetro tradicional ou DRXP (adaptado de GOBBO, 2003).

A difração de raio-X de pó permite identificar possíveis mudanças na estrutura dos cristais do fármaco e estas mudanças podem promover alterações na biodisponibilidade, estabilidade química e física (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2007). Uma propriedade que promove alteração na estrutura dos cristais de um fármaco é o polimorfismo, o qual promove que o mesmo fármaco apresente diferentes formas cristalinas. As formas polimórficas podem apresentar diferentes características físico-químicas, afetando desde a síntese do fármaco até o processo de fabricação de um medicamento, sua qualidade e biodisponibilidade do produto (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Agrawal e colaboradores (2004) realizaram um estudo das propriedades do estado sólido da rifampicina para analisar qual forma polimórfica (Forma I, Forma II e forma amorfa) do fármaco estava presente em amostras comerciais. Nesse estudo,

foi verificado que as amostras comerciais apresentaram uma mistura das formas polimórficas I, II e amorfa. Giri & Sa (2010) analisaram a cristalinidade do diazepam e do complexo diazepam- β ciclodextrina e observaram que o diazepam apresentou uma estrutura cristalina, a β ciclodextrina uma estrutura amorfa e a mistura física dos dois apresentou uma amorfização do fármaco.

2.2.7. Molhabilidade

A molhabilidade consiste num fenômeno que analisa a superfície do sólido em contato com um líquido. Ela pode ser analisada por ângulo de contato e pela energia de superfície existente entre dois meios sólido-líquido, sólido-gás e líquido-gás. Além disso, ela pode ser estimada considerando que, se o pó for molhável em um líquido, ele será disperso no líquido ou absorverá o líquido (DIAS, 2009).

O método de Stevens avalia a dispersão de um pó na superfície de uma mistura água-isopropanol de tensão superficial compreendida entre 22,53 dynes/cm (isopropanol) e 71,33 dynes/cm (STEVENS & GYPEN, 1974). Este método consiste em verificar a “fronteira” entre o pó “molhado” e o pó “não molhado” e, com isso, determinar um número de molhagem. A Figura 6 mostra um exemplo da “fronteira” do molhado para o não molhado.

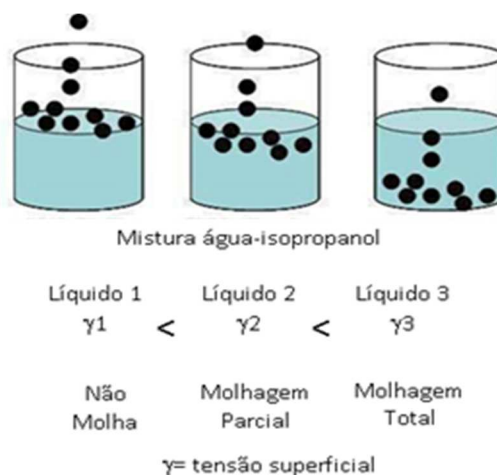


Figura 6 - Representação do método de Stevens (adaptado de DIAS, 2009).

Para facilitar as análises dos resultados desse método, utiliza-se uma nomenclatura de caracterização da “molhagem” do pó analisado. A Tabela 6 apresenta essa nomenclatura para caracterizar a molhabilidade do pó.

Tabela 6 - Nomenclatura de caracterização da molhabilidade de um pó (adaptado de STEVENS & GYPEN, 1974).

Nomenclatura	Molhabilidade do pó
-	O líquido não molha o sólido
+/-	Uma parte do sólido molha ou uma parte do sólido não molha
+	O líquido molha perfeitamente o sólido

2.2.8. Compressibilidade

A grande maioria dos fármacos apresenta propriedades compressão muito fracas, sendo necessário o uso de adjuvantes técnicos para favorecer o processo de compressão. Estas propriedades (elasticidade, plasticidade, fragmentação e propensão de adesão do material aos punções) de um determinado fármaco puro são importantes para o desenvolvimento de uma formulação (AULTON, 2005).

A aplicação de uma força externa sobre um fármaco puro resulta na transferência de força pelos pontos de contato causando uma deformação do pó. Esta deformação pode ser plástica, elástica ou destrutiva, dependendo da intensidade e duração da força aplicada. Além disso, depende das propriedades físicas do pó (material cristalino apresenta tendência de deformação elástica e material amorfo tende a uma deformação plástica) (SOARES & PETROVICK, 1999).

O comportamento elástico acontece quando o material sofre recuperação do volume inicial após a retirada da força empregada. Este tipo de deformação pode promover alguns problemas de compressão, como o descabeçamento e/ou laminação. Já o comportamento plástico acontece quando o material é dúctil, ou seja, ele sofre uma deformação e se mantém deformado ou compactado após a retirada da força empregada. O comportamento destrutivo ocorre quando a força aplicada no material excede a capacidade de deformação (plástica ou elástica) promovendo a ruptura estrutural do material (SOARES & PETROVICK, 1999;

LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001; AULTON, 2005). A Figura 7 apresenta um diagrama de efeito da força de compressão.

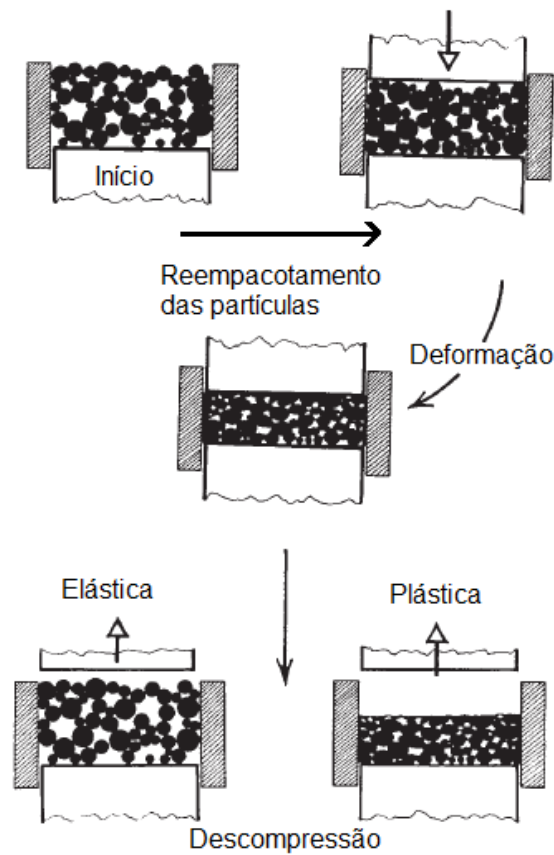


Figura 7 – Efeito da força de compressão em um material sólido (adaptado de LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001).

Para a realização de um bom processo de compressão, os materiais devem apresentar uma deformação plástica (deformação permanente), porém conter um retorno elástico que promova a fragmentação do comprimido. Materiais que apresentam somente deformação plástica irão sofrer a compactação e não haverá fragmentação do comprimido formado, entretanto, materiais que apresentam somente deformação elástica irão fornecer comprimidos muito quebradiços. Portanto, o estudo do tipo de deformação do fármaco e dos excipientes de uma formulação é importante para o ajuste da formação de comprimidos (adaptado de LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001).

2.2.9. Solubilidade

A solubilidade é uma propriedade termodinâmica representada pela concentração máxima de um soluto dissolvido, em equilíbrio, com uma solução a uma determinada temperatura (DIAS, 2009; PETEREIT & SAAL, 2011; STORPIRTIS *et al.*, 2011). Esta propriedade pode ser influenciada pela natureza do solvente, natureza do soluto e temperatura do meio (DIAS, 2009).

A solubilidade é um parâmetro determinante na liberação do fármaco no organismo, sendo importantíssimo para a biodisponibilidade (PANCHAGNULA & THOMAS, 2000) e para a velocidade de dissolução (BONAMICI, 2009). O conhecimento desse parâmetro auxilia na escolha do melhor solvente para promover a dissolução do fármaco e na solução de problemas da formulação (SOLTANPOUR & JOUYBAN, 2010).

Segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, a solubilidade química de uma substância é determinada à temperatura de 25°C em meio aquoso e segue a classificação apresentada na Tabela 7 (BRASIL, 2010c).

Tabela 7 - Classificação da solubilidade de uma substância (adaptado de AULTON, 2005; adaptado de BRASIL, 2010c; adaptado de STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Descrição	Quantidade aproximada de solvente para dissolver uma parte do soluto
Muito solúvel	menos de 1 parte
Facilmente solúvel	de 1 a 10 partes
Solúvel	de 10 a 30 partes
Ligeiramente ou levemente solúvel	de 30 a 100 partes
Pouco solúvel	de 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	de 1000 a 10 000 partes
Praticamente insolúvel	mais de 10 000 partes

Como quase 95% dos fármacos são moléculas ácidas fracas ou bases fracas, é necessário o conhecimento do pH e do pKa (constante de dissociação ácida) dessas substâncias para o desenvolvimento de um produto, uma vez que mudanças no pH do fármaco ou alterações deste, durante a dissolução, podem alterar significativamente a biodisponibilidade (BONAMICI, 2009).

Para promover um entendimento maior da solubilidade de um fármaco no trato gastrointestinal, a agência Food and Drug Administration (FDA, 2000) publicou um guia de bioisenção de estudos de bioequivalência de um fármaco, em que descreve um ensaio de solubilidade para correlacionar o valor encontrado com a biodisponibilidade do fármaco e com o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) segundo Amidon (1995). Este guia determina que fármacos que apresentam alta solubilidade e alta permeabilidade (classificados como classe I do SCB segundo Amidon) e que sejam utilizados em formulações orais de liberação imediata possam ser considerados bioisentos do estudo de bioequivalência farmacêutica. Este ensaio foi adotado em 2011 pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para a realização de ensaios de solubilidade em fármacos considerados bioisentos (RE 37/2011).

O ensaio de solubilidade relacionado à biodisponibilidade do fármaco é baseado na dissolução da dose mais alta do IFA em formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata em 250mL ou menos de soluções tampões preparadas com diferentes pH (variando de 1,0 a 7,5). Esta faixa de pH está relacionada a faixa presente no trato gastrointestinal e o volume de 250mL, com o volume de água, normalmente, administrado juntamente ao medicamento. A preparação de diferentes soluções tampões, em diferentes pH, segue as características de ionização e do pka do fármaco analisado. Além disso, o ensaio deve ser realizado a temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e realizado pelo método *shake-flask*, que consiste em manter as soluções saturadas com o fármaco sob temperatura e agitação controladas até a obtenção do estado de equilíbrio de solubilidade. Os resultados são obtidos em triplicata através de leituras em espectroscopia de ultravioleta ou em cromatografia líquida de alta eficiência (FDA, 2000; YU *et al.*, 2002; BRASIL, 2011; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.2.10. Compatibilidade

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente permite verificar possíveis interações e/ou incompatibilidades entre o fármaco e os excipientes. Por isso, promove a escolha ideal dos componentes e quantidades de uma formulação, identifica os produtos de degradação e, melhora o entendimento das reações (MATOS, 2012). Os fatores que afetam a compatibilidade entre o fármaco e os excipientes estão mostrados na Figura 8.

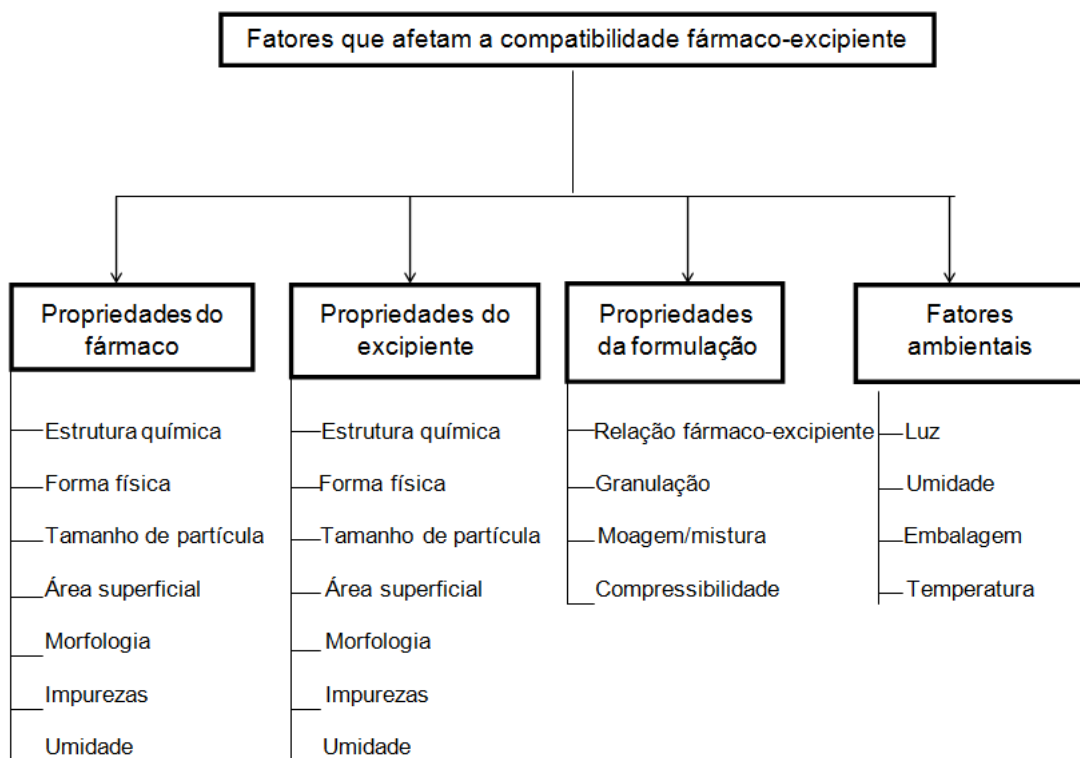


Figura 8 – Fatores que comprometem a compatibilidade entre o insumo farmacêutico ativo (IFA) e excipientes de uma formulação (MATOS, 2012).

As análises de compatibilidade são realizadas, normalmente, através de misturas físicas binárias entre o fármaco e um excipiente e estas misturas são expostas a condições de estresse de temperatura e umidade por um determinado período de tempo. Os controles do estudo são amostras puras do fármaco e excipientes expostos às mesmas condições das misturas (NARANG, RAO & RAGHAVAN, 2009).

As misturas físicas são preparadas em proporção 1:1 (p/p) no intuito de intensificar a probabilidade de ocorrer possíveis interações entre o fármaco e o excipiente analisado, sendo esta proporção a mais utilizada nesses estudos de compatibilidade (MURA *et al.*, 1998). Porém, misturas físicas com proporção baseada na relação de uma formulação são utilizadas para verificar as interações que ocorrem mais próximas da realidade (LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001).

A técnica mais utilizada para verificar as incompatibilidades existentes entre fármaco e excipientes é a análise térmica (THOMAS & NAATH, 2008; OLIVEIRA, YOSHIDA & GOMES, 2011). As alterações de faixa de fusão do fármaco, forma e área dos picos encontrados no DSC ou mudanças no termograma de perda de massa podem indicar possíveis interações e incompatibilidades entre o fármaco e o excipiente analisado (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Porém, a interpretação dos resultados da análise térmica é complicada (SCHIMMITT *et al.*, 2001), visto que nem sempre as alterações encontradas na análise térmica indicam incompatibilidades, sendo necessário o uso de técnicas complementares como, difração de raio-X de pó, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho (TITA *et al.*, 2011) e cromatografia líquida de alta eficiência (DOUSA *et al.*, 2011) para promover o entendimento completo do estudo e confirmar as possíveis interações encontradas na análise térmica.

2.3. Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência

Com a criação e aprovação da Lei dos Genéricos (BRASIL, 1999) surgiram novos conceitos na área de medicamentos no Brasil, como os termos de medicamentos genéricos, medicamentos similares, medicamentos inovadores ou referências, equivalência farmacêutica e bioequivalência (ARAÚJO *et al.*, 2010).

O genérico é um medicamento similar e intercambiável com um medicamento inovador com comprovação da sua eficácia, segurança e qualidade, designado pela Denominação Comum Brasileira (DCB) ou Denominação Comum Internacional (DCI). Já o medicamento inovador ou referência é o primeiro registrado em órgão federal, detentor de patente e cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas antes da comercialização (STORPIRTIS *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2010; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Os medicamentos genéricos precisam conter o mesmo fármaco, mesma dosagem e mesma forma farmacêutica do medicamento referência podendo diferenciar quanto à formulação, o processo produtivo, embalagem e prazo de validade. Por esse motivo, os medicamentos genéricos, principalmente os sólidos orais, podem apresentar problemas relacionados à biodisponibilidade, sendo necessários os estudos de equivalência farmacêutica para comprovar a intercambialidade (STORPIRTIS *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2010; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

A equivalência farmacêutica é determinada por ensaios físicos e físico-químicos comparativos entre o medicamento teste e o produto referência seguindo metodologias descritas em compêndios oficiais. Segundo a RE 31 (BRASIL, 2010d) que trata de ensaios de equivalência farmacêutica, os testes para identificação, caracterização da forma farmacêutica e teste de teor do fármaco devem ser realizados em produtos teste e referência com até seis meses de fabricação. Além disso, determina que a equivalência farmacêutica precisa ser realizada, também, quando os medicamentos são isentos do estudo de bioequivalência.

Um dos testes mais importantes do estudo de equivalência farmacêutica é o perfil de dissolução comparativo entre os produtos teste e referência. A comparação das curvas obtidas é feita por análise estatística de modelo independente através da determinação de dois fatores: o fator de diferença (f_1), que calcula a porcentagem de diferença entre os dois perfis e o fator de semelhança (f_2), que mede a semelhança entre as porcentagens dissolvidas ponto a ponto dos perfis obtidos, sendo este, f_2 , o fator mais utilizado e mais importante nesse estudo. Os valores de f_1 que asseguram a equivalência correspondem à faixa de 0 a 15%; quanto mais próximo de zero for o valor de f_1 , mais equivalente são os medicamentos (STORPIRTIS *et al.*, 2011). Entretanto, os valores de f_2 precisam estar na faixa de 50 a 100 para resultar em perfis equivalentes (BRASIL, 2010d). As fórmulas dos fatores f_1 e f_2 estão mostradas a seguir nas Equações 7 e 8.

$$f_1 = \left\{ \sum_{t=1}^n |Rt - Tt| / \sum_{t=1}^n Rt \right\} \times 100$$

Equação 7

$$f2 = 50 \log \left\{ \left[1 + 1/n \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\} \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

n = número de tempos de coleta considerados para o cálculo;

Rt = quantidade dissolvida do medicamento referência no tempo t;

Tt = quantidade dissolvida do medicamento teste no tempo t (adaptado de MAHLE *et al.*, 2007).

O ensaio de bioequivalência consiste em avaliar a velocidade e extensão de absorção de um fármaco em uma determinada forma farmacêutica a partir de parâmetros farmacocinéticos ($C_{máx}$, ASC) e comparar os resultados obtidos de um medicamento teste com os resultados de um medicamento referência. Este estudo possui três etapas: clínica (seleção dos voluntários, administração dos medicamentos e coleta das amostras sanguíneas); analítica (análise da quantidade de fármacos nas amostras) e estatística (escolha do tamanho da amostra, número de voluntários e tratamento de dados) (STORPIRTIS *et al.*, 2004; BRASIL, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2010).

Este estudo deve seguir o planejamento e apresentação descritos na legislação vigente com administração dos medicamentos teste e referência aos voluntários sob as mesmas condições experimentais e com coleta das amostras biológicas nos mesmos tempos. Os produtos serão considerados bioequivalentes quando a média geométrica das razões dos parâmetros farmacocinéticos área sob a curva ($ASC_{0-t} \text{ teste} / ASC_{0-t} \text{ referência}$) e concentração máxima ($C_{máx \text{ teste}} / C_{máx \text{ referência}}$) estiverem no intervalo de confiança compreendido entre 80% e 125% (BRASIL, 2006).

2.4. Correlação *In Vitro-In Vivo* (CIVIV)

A correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV) é um estudo que estabelece uma relação entre as propriedades biológicas de um medicamento com as suas características

físico-químicas (BRASIL, 2002). É um modelo matemático preditivo que relaciona uma propriedade *in vitro* (normalmente, perfil de dissolução) com parâmetros farmacocinéticos (área sob a curva das concentrações plasmáticas de um fármaco *versus* tempo – ASC ou concentração plasmática máxima – $C_{máx}$) (BRASIL, 2002; DEMİRTÜRK & ÖNER, 2003; CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007).

Existem três níveis de correlação *in vitro-in vivo*:

- Nível A – nível mais alto de correlação. É uma relação ponto a ponto entre os dados de dissolução *in vitro* e a velocidade de absorção do fármaco *in vivo* (BALAN *et al.*, 2001; BRASIL, 2002; CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007). Este nível é o mais recomendável, quando possível, por fornecer informações de correlação mais confiáveis e o perfil de dissolução *in vitro* poder substituir os resultados do fármaco *in vivo* (BRASIL, 2002).
- Nível B – relação baseada em princípios de análise de momento estatístico. Este nível correlaciona a média do tempo de dissolução *in vitro* com o tempo de residência média (TRM) ou tempo de dissolução médio (TDM) *in vivo* (BRASIL, 2002; CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007). A correlação nível B não pode ser considerada representativa para fins de registro de medicamentos (BRASIL, 2002).
- Nível C – correlação pontual de um parâmetro farmacocinético (normalmente ASC ou $C_{máx}$) com um ponto do perfil de dissolução ($t_{50\%}$ ou $t_{90\%}$, por exemplo). É uma relação que não corresponde ao formato completo da curva plasmática de um fármaco (BRASIL, 2002; CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007).

Além desses três níveis ainda existe o nível C múltiplo que promove uma correlação de um parâmetro farmacocinético com a porcentagem de fármaco dissolvido em diferentes tempos do perfil de dissolução. A correlação *in vitro-in vivo* nível C múltiplo é uma ferramenta utilizada nos estudos de desenvolvimento de formulações para verificar possíveis formulações bioequivalentes (CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007). A Tabela 8 relaciona os parâmetros para uma CIVIV para cada nível.

Tabela 8 – Parâmetros utilizados para cada nível de correlação *in vitro-in vivo* (adaptado de CARDOT, BEYSSAC & ALRIC, 2007).

Nível	In vitro	In vivo
A	Curva de dissolução	Curva de absorção plasmática
B	Momento estatístico (TDM)	Momento estatístico (TRM)
C	Tempo de dissolução (t _{10%} , t _{50%} , t _{90%})	Parâmetros farmacocinéticos (C _{máx} , T _{máx} , ASC (total ou parcial))
C múltiplo	Vários tempos de dissolução	Parâmetros farmacocinéticos

Uma boa CIVIV é esperada com fármacos que apresentam alta permeabilidade no organismo ou que apresentam a dissolução como fator limitante no desenvolvimento farmacotécnico de um produto. Por isso, a CIVIV é baseada no sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (DEMİRTÜRK & ÖNER, 2003; LI *et al.*, 2011).

O sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) classifica os fármacos em quatro classes levando em consideração que o controle da extensão e a velocidade de absorção de fármacos por via oral obedecem duas características: a solubilidade do próprio fármaco e a permeabilidade deste pelas membranas biológicas (AMIDON *et al.*, 1995). Além disso, propõe uma expectativa de CIVIV e o fator limitante de absorção para cada classe de fármacos. A Tabela 9 apresenta a classificação biofarmacêutica dos fármacos.

Tabela 9 – Classificação biofarmacêutica de fármacos (adaptado de AMIDON *et al.*, 1995).

Classe	Solubilidade	Permeabilidade
I	Alta	Alta
II	Baixa	Alta
III	Alta	Baixa
IV	Baixa	Baixa

Os fármacos da classe I são fármacos com alta solubilidade e alta permeabilidade, sendo o fármaco bem absorvido com fator limitante para a absorção

o esvaziamento gástrico caso a dissolução do fármaco seja muito rápida (AMIDON *et al.*, 1995).

Os fármacos da classe II são aqueles fármacos que apresentam baixa solubilidade e alta permeabilidade, sendo a dissolução *in vivo* o fator limitante para a absorção de fármacos dessa classe (AMIDON *et al.*, 1995). A grande maioria dos fármacos encontra-se nessa classe.

Os fármacos da classe III apresentam alta solubilidade e baixa permeabilidade, sendo a permeabilidade o fator limitante para a absorção. Com relação aos fármacos da classe IV, estes apresentam baixa solubilidade e baixa permeabilidade, sendo fármacos que apresentam grandes problemas para o desenvolvimento de formulações para administração oral. Por esse motivo, não é esperado a realização de uma CIVIV desses fármacos (AMIDON *et al.*, 1995).

2.5. Diazepam

2.5.1. Propriedades Físico-químicas

O diazepam (Figura 9) é um pó cristalino branco a amarelado (ABED *et al.*, 2010) que apresenta fórmula molecular $C_{16}H_{13}ClN_2O$ (7-chloro-1-methyl-5-phenyl-3H-1,4-benzodiazepin-2 [1H]-one) e peso molecular de 284,73g. O ponto de fusão da molécula é de 132 °C, seu pKa é de 3,4 e seu log P (octanol/água) é 2,82 (CLARYSSE *et al.*, 2009; CHEMIDPLUS, 2011). O diazepam é classificado como base fraca (KATZUNG, 2005) e apresenta baixa solubilidade em água, em torno de 50mg/l à 25°C (CHEMIDPLUS, 2011, SILA-ON *et al.*, 2008), sendo solúvel em etanol, clorofórmio e éter (GENNARO, 2004).

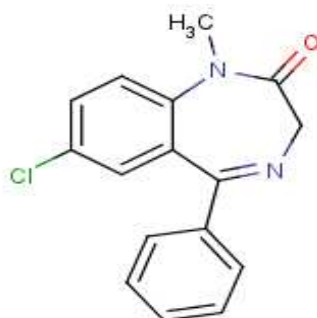


Figura 9 – Fórmula estrutural do diazepam (CHEMIDPLUS, 2011).

O diazepam, assim como a maioria dos benzodiazepínicos, é fotossensível apresentando dois produtos de degradação: uma benzofenona (resultado da clivagem do anel heterocíclico com absorvância em 320nm) e uma dihidroquinazolina (com absorvância em 254nm) (ALBINI & FASANI, 1998). Essas substâncias são formadas com as reações de hidrólise que o diazepam sofre em meio ácido ou básico (CONNORS, AMIDON & STELLA, 1986; CABRERA, WAISBAUM & NUDELMAN, 2005; WEST & ROWLAND, 2012).

2.5.2. Propriedades Farmacodinâmicas e Mecanismo de Ação

O diazepam pertence à classe dos derivados de 1,4 benzodiazepínicos e é utilizado no tratamento de doenças severas de ansiedade, como hipnótico no tratamento da insônia, como sedativo, como anticonvulsivante e na síndrome de abstinência do álcool (LIAWRUANGRATH, MAKCHIT & LIAWRUANGRATH, 2006; CHEMIDPLUS, 2011; MIELCAREK *et al.*, 2011). Além disso, é utilizado no pré-operatório para diminuir a ansiedade e provocar uma sedação e anestesia leve com amnésia anterógrada (GENNARO, 2004). Estas ações são mediadas através da ativação do neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, o ácido gama aminobutírico (GABA) (KATZUNG, 2006; adaptado de ŠTRAC *et al.*, 2008). O fármaco se liga alostericamente a uma região específica do receptor GABA_A atuando como agonista alostérico desse receptor (GENNARO, 2004; ABBARA *et al.*, 2009).

2.5.3. Propriedades Farmacocinéticas

2.5.3.1. Absorção e Distribuição

O diazepam por ser lipofílico apresenta uma boa absorção por via oral e é amplamente distribuído pelos tecidos. O volume de depuração plasmática ou clearance do diazepam é de, aproximadamente, 45 mL/min. Esse fármaco apresenta uma taxa de ligação às proteínas plasmáticas de, aproximadamente, 98% (EATMAN *et al.*, 1977).

2.5.3.2. Metabolismo e Eliminação

O diazepam sofre biotransformação hepática através das enzimas do citocromo P450 (CYP2C e CYP3A) (FREIRE *et al.*, 2005) e apresenta metabólitos ativos, como o desmetildiazepam e o oxazepam (KLOTZ, ANTONIN & BIECK, 1976; EATMAN *et al.*, 1977). O desmetildiazepam, nordiazepam ou nordazepam é o metabólito mais encontrado na corrente sanguínea, apresentando meia vida de 40 horas (KLOTZ, ANTONIN & BIECK, 1976; EATMAN *et al.*, 1977; KATZUNG, 2006). Este metabólito é resultado de uma reação de desmetilação do diazepam e sofre nova biotransformação por uma reação de hidroxilação formando o oxazepam. O oxazepam, por sua vez, é conjugado com o ácido glucurônico e excretado na urina. O diazepam também é convertido, em menor proporção, a outro metabólito ativo, o temazepam, que é subsequentemente metabolizado, em parte a oxazepam (KLOTZ, ANTONIN & BIECK, 1976; FREIRE *et al.*, 2005; KATZUNG, 2006; adaptado de ROUINI *et al.*, 2008; adaptado de MIELCAREK *et al.*, 2011). A Figura 10 apresenta as reações de biotransformação do diazepam.

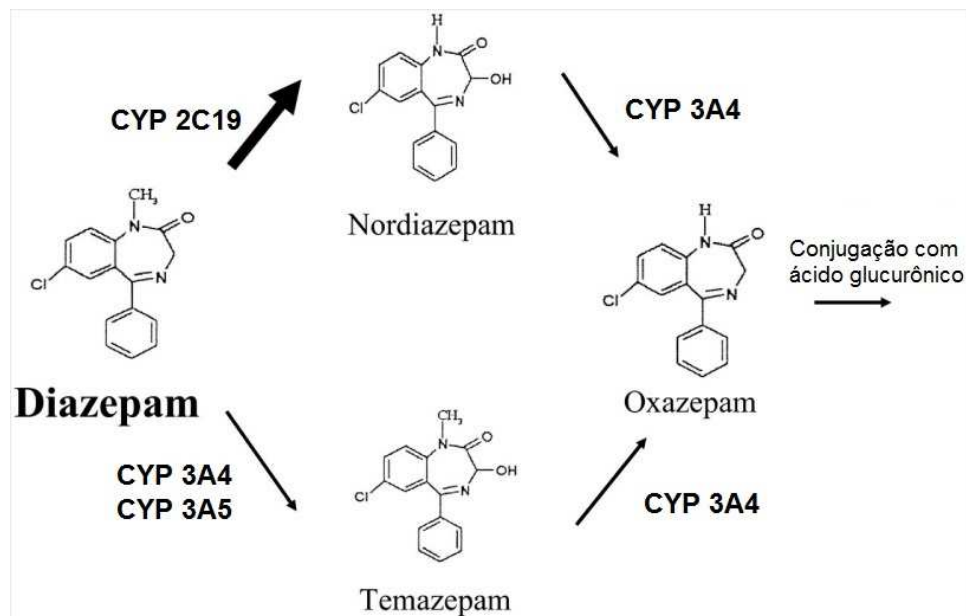


Figura 10 – Biotransformação do diazepam (adaptado de INOMATA *et al.*, 2005), sendo CYP – abreviação de citocromo P (conjunto de enzimas) e os números 2C19, 3A4 e 3A5 – as enzimas envolvidas na biotransformação do diazepam.

Por apresentar metabólitos ativos, sua eliminação é lenta com uma meia-vida de 20 a 80 horas, com pico de concentração máxima plasmática em 1 a 2 horas (KATZUNG, 2006).

2.5.3.3. Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)

O diazepam é um fármaco pouco solúvel em água e apresenta classificação biofarmacêutica discutível. Alguns autores afirmam que este fármaco pertence à classe II por apresentar baixa solubilidade e alta permeabilidade (WILSON, PENG & AUGSBURGER, 2005; CLARYSSE *et al.*, 2009; MANOGAR, HARI & DEVI, 2011; HADŽIABDIĆ *et al.*, 2013). Já outros autores afirmam que o diazepam pertence à classe I com alta solubilidade e alta permeabilidade (LINDENBERG, KOPP & DRESSMAN, 2004; KLEIN & SHAH, 2008; ZAKI, ARTURSSON & BERGSTRÖM, 2010).

Uma das formas de se avaliar a classificação biofarmacêutica do diazepam é através de um estudo de solubilidade do fármaco em diferentes meios em um ensaio sob condições de temperatura e agitação constante para a obtenção do estado de equilíbrio (FDA, 2000; BRASIL, 2010d) que foi realizado neste trabalho para verificar experimentalmente a qual classe do SCB o diazepam pertence.

2.5.3.4. Formas Farmacêuticas

A primeira formulação farmacêutica contendo diazepam foi desenvolvida pelo Laboratório Roche em 1963, sendo este laboratório responsável pela produção do medicamento referência, denominado comercialmente no Brasil como Valium (ANVISA, 2012). Este produto vem sendo utilizado nas formas de comprimidos (nas dosagens de 5 e 10mg), solução injetável (5mg/mL), solução retal (nas dosagens de 2,5mg, 5mg e 10mg) e solução oral (2mg/5mL) (WHO, 2011), tanto como medicamento similar quanto genérico. Além disso, está sob patente o desenvolvimento do produto diazepam na forma de microemulsões, por via transnasal, com vencimento em 2015 (SK HOLDING CO LTD, 2004).

3. OBJETIVOS:

3.1. Objetivo Geral:

Desenvolvimento de estudos de pré-formulação e formulação de comprimidos de liberação imediata contendo diazepam.

3.2. Objetivos Específicos:

- Realizar o estudo de pré-formulação do fármaco diazepam;
- Realizar um estudo de compatibilidade fármaco-excipientes com o lote escolhido do fármaco modelo;
- Verificar a solubilidade do diazepam em três diferentes meios (meio HCl 0,1M, solução tampão pH 4,5, solução tampão pH 6,8) propostos para o desenvolvimento da metodologia de dissolução do produto;
- Realizar o desenvolvimento farmacotécnico de formulações contendo diazepam;
- Avaliar as características físico-mecânicas e físico-químicas das formulações obtidas;
- Realizar o estudo de estabilidade da formulação eleita;
- Desenvolver um estudo de correlação *in vivo-in vitro* com os resultados obtidos do ensaio de dissolução da formulação eleita com os resultados da bioequivalência.

4. MATERIAL E MÉTODOS:

A Figura 11 apresenta um fluxograma contendo a sistemática deste trabalho, dividindo-o em três partes.

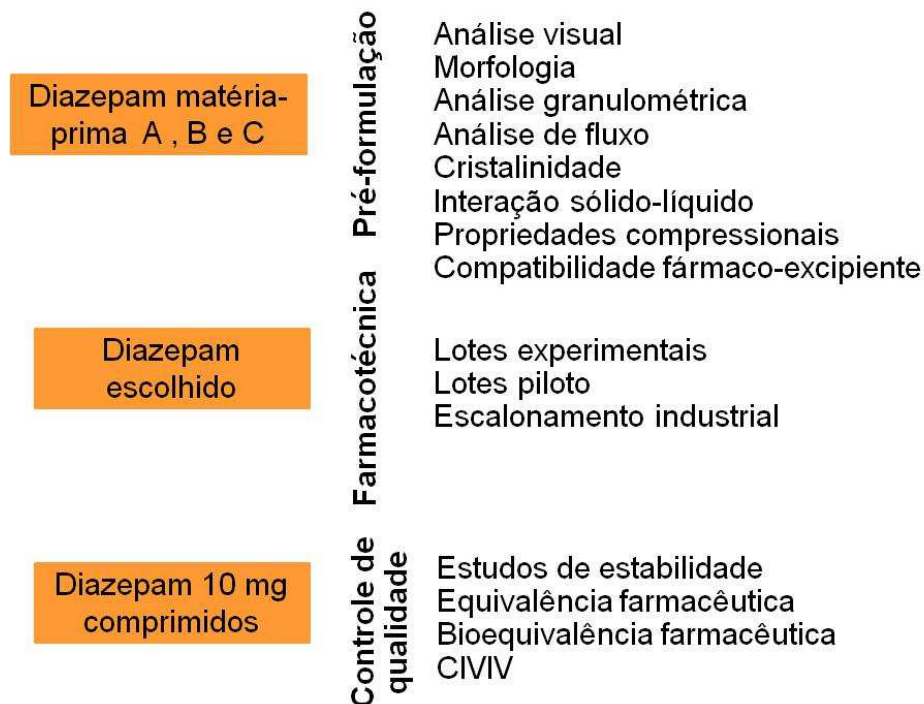


Figura 11 – Fluxograma da sistemática do trabalho

4.1. Estudo de Pré-formulação:

A matéria-prima diazepam foi adquirida de laboratórios farmoquímicos nacionais e foram obtidos três lotes para a realização desse estudo denominados DZA, DZB e DZC. As amostras DZA e DZC foram lotes distintos obtidos de um mesmo fabricante e a amostra DZB obtida de um segundo fabricante. Para a caracterização da matéria-prima foi realizado o estudo de pré-formulação e as seguintes metodologias foram empregadas:

4.1.1. Análise visual

Os três lotes da matéria-prima diazepam foram avaliados visualmente (cor e aspecto macroscópico) como uma primeira análise do material a ser estudado.

4.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A avaliação microscópica foi realizada em microscópio eletrônico marca Jeol, modelo JSM6390LV pertencente à plataforma de microscopia eletrônica Rudolf Barth do Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz. As amostras dos três lotes da matéria-prima foram adicionadas, com auxílio de uma espátula, para cobrir a fita adesiva dupla-face colocada nos porta-amostras de metal ("STUB"). Em seguida, as amostras foram metalizadas em equipamento de metalização Denton Vacuum Desk IV LCC, com aplicação prévia de vácuo até a obtenção da pressão de, aproximadamente, 20mTORR (equivalente a 2,66644 Pa). A metalização ocorreu por 8 minutos, a 10 mA, sob atmosfera de gás Argônio, para a liberação da liga ouro-paládio (Au-Pd) que recobriu as amostras (adaptado de ELSHAER, HANSON & MOHAMMED, 2013).

4.1.3. Análise de Distribuição Granulométrica

A análise de distribuição granulométrica dos três lotes de diazepam foi realizada por dois métodos diferentes que estão descritos abaixo.

4.1.3.1. Tamisação

As amostras foram submetidas a ensaio granulométrico através do equipamento Granulator Test com tamises de 8, 14, 35, 60, 80 e 100 Mesh de valor nominal em μm de 2360, 1180, 425, 250, 180 e 150, respectivamente. Os tamises foram pesados primeiramente sem a adição da matéria-prima e foram organizados de modo que o tamis de menor Mesh ficasse em cima e o de maior Mesh, abaixo, seguido do prato. Após a montagem da sequência dos tamises, foram pesados cerca de 25,0g de matéria-prima e adicionados sobre o primeiro tamis. Em seguida, o equipamento foi ligado na amplitude 8,0 por cerca de 60 minutos e a amostra ficou sob agitação vibratória. Após este período de tempo, cada tamis foi pesado e os valores de % retido foram calculados em planilha específica. Os passos citados foram repetidos até que o valor obtido de variação de peso % em cada tamis cumprisse os seguintes critérios: para tamises em que o % retido após o tempo

avaliado fosse $\leq 5\%$, o ponto final do ensaio era alcançado com variações de peso $\leq 20\%$ e nos casos em que o % retido era $\geq 5\%$, o ponto final do ensaio foi alcançado com variações de peso $\leq 5\%$. O cálculo foi realizado segundo fórmula descrita na Farmacopeia Brasileira (2010a) apresentada a seguir.

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = \frac{P_1}{P_2} \cdot 100 \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

P_1 – peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P_2 – soma dos pesos da amostra retida em cada tamis e no prato (em gramas);

100 – fator de porcentagem.

4.1.3.2. Espalhamento de Luz Laser

Foi utilizado o equipamento Mastersizer 2000 da marca Malvern com módulo Hydro S para avaliação da distribuição granulométrica. Foram realizadas cinco amostragens de $100\text{mg} \pm 1,0\text{mg}$ de cada lote da matéria-prima e para cada amostragem foram realizadas 3 corridas, sendo gerada uma média. O resultado final foi oriundo de uma média das 5 amostragens realizadas. A dispersão prévia das amostras foi realizada em solução de polissorbato 80 a $0,02\%$ (m/v). Posteriormente, a análise desta suspensão foi realizada em água e o modelo óptico utilizado foi Fraunhofer. As curvas de distribuição granulométrica incremental, os dados estatísticos com base volumétrica e a tabela de resultados foram apresentados com valores de d_{10} , d_{50} e d_{90} , os quais representam os diâmetros acumulados de 10, 50 e 90% das partículas, respectivamente (BONIATTI, PITALUGA & SEICEIRA, 2011). Além disso, foi calculada a dispersão do tamanho de partícula (Span) dos três lotes. O cálculo do Span foi realizado segundo equação abaixo (Equação 10):

$$\text{Span} = d_{[v,0,9]} - d_{[v,0,1]} / d_{[v,0,5]} \quad \text{Equação 10}$$

Onde:

$d(v, 0,1)$ – diâmetro acumulado de 10% das partículas;

$d(v, 0,5)$ – diâmetro acumulado de 50% das partículas;

$d(v, 0,9)$ – diâmetro acumulado de 90% das partículas (adaptado de DIAS, 2009).

4.1.4. Perfil de Dissolução

Foi realizado um estudo de diferentes meios de dissolução com o medicamento referência, além de uma análise de perfil de dissolução da matéria-prima diazepam, conforme descrito a seguir.

4.1.4.1. Avaliação de Diferentes Meios de Dissolução com o Medicamento Referência Valium® 10mg Comprimidos

No estudo de re-desenvolvimento do produto diazepam 10mg comprimidos, foi realizado um estudo de diferentes meios de dissolução do medicamento referência Valium® em meio ácido (HCl 0,1M), solução tampão acetato (pH 4,5) e solução tampão fosfato (pH 6,8). Os ensaios foram realizados em equipamento DISTEK, modelo Evolution 6100. A metodologia de análise foi baseada na monografia do diazepam descrita na Farmacopeia Brasileira (2010e). As alíquotas foram retiradas em tempos de 5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos, analisadas em espectrofotômetro de ultravioleta da Shimatzu, em comprimento de onda de 284nm. As leituras foram realizadas em duplicata.

4.1.4.2. Perfil de Dissolução por Dispersão

Os perfis de dissolução dos três lotes de matéria-prima diazepam foram realizados segundo método adaptado da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010e) em equipamento DISTEK, modelo Evolution 6100. De acordo com os resultados encontrados na avaliação dos diferentes meios de dissolução do medicamento referência, foi verificado que o meio de dissolução descrito pela Farmacopeia Brasileira (FB), ou seja, HCl 0,1M não era discriminativo o suficiente para realização

dos perfis de dissolução na etapa de desenvolvimento de produto, sendo, então, adotado como meio de dissolução a solução tampão acetato (pH 4,5) conforme USP (2012c). Além disso, o aparato de agitação cesta foi substituído por pá para melhor dispersão do pó no meio líquido. Foram utilizadas as seis cubas do dissolutor para cada perfil realizado. As alíquotas retiradas em tempos de 5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos foram analisadas em espectrofotômetro de UV (Shimatzu) em 284nm. As análises foram realizadas em duplicata.

4.1.5. Análise de Densidade Aparente e Batida

O teste foi realizado num equipamento Erweka, modelo SVM 22 e em duplicata para cada amostra. Foram pesados 20g de cada lote de matéria-prima e essas quantidades foram colocadas dentro de uma proveta de 100mL. Após a leitura do volume ocupado pelos 20g de diazepam, foi calculada a densidade aparente de cada lote do fármaco. As provetas foram colocadas no equipamento e submetidas a diferentes números de batidas (500, 750, 1250). O procedimento foi repetido até a obtenção de um volume de pó, sem variação entre as leituras. Os volumes obtidos após a realização do teste foram utilizados para o cálculo de densidade batida. Os valores de densidade aparente e batida foram utilizados para os cálculos de Índice de Carr (IC) e Índice de Hausner (IH) (adaptado de USP, 2012a).

4.1.6. Análise de Fluxo

Os testes de escoamento do material e da formação do ângulo de repouso foram realizados no equipamento Erweka GTB. Foram pesados cerca de 50g de cada matéria-prima e estas quantidades foram colocadas em funil de 200mL, abertura de 25 mm e velocidade nível 4 de agitação do pó. Cada teste foi realizado em triplicata. Os resultados encontrados de ângulo de repouso podem ser relacionados com o Índice de Carr (IC) e o Índice de Hausner (IH) e classificados de acordo com a Tabela 5 de classificação de fluxo de pós (adaptado de USP, 2012b).

4.1.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O teste foi realizado em equipamento Mettler Toledo, modelo 822^e. Foram pesados $10,0 \pm 0,3$ mg de cada lote de diazepam (DZA, DZB e DZC) em cadinho de alumínio. As amostras foram submetidas a uma faixa de temperatura de 25-250°C, sob atmosfera dinâmica de ar sintético, com razão de aquecimento de $\beta = 10\text{K/min}$.

4.1.8. Análise Termogravimétrica (TGA)

Este teste foi realizado em equipamento Mettler Toledo, modelo 851^e. Foram pesados $10,0 \pm 0,3$ mg de cada amostra, em duplicata, em cadinho de alumínio. As amostras foram analisadas na faixa de temperatura de 25^o-500°C sob atmosfera dinâmica de ar sintético com razão de aquecimento de $\beta = 10\text{K/min}$.

4.1.9. Difração de Raio-X de pó (DRXP)

As medidas de DRXP foram realizadas em um difrator de raio-X da Rigaku Corporation, modelo Ultima IV, operando a 40kV e 40mA com velocidade de varredura de 0,02^o/seg, no intervalo 2 θ de 5-60^o (VERHEYEN *et al.*, 2002).

4.1.10. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram realizados em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier da Shimadzu, modelo IR Prestige-21. Foram pesados 1mg de cada amostra e estas foram misturadas com cerca de 100mg de brometo de potássio (KBr), formando a relação 1:100. As análises foram realizadas por reflectância difusa na faixa de comprimento de onda de 4000 - 400 cm^{-1} . Cada espectro gerado representou a média de 15 leituras e os resultados foram expressos em transmitância.

4.1.11. Ensaio de Molhabilidade

Foram preparadas diversas misturas com um gradiente de isopropanol em água e em cada solução foram adicionados 2mg de azul de metileno para facilitar a visualização da “molhagem” do pó. O cálculo da quantidade de isopropanol de cada mistura foi realizado seguindo equação da reta (Equação 11) proposta por Stevens & Gypen (1974), que correlaciona as quantidades de isopropanol com a tensão superficial.

$$y = - 11.34 \ln x + 68.97 \quad \text{Equação 11}$$

Onde:

X = % isopropanol

Y = tensão superficial (dynes/cm)

Foram adicionadas 5mL de cada solução em placas de Petri de 5cm de diâmetro. A matéria-prima foi previamente pesada (500mg) e tamisada (35Mesh) sobre as superfícies das misturas líquidas. O teste foi realizado em duplicata e o tempo de observação foi de 1 minuto. O ensaio foi realizado à temperatura ambiente (25°C) (Figura 12).

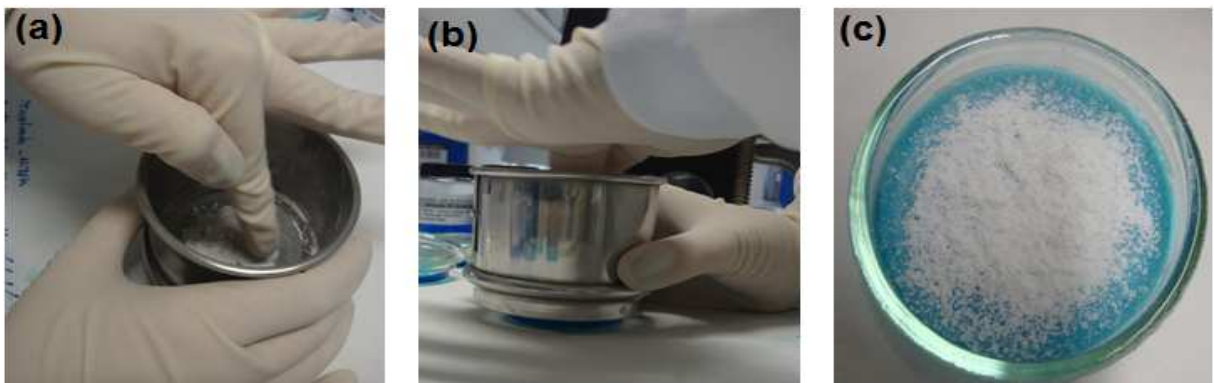


Figura 12 – Imagens do desenvolvimento do teste de Stevens: (a) e (b) tamisação do diazepam sobre a placa de petri contendo a solução corada e (c) placa de Petri com amostra tempo inicial (Fonte: próprio autor.)

Foi utilizado o tensiômetro modelo Dataphysics DCAT 11 do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) para medir a tensão superficial das soluções preparadas. A

tensão superficial foi medida pelo aparato anel e as medidas do tensiômetro foram realizadas em triplicata com uma média de 10 leituras para cada análise. O equipamento e o procedimento para medir a tensão superficial estão mostrados na Figura 13.



Figura 13 – Imagem do tensiômetro e do procedimento de medida da tensão superficial das soluções preparadas para análise da molhabilidade do diazepam (Fonte: próprio autor).

4.1.12. Ensaio de Compressibilidade

O estudo da compressibilidade do diazepam foi realizado a partir de métodos adaptados da literatura (AULTON, 2005; ANGIOLUCCI *et al.*, 2012), substituindo a prensa hidráulica por uma compressora rotativa instrumentada Fette 102i no modo de punção único. Os parâmetros ajustados para a realização do ensaio na compressora rotativa estão mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 – Lista dos parâmetros para a realização do ensaio de compressibilidade do diazepam.

Parâmetros	Condição 1	Condição 2	Condição 3
Tempo de mistura em Misturador “V” (min)	5	5	30
Força de compressão	6 - 10 kN	6 - 10 kN	6 - 10 kN
Comprimidos/h	10	5	10
Velocidade do rotor	28	14	28
Altura do cilindro pré-compressão	3,00	3,00	3,00
Altura do cilindro compressão	2,15	2,15	2,15
Avaliação de dureza dos comprimidos formados	0 e 24h	0 e 24h	0 e 24h

Foram preparadas 3 misturas de 50g para cada lote de ativo com 1% de lubrificante (estearato de magnésio). As matérias-primas foram previamente tamisadas em tamis de malha 35 Mesh (425 μ m). A sequência do desenvolvimento do teste está mostrada na Figura 14.

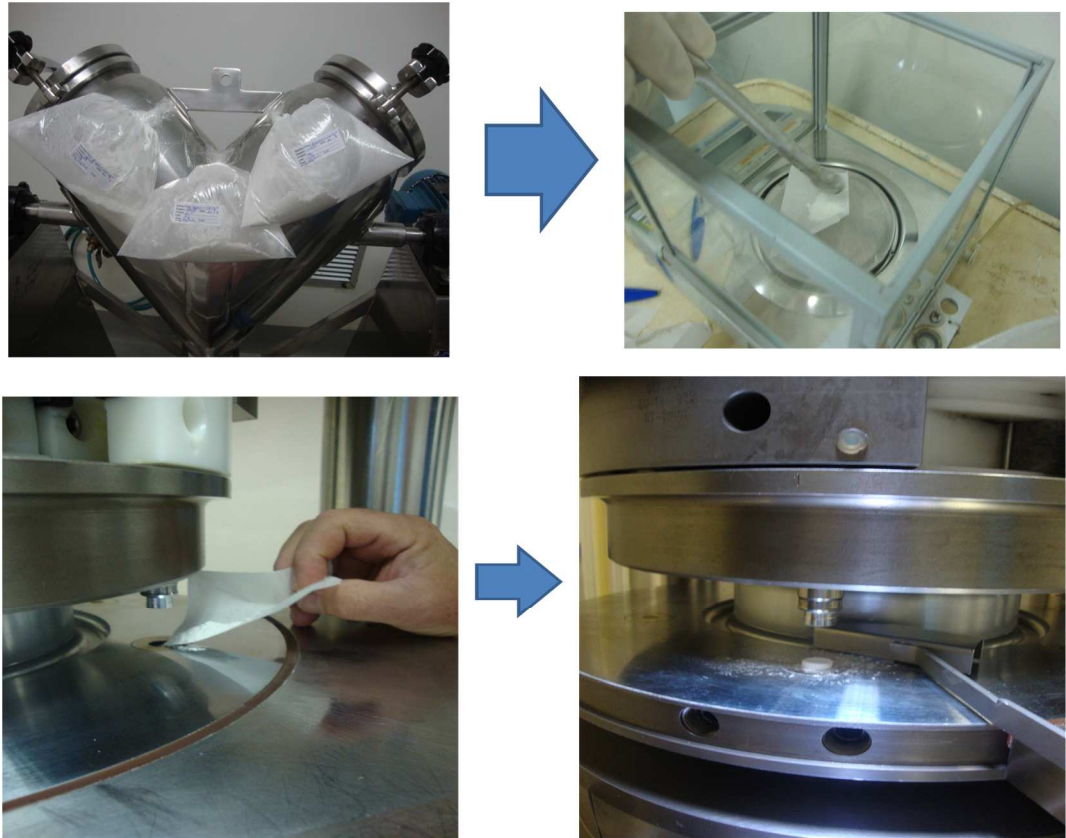


Figura 14 – Sequência de preparo dos comprimidos para o ensaio de compressibilidade do diazepam (Fonte: próprio autor).

Foram preparados 25 comprimidos para cada condição de estudo. Foi analisada a dureza de 10 comprimidos de cada condição imediatamente após a compressão, e os demais foram colocados em frasco plástico de polietileno e armazenados em um dessecador por 24 horas.

4.1.13. Ensaio de Solubilidade

O teste foi realizado com a matéria-prima escolhida para o desenvolvimento farmacotécnico baseado nos resultados obtidos com a caracterização dos três lotes de diazepam. O ensaio de solubilidade foi adaptado da metodologia proposta pela RE 37 (BRASIL, 2011) para análise de solubilidade de fármacos seguindo a classificação biofarmacêutica. Foram realizados dois tipos de ensaio de solubilidade: o ensaio para caracterização da solubilidade química do diazepam em água e o ensaio para a verificação do comportamento desse fármaco em meios diferentes

para abordagem da classificação biofarmacêutica deste, que é muito discutida na literatura.

Previamente a realização dos ensaios de solubilidade, foram realizadas as curvas de calibração do diazepam padrão primário USP para cada meio analisado em espectrofotômetro de ultravioleta Shimatzu, modelo UV-VIS UV-1800, no comprimento de onda de 284nm.

A curva de calibração do diazepam em meio água ultrapura (MilliQ) foi preparada com diferentes diluições da solução concentrada de diazepam. Esta solução foi preparada em balão volumétrico de 200mL. Para tanto, foram pesados cerca de $22\text{mg} \pm 0,3\text{mg}$ de diazepam, padrão primário USP, os quais foram solubilizados em 10mL de metanol. Este balão foi submetido a um banho de ultrassom por 15 minutos. Em seguida, foi adicionado 50mL de meio no balão volumétrico, neste caso água ultrapura (MilliQ). O balão foi, novamente, submetido a um banho de ultrassom por mais 15 minutos e, após esse período, o volume foi completado com água ultrapura (MilliQ). Após o preparo da solução concentrada diferentes diluições foram realizadas formando um gradiente de concentração do diazepam. As soluções diluídas foram analisadas em espectrofotômetro de UV no comprimento de onda de 284nm, seguindo metodologia descrita na monografia do diazepam comprimidos (BRASIL, 2010e).

A solubilidade química foi realizada em triplicata, em equipamento Ika Werke (Termostato de imersão EH 4 Basic com frasco de banho EH 4.2) acoplado à placa de agitação Ika Werke (modelo RO10). Para tanto, aproximadamente 500mg de diazepam, previamente tamisados em tamis de malha 35 Mesh, foram dispersos em 75mL de água ultrapura (MilliQ) formando um meio supersaturado. Os erlenmeyers foram colocados sob agitação, a uma temperatura constante ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) por 24 horas. A Figura 15 apresenta uma imagem do equipamento preparado para o ensaio.

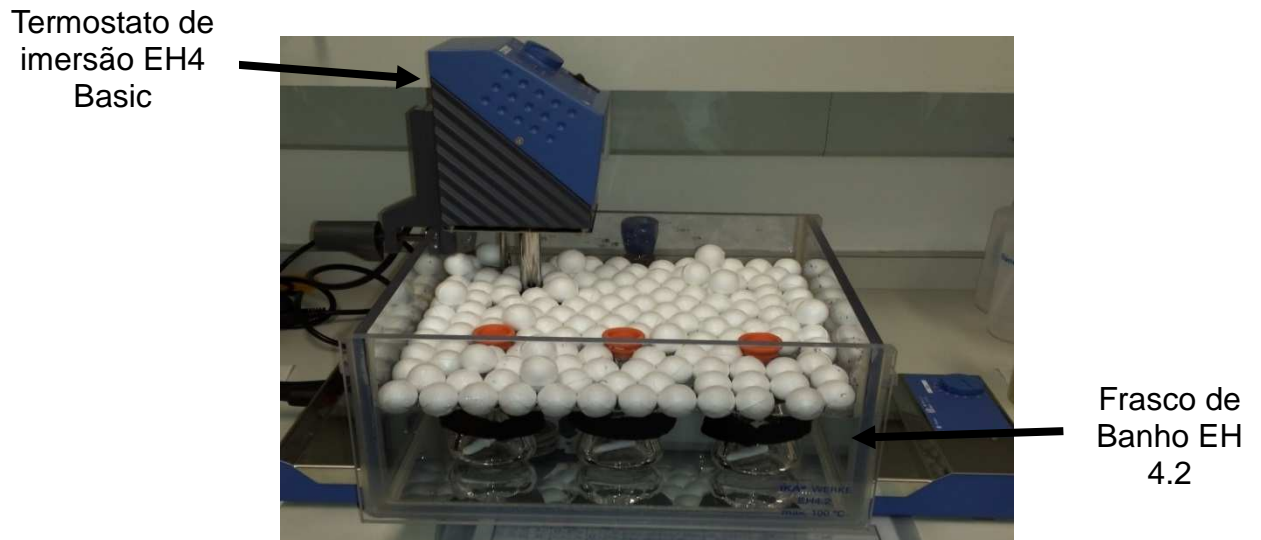


Figura 15 – Imagem do equipamento preparado para a análise de solubilidade do diazepam (Fonte: próprio autor).

Após 24 horas de agitação, foram coletados 5mL do meio de cada erlenmeyer e filtrados em filtro de seringa de 0.45 μ m. A seguir, 4mL da solução filtrada de cada erlenmeyer foram diluídos em 4mL de água ultrapura. Após a diluição, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro de ultravioleta Shimatzu modelo UV-VIS UV-1800 no comprimento de onda de 284nm. Foi realizado o ensaio de cromatografia em camada fina (CCF) como técnica de acompanhamento de possíveis degradações do fármaco. As CCFs foram preparadas seguindo metodologia para substâncias relacionadas descritas na monografia do diazepam (BRASIL, 2010e), sendo a fase móvel uma mistura de acetato de etila e hexano (1:1) e a solução padrão preparada com cerca de 50mg de diazepam padrão primário USP diluída em 5mL de etanol. As alíquotas das amostras de diazepam foram diluídas em etanol na proporção 1:1 v/v.

A solubilidade baseada na classificação biofarmacêutica foi realizada em triplicata no mesmo equipamento do teste de solubilidade química e seguindo a mesma metodologia, com substituição do meio água ultrapura por três meios diferentes (meio HCl 0,1M - pH 1,2; meio tampão acetato de sódio – pH 4,5; meio tampão fosfato de potássio pH 6,8). Os tampões foram preparados seguindo método da USP (2012c).

4.2. Estudo de Compatibilidade Fármaco-excipiente:

Este estudo teve como objetivo verificar possíveis incompatibilidades, entre o fármaco diazepam e os diferentes excipientes. Os excipientes diluentes, desintegrantes e lubrificantes todos de grau farmacêutico foram escolhidos de acordo com o processo de compressão direta dos comprimidos de diazepam baseado em uma formulação previamente desenvolvida que foi reprovada no estudo de bioequivalência e nos excipientes presentes na formulação do medicamento referência Valium® 10 mg comprimidos. Optou-se a não utilização de corante na formulação, visto que em sua maioria os mesmos são instáveis. A Tabela 11 apresenta a formulação do medicamento referência.

Tabela 11 – Descrição da formulação do medicamento referência Valium® 10mg comprimidos.

Componentes da formulação do medicamento referência
Diazepam
Lactose
Amido de milho
Estearato de magnésio
Indigo carmin

As matérias-primas escolhidas para este estudo estão descritas na Tabela 12.

Tabela 12 – Listagem das matérias-primas, suas respectivas funções e suas siglas de identificação utilizadas no estudo de compatibilidade fármaco-excipiente.

<i>Insumos Farmacêuticos</i>	<i>Função</i>	<i>Sigla adotada para identificação no estudo</i>
<i>Diazepam</i>	Ativo	DZP
<i>Lactose monohidratada “spray-dried”</i>	Diluyente	LAC
<i>Celulose microcristalina 102</i>	Diluyente	MCC
<i>Amido pré-gelatinizado</i>	Desintegrante	APG
<i>Amido glicolato de sódio</i>	Desintegrante	AGS
<i>Croscarmelose sódica</i>	Desintegrante	CCS
<i>Dióxido de silício coloidal</i>	Desintegrante/ Promotor de fluxo	DSI
<i>Estearato de Magnésio</i>	Lubrificante	EMG
<i>Talco 325 Mesh</i>	Lubrificante	TAL

De acordo com os resultados obtidos nos estudos de pré-formulação, foi escolhido o lote de ativo mais adequado para o desenvolvimento farmacotécnico, sendo este utilizado para o estudo de compatibilidade. Foram preparadas misturas binárias 1:1 (p/p) fármaco-excipiente e misturas em proporções baseadas em formulações propostas. As misturas foram realizadas em sacos plásticos de mesmo tamanho através de movimentos similares aos movimentos do misturador em “V” por, aproximadamente, 3 minutos. As misturas preparadas com proporções de uma possível formulação estão mostradas na Tabela 13.

Tabela 13 – Listagem das misturas de diazepam e excipientes com as proporções de uma formulação.

<i>Mistura</i>	<i>Proporção formulação</i>
Diazepam + Lactose monohidratada Spray-Dried (DZP+LAC)	1:5,5 / 1:10,5
Diazepam + Celulose microcristalina 102 (DZP+MCC)	1:6,5
Diazepam + Amido parcialmente pré-gelatinizado (DZP+APG)	1:2
Diazepam + Amido glicolato de sódio (DZP+AGS)	1:0,3
Diazepam + Croscarmelose sódica (DZP+CCS)	1:0,3
Diazepam + Dióxido de sílcio coloidal (DZP+DSI)	1:0,1
Diazepam + Estearato de Magnésio (DZP+EMG)	1:0,3 / 1:0,1
Diazepam + Talco (DZP + TAL)	1:0,5
Observação: Foram preparadas duas proporções diferentes das misturas DZP+EMG e DZP+LAC, pois a lactose e o estearato de magnésio representam os excipientes com maiores relatos de incompatibilidade com fármacos.	

Em seguida, as misturas obtidas foram armazenadas em frasco de vidro âmbar cobertos com papel-manteiga (Figura 16).



Figura 16 – Acondicionamento das misturas utilizadas no estudo de compatibilidade (Fonte: próprio autor).

Além disso, as misturas foram submetidas a um estudo de estabilidade acelerada de 3 meses baseado nas orientações para estudo de estabilidade da ANVISA (BRASIL, 2005) a fim de verificar o aparecimento de incompatibilidades no decorrer do estudo. As misturas foram acondicionadas em cartuchos (Figura 17) separadas por condição e período de estocagem e armazenados em câmara climática de 40°C/75%UR, da marca Mecalor, modelo EC/1.2/AR-URC do Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica (LAQFA) e em câmara climática de 30°C/75%UR da marca Weiss localizada em Farmanguinhos. A Tabela 14 apresenta o protocolo de estudo de estabilidade adotado para este teste.



Figura 17 - Acondicionamento das amostras na câmara climática (Fonte: próprio autor).

Tabela 14 – Protocolo do estudo de estabilidade das amostras do ensaio de compatibilidade

Condições de estocagem	Ponto zero	1ºmês	2ºmês	3ºmês
30°C/75%UR	X	Y	Y	Y
40°C/75%UR	X	X	X	X

Legenda: X – análises realizadas, Y – análises que somente seriam analisadas caso houvesse resultado positivo de interação na condição 40°C/ 75% UR.

As amostras foram submetidas à análise térmica (DSC e TGA) e à espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) como técnica

complementar nos tempos de 0, 1, 2 e 3 meses da condição 40°C/75%UR. Além disso, as misturas que apresentaram possível interação/incompatibilidade foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em equipamento WR Hitachi Elite La Chrom, seguindo método de substâncias relacionadas do diazepam descrito na USP (2012d). Os resultados observados foram comparados com os resultados das matérias-primas puras submetidas às mesmas condições de estocagem e estabilidade para a verificação das interações.

4.3. Desenvolvimento Farmacotécnico:

Para produzir os comprimidos de Diazepam 10mg, foi realizado o processo de compressão direta da matéria-prima escolhida misturada com demais excipientes, previamente selecionados em função dos resultados obtidos nos ensaios de compatibilidade. O processo de compressão direta foi escolhido baseado nas informações relatadas anteriormente no item 4.2 do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente, pelos tipos de excipientes utilizados e pela baixa dosagem do ativo (10mg).

Foi escolhido o punção de 7 mm sulcado para a produção dos comprimidos. Foram manipulados 9 lotes dentre estes: 6 lotes experimentais e 3 lotes pilotos do lote experimental mais adequados para aumento de escala, considerando os estudos de estabilidade e de bioequivalência. A nomenclatura utilizada para identificação dos lotes está apresentada na Tabela 15.

Tabela 15 – Nomenclatura adotada para identificação dos lotes de comprimidos de diazepam 10mg produzidos.

<i>Tipo de lote</i>	<i>Nomenclatura adotada</i>
Experimental 1	EXP 1
Experimental 2	EXP 2
Experimental 3	EXP 3
Experimental 4	EXP 4
Experimental 5	EXP 5
Experimental 6	EXP 6
Piloto 1	Piloto 1
Piloto 2	Piloto 2
Piloto 3	Piloto 3

Os lotes experimentais variaram de acordo com os excipientes e lote do ativo utilizados conforme Tabela 16 a seguir. Todos os lotes experimentais foram fabricados com os mesmos lotes de excipientes.

Tabela 16 – Descrição das formulações preparadas no desenvolvimento dos lotes experimentais de comprimidos de diazepam 10mg.

Formulações	Lotes experimentais					
	EXP 1	EXP 2	EXP 3	EXP 4	EXP 5	EXP 6
DZA	X					
DZA 3X moído		X	X			
DZB				X	X	X
Diluyente A	X	X	X	X	X	X
Diluyente B	X	X				X
Diluyente C			X	X	X	
Diluyente D			X		X	
Desintegrante A			X		X	
Desintegrante B	X	X				X
Desintegrante C	X	X		X		X
Lubrificante	X	X	X	X	X	X

Foram preparados lotes variando de 1 a 2 Kg e os comprimidos formados foram analisados por testes físico-mecânicos e físico-químicos descritos a seguir. O

lote EXP 1 foi preparado com o lote DZA do ativo alterando alguns excipientes para a verificação de uma possível melhora no perfil de dissolução do produto, já que houve um lotes anteriores utilizando o ativo DZA que apresentaram problemas no perfil de dissolução do produto. O lote EXP 2 foi preparado com o fármaco DZA moído 3x e mesmos excipientes do lote EXP 1. A moagem foi realizada em moinho de faca-martelos Fritz Patrick para promover a diminuição do tamanho de partícula do ativo e possivelmente melhorar o perfil de dissolução do produto. O lote EXP 3 apresentou o fármaco DZA moído 3x e repetição da formulação de lotes anteriores que tiveram problemas de dissolução do diazepam avaliando a melhora da dissolução através da diminuição do tamanho de partícula. Já os lotes EXP 4, EXP 5 e EXP 6 foram manipulados com o ativo DZB variando os excipientes utilizados baseado no histórico do produto. O lote DZB foi utilizado para verificar se o problema do perfil de dissolução do produto está ligado diretamente ao lote de matéria-prima do ativo. Os comprimidos formados foram avaliados quanto ao aspecto obtido após o processo de compressão. O fluxograma do processo de produção dos comprimidos de diazepam está mostrado na Figura 18.

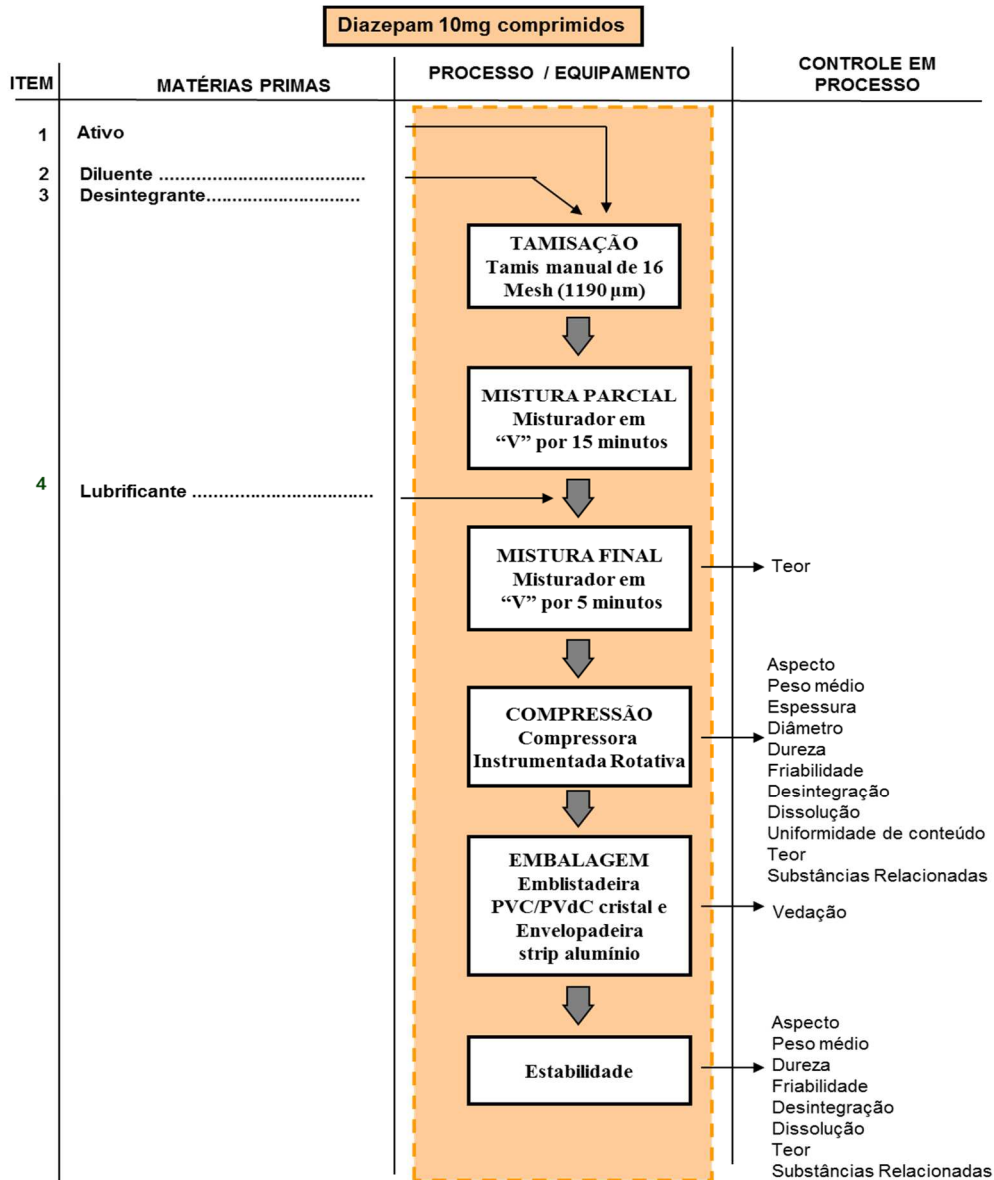


Figura 18 – Etapas do processo produtivo para obtenção do produto diazepam 10mg comprimidos.

A partir da escolha do lote experimental (EXP 6) que apresentou resultados mais adequados, foram produzidos 3 lotes pilotos de aproximadamente 28Kg, correspondente a 10% do peso do lote industrial de comprimidos de diazepam de acordo com o que é preconizado na Instrução Normativa nº 2 (BRASIL, 2009). Os comprimidos dos lotes pilotos foram submetidos ao estudo de estabilidade acelerada em duas embalagens primárias diferentes (strip de alumínio e PVC/PVdC cristal) (Figura 19). A embalagem strip alumínio era utilizada na produção dos lotes anteriores de diazepam comprimidos, porém este processo de embalagem está em

descontinuidade na empresa detentora deste registro, mas os lotes ainda assim foram embalados em strip para viabilizar o estudo comparativo de estabilidade. Por este motivo, foi realizado, também, o estudo de estabilidade na embalagem blister PVC/PVdC cristal que é um processo rápido que permite automação e validável.



Figura 19 – Embalagens primárias utilizadas no produto diazepam 10mg comprimidos (Fonte: próprio autor).

4.3.1. Peso Médio

Este teste verifica se as unidades de um mesmo lote apresentam uniformidade de peso. Foram pesados 20 comprimidos sendo calculada a média de peso para cada lote piloto. O teste foi realizado na balança Mettler Toledo, modelo AL204, seguindo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010f).

4.3.2. Dureza

Este teste determina a resistência do comprimido ao esmagamento. Foram pesados 10 comprimidos de cada lote produzido sendo calculada dureza média. O teste foi realizado com o durômetro Erweka, modelo TBH310MD, seguindo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010g).

4.3.3. Fiabilidade

Este teste determina a resistência do comprimido à abrasão. Foram analisados 20 comprimidos de cada lote piloto por 4 minutos, a 25 rpm. O teste foi realizado no Friabilômetro Erweka, modelo TAR-200, seguindo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010g). O resultado de perda de pó não pode ser superior a 1,5% de perda.

4.3.4. Desintegração

Este teste verifica se os comprimidos desintegram dentro do tempo especificado para formas farmacêuticas de liberação imediata (30 minutos). O teste consistiu em analisar 6 comprimidos de cada lote piloto em meio aquoso, a 37°C, em desintegrador Erweka (modelo ZT 71), seguindo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010h).

4.3.5. Teor

A determinação do teor de diazepam nos comprimidos dos três lotes pilotos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência da WR Hitachi, modelo Elite LaChrom. O método empregado seguiu Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010e).

4.3.5.1. Condições Cromatográficas

A análise de teor foi realizada em cromatógrafo com detector de ultravioleta a 254nm com injeção automática e com coluna ACE empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (C₁₈), com tamanho de 150 x 4,6mm, 5µm. O volume de injeção foi igual a 20 µL e a coluna foi mantida à temperatura de 30°C. O tempo de análise foi de 10 minutos e o tempo de retenção do diazepam de 7,5 minutos. A fase móvel foi composta por uma mistura de acetonitrila, água e metanol (40:40:20) degaseficada em ultrassom por 20 minutos. A velocidade de fluxo da fase móvel foi de 0,8mL/min.

4.3.5.1.1. Preparo de Padrão

Foram pesados, em balança de precisão, cerca de 20mg de padrão primário de diazepam. Em seguida, esta massa foi solubilizada em 100mL de fase móvel em balão volumétrico, sob banho de ultrassom, por 10 minutos. O volume foi completado com a solução da fase móvel e homogeneizado. Foram transferidos 5mL desta solução preparada para um balão volumétrico de 50mL. O volume foi completado com fase móvel. A solução, então, foi homogeneizada e filtrada através de membrana de celulose regenerada, com 0,45µm de porosidade. A concentração de diazepam na solução padrão foi de 0,02mg/mL.

4.3.5.1.2. Preparo de Amostra

Foram pesados, em balança de precisão, 20 comprimidos de cada lote de matéria-prima de diazepam. Os comprimidos foram triturados até a obtenção de um pó fino. Em seguida, foram pesados aproximadamente 140mg ± 5mg da amostra (correspondente a 10mg de diazepam) e transferidos para balão volumétrico de 50mL. Foram adicionados 50mL da fase móvel e a solução foi colocada em banho de ultrassom por 10 minutos para promover a solubilização. Uma alíquota de 5mL desta solução foi solubilizada em balão volumétrico de 50mL, sendo o volume completado com a fase móvel. A solução, então, foi homogeneizada e filtrada através de membrana de celulose regenerada com 0,45µm de porosidade. A concentração de diazepam na solução amostra foi de 0,02mg/mL.

4.3.5.1.3. Cálculo da Quantidade de Diazepam

O cálculo da quantidade de diazepam foi realizado de acordo com as Equações 12 e 13 mostradas a seguir.

$$\text{Teor (mg/comp.)} = \frac{A_A \times P_p \times m_{pd1} \times 0,5 \times PM}{A_{Pd1} \times m_a \times 100} \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

A_A = Média das áreas de diazepam das injeções da solução amostra

A_{Pd1} = Média das áreas de diazepam das injeções da solução padrão

P_p = Pureza do padrão (%)

m_{pd1} = Massa do padrão (mg)

0,5 = Fator de diluição

PM = Peso médio dos comprimidos

m_a = Massa da amostra (mg)

100 = Correção da pureza do padrão

Teor (% do declarado):

$$\text{Diazepam} = \frac{\text{Teor (mg/comp.)} \times 100}{10} \quad \text{Equação 13}$$

Onde:

10 = quantidade de teor declarado de diazepam (mg/comprimido)

4.3.6. Perfil de Dissolução

Os perfis de dissolução dos comprimidos obtidos e do medicamento referência (Valium 10mg) foram realizados segundo método adaptado da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (BRASIL, 2010e) em equipamento DISTEK, modelo Evolution 6100. Assim como anteriormente descrito no item 4.1.4.2, o meio de dissolução utilizado foi a solução tampão acetato, pH 4,5. O fator de similaridade (f2) foi calculado para a forma farmacêutica comprimidos, seguindo fórmula descrita pela ANVISA (BRASIL, 2010d) e conforme citado no item 2.3.

4.3.7. Uniformidade de Conteúdo

O teste de uniformidade de conteúdo é um teste obrigatório para formulações contendo baixa dosagem de ativo e consiste em verificar se a quantidade do ativo está uniforme em unidades individuais de um lote. Este teste foi realizado com comprimidos obtidos dos três lotes pilotos no ponto zero de estabilidade utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da marca Shimatzu,

modelo LC-10AT, com coluna ACE C18 para quantificação do fármaco. Foram pesados e analisados individualmente 10 comprimidos de cada lote e submetidos ao ensaio de doseamento segundo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010e).

4.4. Estudo de Estabilidade Acelerada:

O produto formulado diazepam 10mg comprimidos foi submetido a um estudo de estabilidade acelerado (40°C/75%UR) que compreendeu análises de amostras dos três lotes pilotos fabricados (Piloto 1, Piloto 2 e Piloto 3) nos períodos de 0, 3 e 6 meses seguindo as condições descritas pela ANVISA (BRASIL, 2005). Os comprimidos foram acondicionados na câmara climática de 40°C/75%UR da marca Mecalor, modelo EC/1.2/AR-URC, do Laboratório Químico-farmacêutico da Aeronáutica (LAQFA), em dois tipos de embalagem primária: pvc/pvdc cristal e strip alumínio. Além disso, as embalagens foram submetidas a um controle de qualidade em processo através do teste de imersão em azul de metileno para verificação da vedação das mesmas.

Os comprimidos foram submetidos nos períodos de análise, novamente, a análises físico-mecânicas (dureza, friabilidade, peso médio, desintegração) e físico-químicas (dissolução e teor), seguindo a mesmas metodologias descritas anteriormente. Adicionalmente, foram realizadas as análises de substâncias relacionadas dos comprimidos formados.

4.4.1. Substâncias Relacionadas do Diazepam

Este ensaio serve para verificação de pureza dos comprimidos. A análise de substâncias relacionadas do diazepam foi realizada segundo monografia do diazepam comprimidos da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010e) por cromatografia em camada fina (CCF).

4.5. Estudo de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência

Como pré-requisito na composição do dossiê de renovação do registro do medicamento em estudo, foram realizados os estudos de equivalência e bioequivalência farmacêutica. O estudo de equivalência farmacêutica foi realizado no Centro de Equivalência Farmacêutica – CEF da Fiocruz. Esse estudo foi realizado comparando um lote piloto (PILOTO 2) com um lote do medicamento referência (Valium 10mg) quanto às características físicas (aspecto) e físico-químicas (peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, dissolução, perfil de dissolução, uniformidade de conteúdo, teor). Os perfis de dissolução foram analisados sob condições farmacopeicas (BRASIL, 2010e), porém com a utilização de doze cubas do dissolutor para cada perfil realizado. Os perfis obtidos foram comparados e submetidos ao cálculo de f1 e f2.

O ensaio de bioequivalência farmacêutica foi realizado em parceria com três instituições: a etapa clínica aconteceu no Laboratório de Bioequivalência (ICM P&D – Minas Gerais); a etapa analítica foi feita no Laboratório de Farmacocinética (Lab-SEFAR – Fiocruz) e a etapa estatística desenvolvida na Unidade Integrada de Farmacologia e Gastroenterologia (UNIFAG – São Paulo). O ensaio consistiu em analisar a biodisponibilidade relativa/bioequivalência do produto teste (comprimidos de diazepam 10mg – PILOTO 2) e produto referência (Valium® 10mg) mesmo lote utilizado no estudo de equivalência farmacêutica. O estudo foi realizado de modo aberto, aleatorizado e cruzado com 2 tratamentos, 2 sequências em 2 períodos de tempo, em 35 voluntários sadios (homens e mulheres adultos com idade entre 18 e 45 anos). Foram comparados os parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência (BRASIL, 2006).

4.6. Correlação *In Vitro-In Vivo* (CIVIV)

A correlação *in vitro-in vivo* foi realizada no Laboratório de Farmacométrie (LabFARMA – UFRJ) sob orientação da professora Dra. Rita Estrela. O estudo consistiu em comparar os dados da dissolução *in vitro* do medicamento teste (PILOTO 2) e do medicamento referência obtidos em dois meios de dissolução diferentes: meio HCl 0,1M – pH 1,2; meio tampão acetato de sódio – pH 4,5 com os

dados farmacocinéticos obtidos do estudo de bioequivalência farmacêutica. Foram realizados os estudos de correlação *in vitro-in vivo* de nível A no Programa Phoenix WinNolin® 6.3 IVIVC Toolkit™ (Pharsight, CA, USA) e nível C múltiplo no Programa Microsoft Excel®.

Para as análises de nível C múltiplo foram escolhidos os tempos de 15, 30, 45 e 90 minutos do ensaio de dissolução e comparados com os resultados do parâmetro farmacocinético área sob a curva parcial (ASC_{1h} , $ASC_{1,5h}$, ASC_{2h} , ASC_{3h}), respectivamente. Os resultados foram expressos em um gráfico de $ASC_{parcial}$ versus % Dissolvida.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

5.1. Estudos de Pré-formulação:

O estudo de pré-formulação visou avaliar as características físico-químicas e físicas dos três lotes da matéria-prima diazepam (DZA, DZB e DZC) e proporcionou uma comparação dos resultados obtidos para a escolha do melhor lote para o desenvolvimento do produto almejado.

5.1.1. Aspecto visual

Em relação ao aspecto visual, o lote DZB apresentou uma coloração mais branca e macroscopicamente um pó mais fino do que os lotes DZA e DZC que apresentaram uma coloração mais amarelada e um pó visualmente mais grosseiro. Esta diferença, possivelmente, pode ser explicada por variações no processo de obtenção do diazepam.

5.1.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura dos três lotes de matérias-primas de diazepam foi realizada em três aumentos diferentes (x190, x500, x1000) e estão mostradas na Figura 20.

A microscopia forneceu informações sobre a morfologia do fármaco estudado e indícios do comportamento de fluxo e dissolução dos diferentes lotes do diazepam analisados. Este teste permitiu uma análise comparativa entre os lotes.

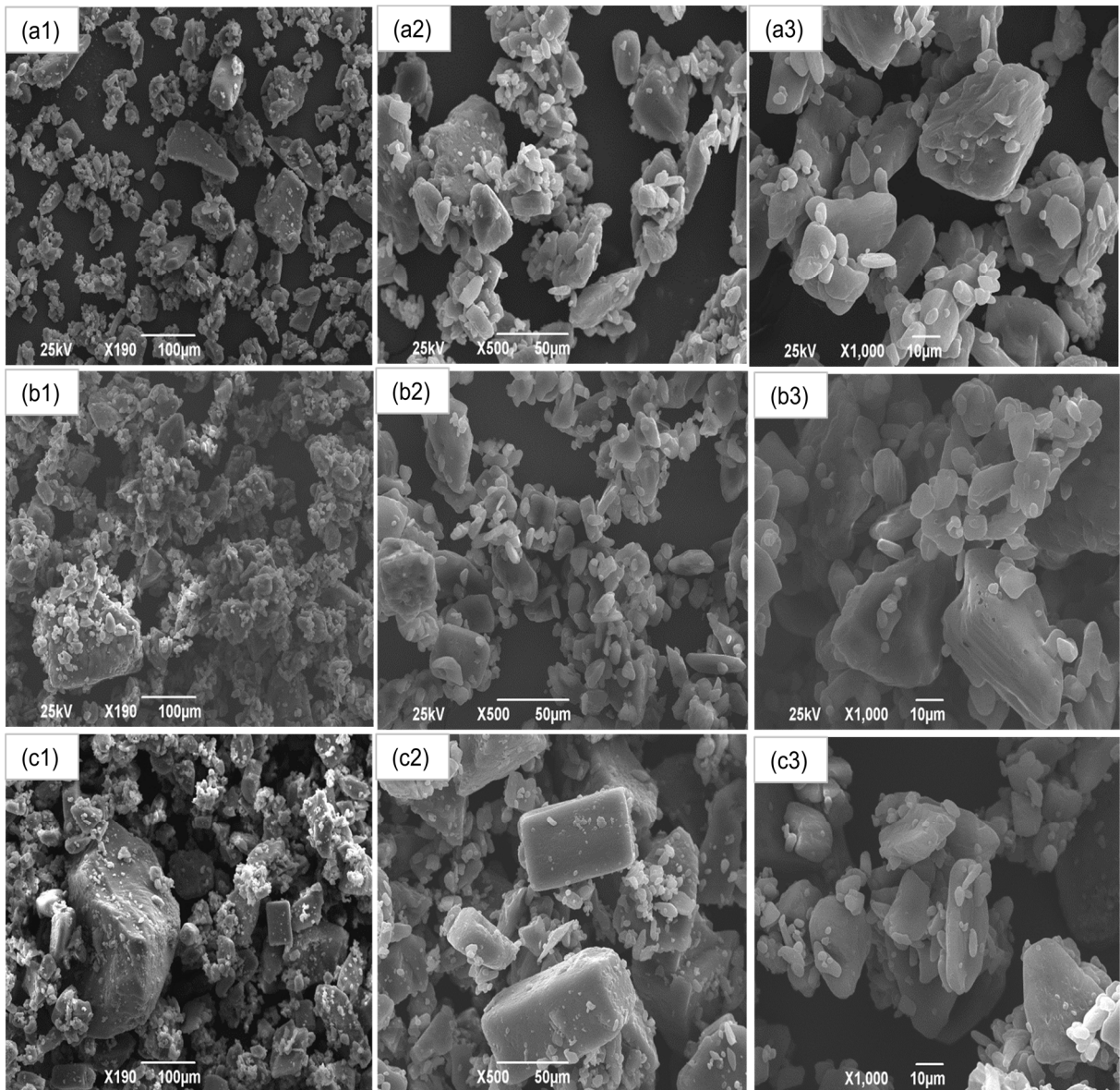


Figura 20 – Fotomicrografias em diferentes magnificações de (a) DZA, (b) DZB e (c) DZC.

A partir das imagens obtidas, foi observado que todas as amostras apresentaram aspecto bastante aglomerado, porém as amostras DZA e DZC apresentaram diferentes tamanhos de partículas, enquanto a amostra DZB apresentou tamanho de partículas mais homogêneo. Um tamanho de partícula mais homogêneo favorece a uniformidade de conteúdo e estabilidade de uma formulação. Além disso, foi verificado que o diazepam apresenta diferentes morfologias e este fato está mais evidenciado na amostra DZC. Entretanto, pode-se concluir que o diazepam é um material cristalino visto que ele apresenta uma morfologia

organizada o que não pode ser observado em materiais amorfos. Além disso, análises complementares apresentadas mais a frente neste trabalho corroboram esta conclusão. A cristalinidade do diazepam pode ser observada, também, na microscopia óptica realizada por Sánchez-Soto e colaboradores (1990), o que confirma os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura.

5.1.3. Análise de Distribuição Granulométrica do Diazepam

A análise de distribuição granulométrica e tamanho das partículas dos três lotes de matéria-prima diazepam (DZA, DZB e DZC) foi realizada por dois métodos complementares. A granulometria por tamisação que avaliou a distribuição do tamanho de partícula e aglomeração do pó e o espalhamento de luz laser que permitiu uma análise mais detalhada dos tamanhos das partículas de cada lote e uma comparação com os resultados obtidos do ensaio de tamisação.

4.1.3.1. Tamisação

O ensaio de tamisação permitiu uma análise bruta da distribuição granulométrica dos lotes DZA, DZB e DZC. Os resultados estão apresentados na Tabela 17 e na Figura 21.

Tabela17 – Distribuição granulométrica dos três lotes de matéria-prima do diazepam.

Nº tamis (Mesh) / abertura do tamis (μm)	% Retida DZA	% Retida DZB	% Retida DZC
8 / 2360	0,06 \pm 0,03	0,06 \pm 0,03	0,06 \pm 0,03
14 / 1180	0,38 \pm 0,03	0,55 \pm 0,07	0,24 \pm 0,30
35 / 425	2,74 \pm 0,50	2,74 \pm 0,65	5,61 \pm 0,02
60 / 250	16,67 \pm 1,55	1,52 \pm 0,11	29,48 \pm 1,73
80 / 180	13,18 \pm 3,92	6,58 \pm 5,69	18,23 \pm 0,25
100 / 150	10,54 \pm 2,46	7,52 \pm 1,02	10,48 \pm 0,34
Prato	56,39\pm8,95	80,32\pm4,33	35,94\pm2,03

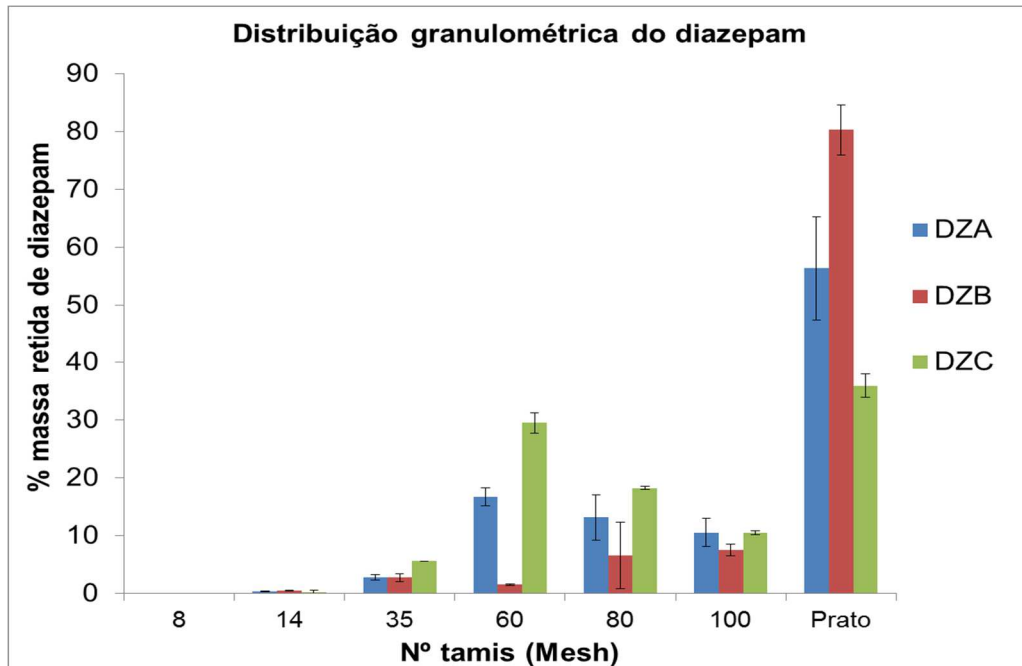


Figura 21 – Resultado da distribuição granulométrica dos três lotes do diazepam.

Os resultados do ensaio de tamisação mostraram que a amostra DZB apresentou 83% das partículas com tamanho menor que 150 μm , enquanto as amostras DZA e DZC apresentaram somente 50% e 37%, respectivamente. Esta análise mostrou que a amostra DZB apresenta partículas menores que os outros dois lotes. Através da classificação do pó quanto à granulometria, classifica o lote DZB pode ser classificado como pó fino (apresenta 91,61% das partículas com tamanho menor que 180 μm). Já as amostras DZA e DZC podem ser classificadas como pós semifinos, visto que os dois lotes apresentaram acima de 90% (96,08% DZA e 93,88% DZC) das partículas com tamanho menor que 425 μm .

De acordo com a Figura 21, pode-se observar que todos os lotes apresentam-se aglomerados e os lotes DZA e DZC apresentaram quantidades de pó retidas na malha 60 Mesh (250 μm) maiores do que a quantidade retida do lote DZB. Isto permite concluir que a amostra DZB apresenta um pó mais fino e com partículas de tamanho mais homogêneo do que os demais lotes.

A homogeneidade do lote DZB favorece a obtenção de uniformidade de conteúdo do fármaco na formulação. Além disso, o mesmo lote apresenta menor tamanho de partícula favorecendo a taxa de dissolução do fármaco e consequentemente a biodisponibilidade deste.

5.1.3.2. Espalhamento de Luz Laser

A Tabela 18 apresenta os resultados numéricos de distribuição granulométrica das amostras de diazepam realizados por espalhamento de luz laser. O ensaio foi realizado com dispersão do diazepam em uma solução aquosa contendo Polissorbato 80 a 0,02%.

Tabela 18 – Distribuição do tamanho de partícula das amostras de diazepam.

Amostras	d10 (μm)	d50 (μm)	d90 (μm)	dm (μm)	Polidispersão (Span)
DZA	5,56 \pm 0,74	31,16 \pm 1,16	100,83 \pm 5,73	45,96	3,06
DZB	6,78 \pm 0,30	26,69 \pm 0,62	66,48 \pm 1,19	32,43	2,24
DZC	8,07 \pm 0,70	31,86 \pm 1,68	86,22 \pm 7,09	42,32	2,45

Legenda: d10 – diâmetro acumulado de 10% das partículas; d50 – diâmetro médio de 50% das partículas; d90 – diâmetro médio de 90% das partículas; dm – diâmetro médio volumétrico; span - dispersão do tamanho de partícula.

De acordo com os resultados de tamanho de partícula, foi observado que o lote DZB apresenta um diâmetro médio (dm) menor que os outros lotes, confirmando os resultados obtidos no ensaio de tamisação. Além disso, o valor de polidispersão (span) é menor no lote DZB, o que significa que este lote apresenta uma dispersão granulométrica menor (CHEW & CHAN, 2002), porém os três lotes apresentaram valores de polidispersão bons. A Figura 22 apresenta a distribuição granulométrica dos três lotes.

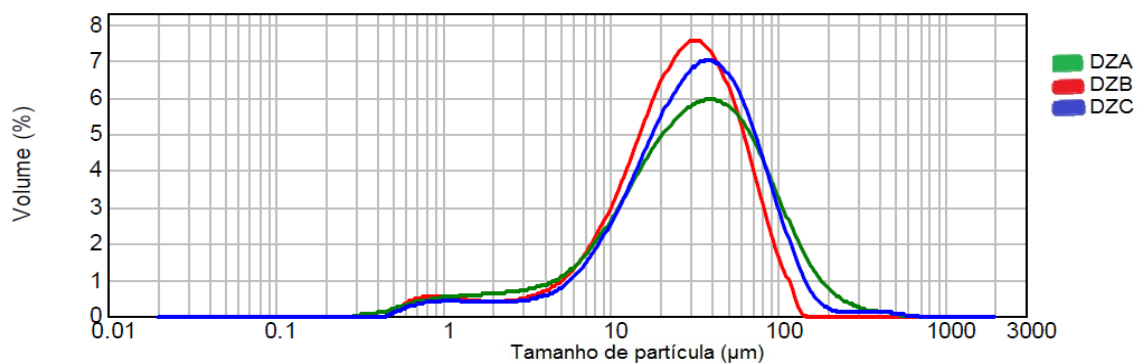


Figura 22 - Distribuição granulométrica dos três lotes de diazepam por espalhamento de luz laser.

De acordo com a Figura 22, foi observado que a distribuição granulométrica dos três lotes de diazepam apresentou um comportamento semelhante com característica bimodal. Porém, a amostra DZB apresentou uma distribuição mais homogênea que os demais lotes.

O lote DZB por apresentar menor tamanho médio das partículas pode apresentar um fluxo pior que DZA e DZC, visto que partículas menores apresentam tendência à aglomeração (PORTE, LEÃO & PORTE, 2011). A aglomeração está presente em todas as amostras de diazepam analisadas, como pode ser observado nas microscopias mostradas no tópico anterior e na análise granulométrica.

5.1.4. Perfil de Dissolução

5.1.4.1. Avaliação de Diferentes Meios de Dissolução com o Medicamento Referência Valium® 10mg Comprimidos

De acordo com o histórico do produto, foi realizado um estudo de perfil de dissolução de um lote do medicamento referência Valium® 10mg comprimidos. Os resultados dos perfis estão mostrados na Figura 23.

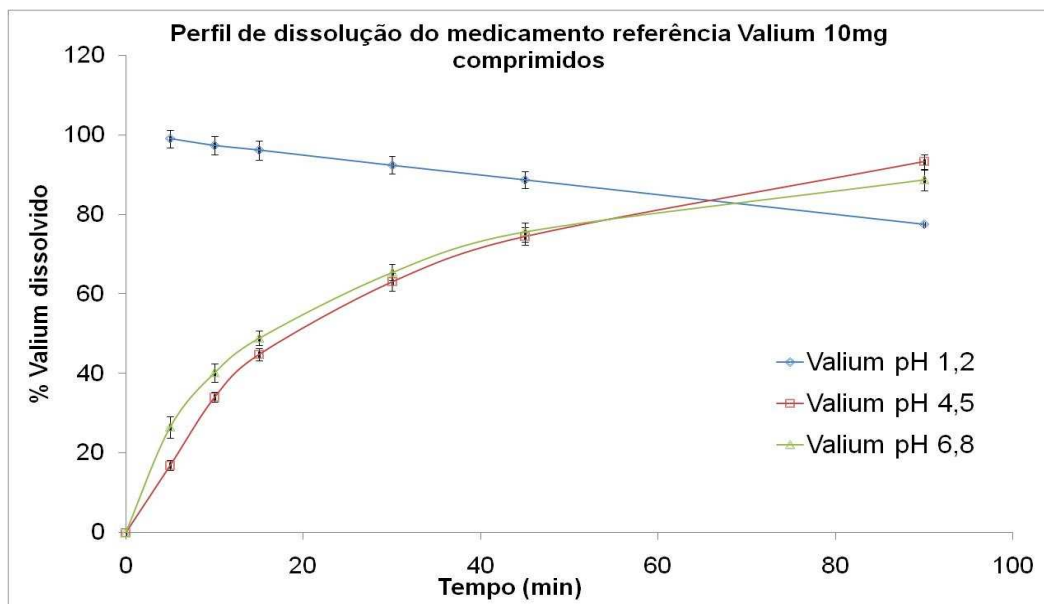


Figura 23 – Perfil de dissolução do medicamento referência Valium® 10mg comprimidos realizado em três meios distintos (pH 1,2 – HCl 0,1M, pH 4,5 – tampão acetato, pH 6,8 – tampão fosfato).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 23, foi observado que no meio de dissolução HCl 0,1M, que é o meio descrito na Farmacopeia Brasileira para a análise de diazepam comprimidos, houve uma rápida dissolução do fármaco, já que em 5 minutos de dissolução o diazepam está 98,97% dissolvido. Além disso, o resultado observado para esse pH sugere uma possível degradação do fármaco dependente do tempo de dissolução, uma vez que foi verificado uma tendência decrescente e uma taxa de dissolução de 77,4% após 90 minutos de ensaio. A rápida dissolução do fármaco no meio ácido está relacionado a característica físico-química da molécula de ser uma base fraca com pKa em torno de 3,4.

As dissoluções realizadas em pH 4,5 e pH 6,8 apresentaram um perfil mais lento. O resultado obtido na análise em pH 4,5, em 90 minutos, foi maior que o obtido no meio de dissolução pH 6,8 (93,19% em meio pH 4,5 e 88,62% em meio pH 6,8).

Em uma comparação entre lotes em desenvolvimento pode-se prever que o meio de dissolução em meio HCl 0,1M não será muito adequado por permitir a solubilização imediata do fármaco em qualquer formulação, já que é o pH abaixo de seu pKa, não permitindo possivelmente uma boa discriminação dos perfis de dissolução. Por esta perspectiva, os meios pH 4,5 e 6,8 são mais adequados visto que permitiram uma modulação mais lenta da liberação e maior chance de discriminar diferentes formulações durante o desenvolvimento do produto.

Sendo assim, o meio escolhido para a continuidade do desenvolvimento farmacotécnico foi o meio de dissolução tampão acetato pH 4,5 por apresentar os valores de dissolução mais baixos logo no início da liberação e terminar com os valores mais altos ao final de 90 minutos. Este fato é importante nessa fase de desenvolvimento, a fim de prever o comportamento *in vivo* da formulação desenvolvida.

Este tipo de estudo vem sendo relatado na literatura para outros fármacos, como, por exemplo, cetoconazol que para fins de desenvolvimento de produtos administrados por via oral é necessário a utilização de meio de dissolução com pH em torno de 4,0-5,5, diferente do meio preconizado pelos compêndios farmacêuticos (VIÇOSA, 2003).

5.1.4.2. Perfil de Dissolução por Dispersão

Como o diazepam é um pó aglomerado, foi realizado o ensaio de perfil de dissolução com as matérias-primas em estado original e após tamisação com tamis de 35 Mesh (500 μ m), visando à dispersão do pó e a diminuição da aglomeração. Os resultados de perfil de dissolução dos três lotes de diazepam tamisados e não tamisados estão representados na Figura 24 e os valores mostrados na Tabela 19 como a média dos resultados obtidos nas seis cubas do dissolutor.

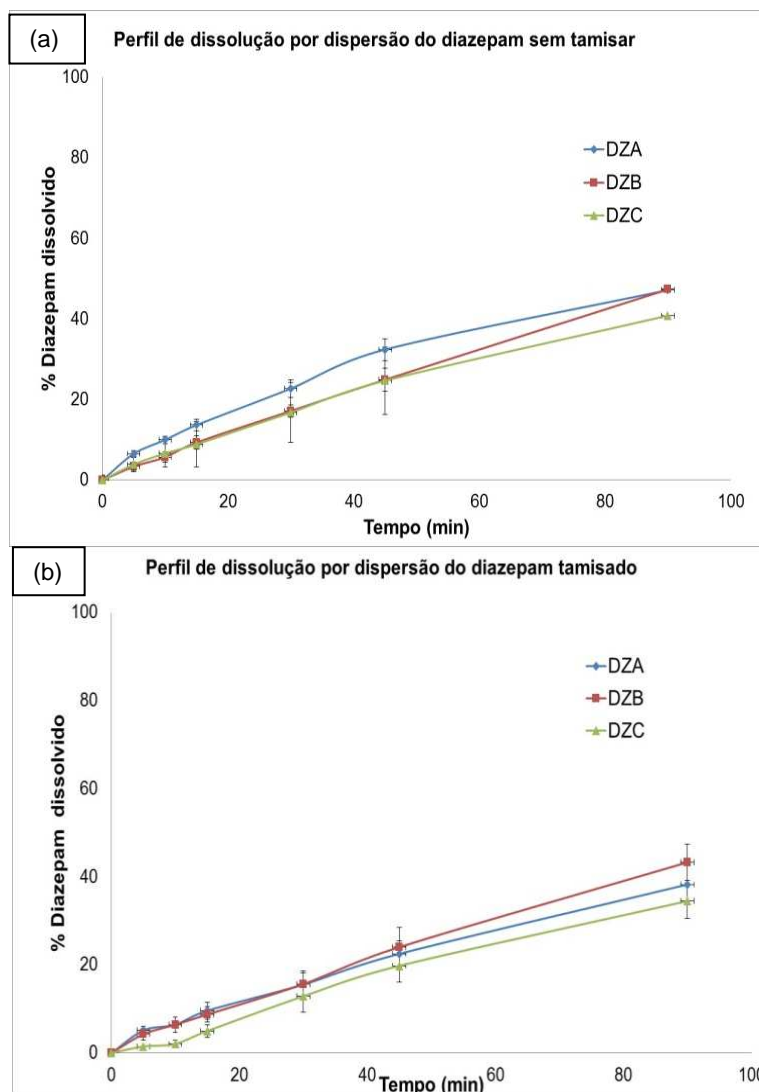


Figura 24 – Perfil de dissolução, em meio de dissolução tampão acetato pH4,5, por dispersão dos três lotes de diazepam analisados (a) sem tamisação prévia; (b) com tamisação prévia do pó.

Tabela 19 – Porcentagem de dissolução dos três lotes do diazepam

Tempo (min)	Amostra sem tamisar			Amostra tamisada em malha 35 Mesh		
	DZA	DZB	DZC	DZA	DZB	DZC
0	0	0	0	0	0	0
5	6,57	3,39	3,91	5,12	4,26	1,48
10	10,01	5,73	6,66	6,44	6,43	2,05
15	13,69	9,36	8,92	9,61	8,75	4,99
30	22,75	17,19	16,81	15,54	15,64	12,88
45	32,43	24,94	24,72	22,51	24,04	19,80
90	47,20	47,36	40,85	38,26	43,29	34,51

A figura 24a mostra que o perfil de dissolução por dispersão das matérias-primas sem tamisação apresentou resultados diferentes quando comparados à figura 24b. Apesar de a tamisação ter sido utilizada para promover a desaglomeração das partículas de diazepam, os perfis de dissolução dos três lotes sem tamisar apresentaram porcentagens de diazepam dissolvido, após 90 minutos, maiores que os perfis obtidos com as matérias-primas previamente tamisadas, conforme descrito na Tabela 19.

Além disso, pode ser observado que o lote DZB apresentou taxas de dissolução maiores que as observadas nos lotes DZA e DZC, o que pode estar relacionado ao menor tamanho de partícula observado dessa amostra (DZB), uma vez que existe uma relação inversa entre tamanho de partícula e taxa de dissolução de um fármaco.

A análise estatística dos dados feitos por ANOVA One-Way, considerando $p \leq 0,05$ indicou, porém, que não há diferença significativa intragrupo, ou seja, entre as amostras do mesmo grupo (tamisado e não tamisado). Em relação à comparação intergrupos, a amostra DZA tamisada e não tamisada apresentou diferença significativa, considerando $p \leq 0,05$. As amostras tamisadas e não tamisadas dos lotes DZB e DZC não apresentaram diferenças significativas.

Com isso, foi observado que o perfil de dissolução é influenciado pelo processo de tamisação. Porém, o resultado esperado seria um perfil de dissolução melhor das matérias-primas tamisadas, uma vez que este processo pode reduzir o tamanho das partículas, aumentando a superfície de contato e melhorando a dissolução (JINNO *et al.*, 2006), o que não é o observado nessas análises. Uma hipótese é que possivelmente o material torna-se tão finamente dividido que ainda

no estado de substância pura sua solubilização é dificultada para o tempo de análise utilizado.

Com a experiência da avaliação dos meios de dissolução com o medicamento referência Valium (Figura 23) pode-se observar o grande desafio para incrementar a dissolução deste fármaco a partir da formulação a ser re-desenvolvida. Espera-se um incremento de mais de 40% na dissolução do fármaco uma vez formulado.

5.1.5. Análise de Densidade Aparente e Batida

A Figura 25 apresenta os resultados obtidos na análise de densidade aparente e batida dos três lotes de diazepam analisados (DZA, DZB e DZC).

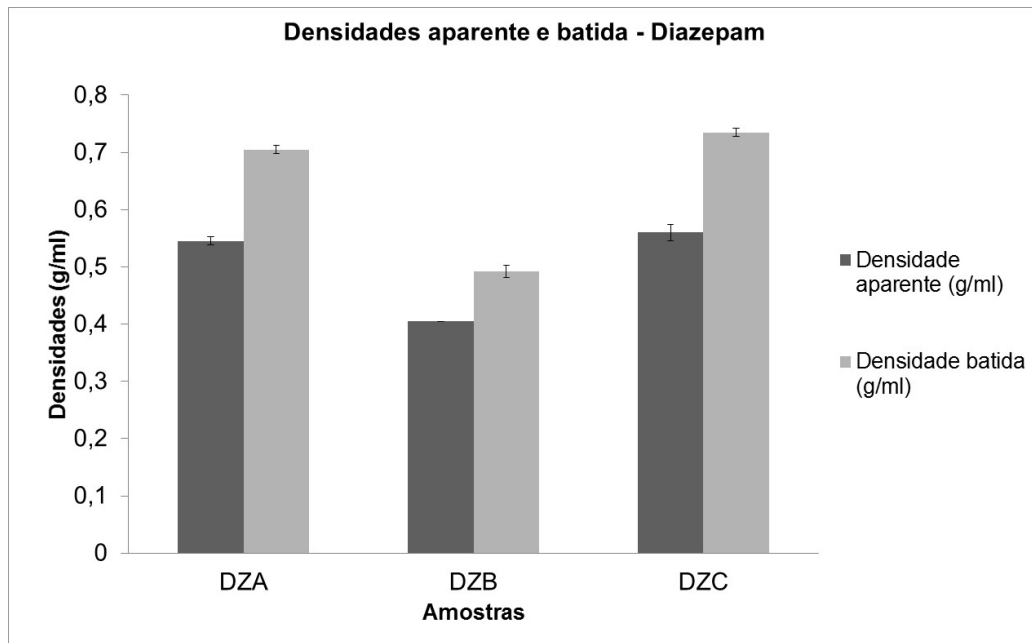


Figura 25 – Análise de densidade dos três lotes de diazepam

De acordo com a Figura 25, pode-se observar que as amostras DZA e DZC apresentaram uma densidade aparente e batida maior do que a amostra DZB. As amostras DZA e DZC não apresentam diferença estatisticamente significativa, porém ambas apresentam diferença estatística quando comparadas com a amostra DZB (ANOVA One-Way, $p \leq 0,05$). A amostra DZB apresentou uma menor densidade aparente que pode ser explicada pelo maior volume ocupado pelo pó, sugerindo que este pó seja mais fino (CASTRO *et al.*, 2003) quando comparado com as amostras

DZA e DZC. Porém, a amostra DZB, por ser mais fina, tem a tendência a se compactar (densidade batida menor) (NERY *et al.*, 2008). Este resultado pode ser confirmado com a análise granulométrica realizada por tamisação que sugeriu a classificação do pó DZB como fino.

A partir dos resultados obtidos foi realizado o cálculo do Índice de Hausner e Índice de Carr (Compressibilidade) para avaliação mais detalhada do fluxo do material. A Tabela 20 mostra os resultados do cálculo destes índices.

Tabela 20 – Índice de Carr e Índice de Hausner das matérias-primas.

Amostra	Índice de Hausner (IH)	Índice de Carr (compressibilidade) (IC)	Classificação do fluxo do pó (segundo Tabela 5)
DZA	1,30	22,69	Aceitável
DZB	1,22	17,85	Favorável
DZC	1,32	23,81	Aceitável

A classificação do fluxo das matérias-primas analisadas sugere que as amostras DZA e DZC apresentam um fluxo pior, entretanto aceitável, em relação a amostra DZB. Esta, apesar de ser um pó mais fino e com tendência a compactação, apresenta um fluxo considerado favorável. O fluxo considerado favorável apresenta um melhor escoamento do material facilitando sua utilização durante as etapas do processo produtivo da formulação.

5.1.6. Análise de Fluxo

A análise de fluxo foi realizada pelo teste de escoamento do pó e pelo cálculo do ângulo de repouso. O teste de escoamento de pó foi realizado nas condições mais extremas que o aparelho fornece (Funil de 200mL; velocidade de agitação nível 4 e abertura do funil de 25mm). Para este teste ser considerado válido é necessário que o resultado das análises realizadas em triplicata seja uma média e que não fique nenhuma quantidade de pó no funil. O resultado do ensaio de escoamento do pó está mostrado na Figura 26.



Figura 26 – Imagem após o teste de escoamento do pó de uma das três amostras de matéria-prima diazepam (Fonte: próprio autor).

Conforme Figura 26, o teste de escoamento do diazepam não cumpriu os requisitos para o teste ser considerado válido, já que as três amostras apresentaram mais da metade do pó aderido ao funil, não escoando para a balança. Com a variação de escoamento do material, não foi possível a obtenção de um valor médio das triplicatas dos ensaios, obtendo-se uma faixa. Com isso, os resultados de escoamento de fluxo do diazepam das amostras analisadas não foram satisfatórios.

A Figura 27 apresenta os resultados obtidos para o ensaio de ângulo de repouso que foi realizado no mesmo equipamento que o ensaio de escoamento de pó.

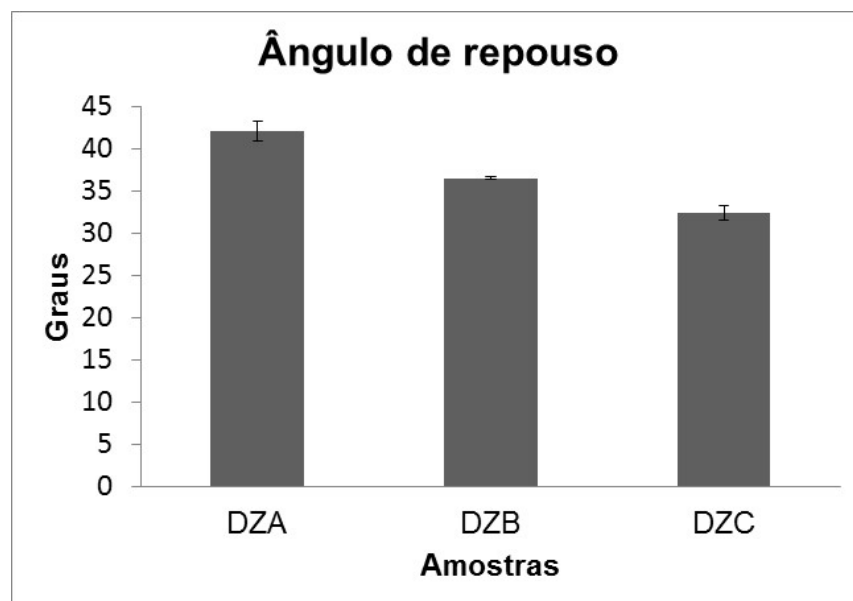


Figura 27 – Análise de ângulo de repouso dos lotes de diazepam.

A amostra DZC apresentou um ângulo de repouso menor que os ângulos observados nas amostras DZA e DZB, o que sugere que esta amostra apresente um fluxo melhor do que as demais, já que quanto menor o ângulo de repouso, melhor o fluxo do material (USP, 2012b).

Após a realização do ensaio de ângulo de repouso, os valores obtidos da média dos experimentos foram correlacionados com a classificação de fluxo e a comparação está mostrada na Tabela 21. Essa classificação de fluxo realizada pelo ângulo de repouso foi comparada com a classificação obtida pelo cálculo dos índices de Carr e de Hausner.

Tabela 21 – Classificação do fluxo das amostras de diazepam baseado nos resultados do ângulo de repouso.

<i>Amostra</i>	<i>Ângulo de repouso</i>	<i>Classificação (segundo Tabela 5)</i>
DZA	42,15 ± 1,20	Aceitável
DZB	36,60 ± 0,14	Favorável
DZC	32,45 ± 0,92	Bom

De acordo com os resultados obtidos, pode-se relacionar a classificação de fluxo das amostras analisadas. As amostras DZA e DZB apresentam a classificação de fluxo esperada (DZA – fluxo aceitável, DZB – favorável) entre os resultados de ângulo de repouso e dos cálculos dos Índices de Carr e de Hausner.

Entretanto, a amostra DZC apresentou resultados diferentes da classificação. Em relação à classificação obtida pelos cálculos dos índices, esta amostra (DZC) apresentou fluxo aceitável e segundo classificação por ângulo de repouso, o fluxo foi classificado como bom. Isto pode estar relacionado com a distribuição de tamanho de partícula dessa amostra, que é grande, quando comparada as demais.

5.1.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 28 apresenta os termogramas de calorimetria exploratória diferencial dos três lotes de diazepam analisados.

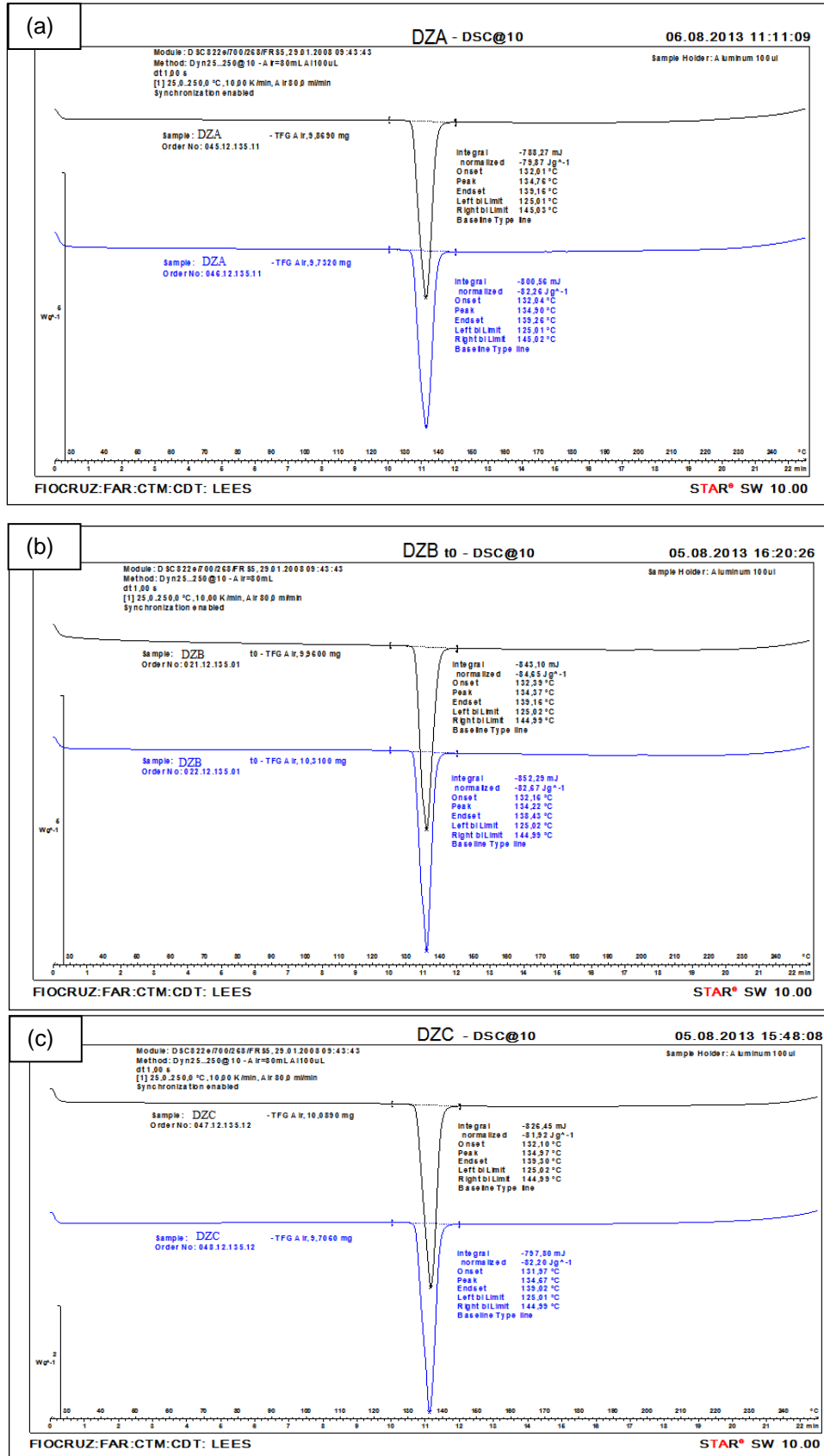


Figura 28- Imagens das curvas de calorimetria exploratória diferencial dos três lotes de diazepam analisados e suas respectivas duplicatas (a) DZA, (b) DZB e (c) DZC.

De acordo com a Figura 28, os picos representam os eventos de fusão do diazepam. Estes eventos ocorreram em torno de 134°C. Os picos de fusão são eventos endotérmicos e por isso se apresentam como picos para baixo. Os resultados obtidos das amostras analisadas sugerem que não houve cristalização ou degradação do material, visto que não foi observado eventos exotérmicos com picos para cima (BERNAL *et al.*, 2002). As três amostras analisadas de diazepam apresentaram picos simétricos e bem definidos. Isto sugere uma transição à temperatura constante, indicando que o processo de fusão ocorreu perto do equilíbrio termodinâmico. Além disso, a linha base não sofreu interferência, o que sugere que a capacidade térmica das amostras se manteve durante toda a análise (MOREIRA *et al.*, 2010).

Abdelbary & Fahmy (2009) obtiveram uma curva de DSC do diazepam com pico de fusão após 120°C, confirmando que as amostras analisadas eram diazepam. Uma forma de calcular a pureza de uma substância por DSC é através da equação de Van'tHoff; porém pode-se supor a pureza de uma substância analisada por DSC de forma visual através da verificação de outros picos de fusão na curva, deslocamento do pico de fusão para temperaturas mais baixas ou pela largura do pico de fusão (OLIVEIRA, YOSHIDA & LIMA GOMES, 2011). A ausência de outros picos, assim como a manutenção do pico de fusão estreito, permite a conclusão de ausência de impurezas nos três lotes analisados.

Choudhari & Sanghavi (1993) obtiveram uma curva de DSC semelhante às observadas em outros artigos da literatura e com ponto de fusão em torno de 130°C. Já Soltanpour e colaboradores (2013) relataram que o ponto de fusão do diazepam varia entre 131,5-134,5°C, corroborando com os resultados da Figura 28.

5.1.8. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica consiste em analisar a perda de massa da amostra durante o aquecimento. A Figura 29 apresenta os resultados da análise de termogravimetria dos três lotes de diazepam.

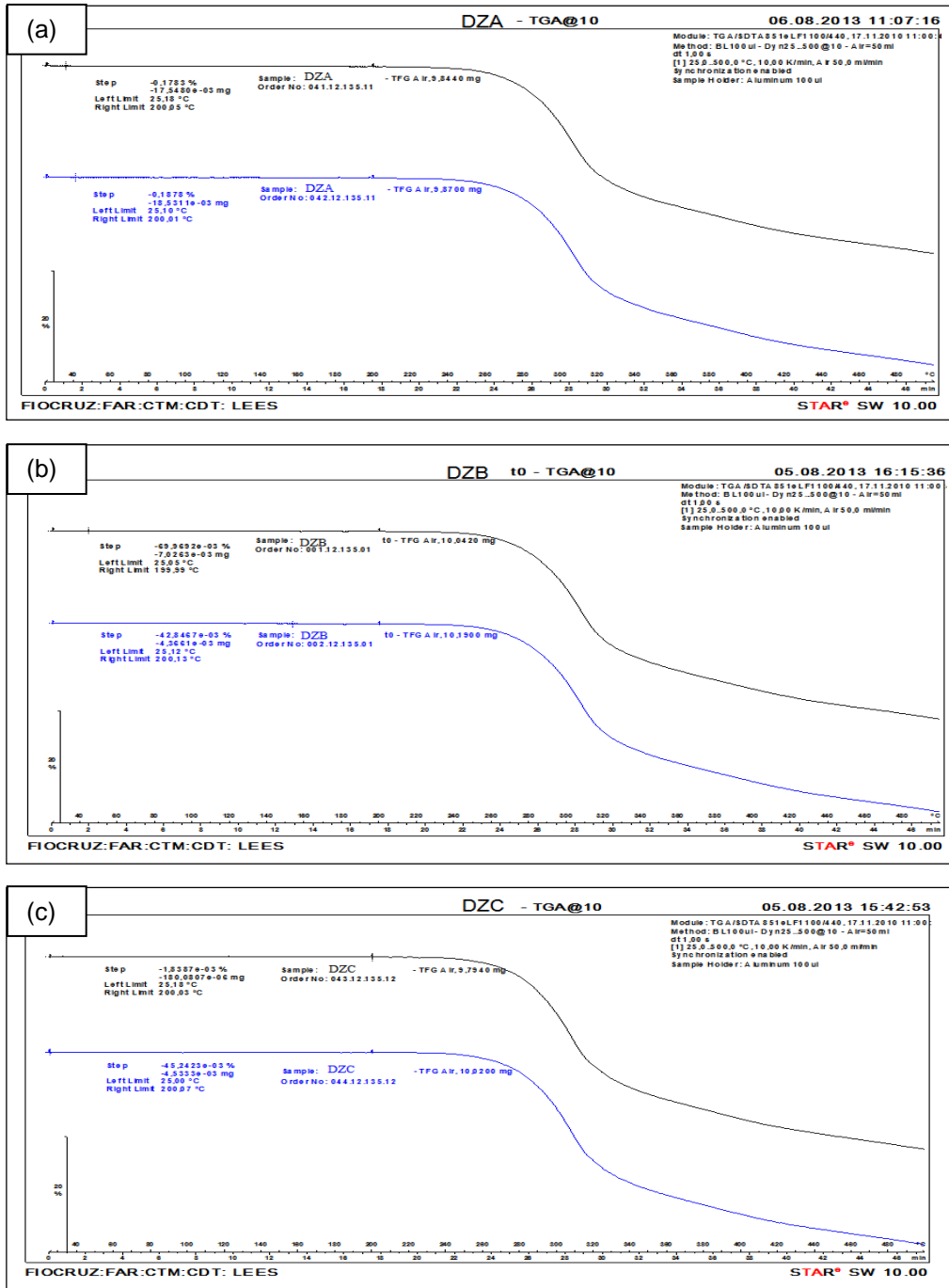


Figura 29 - Imagens das curvas de termogravimetria dos três lotes de diazepam analisados e suas respectivas duplicatas (a) DZA, (b) DZB e (c) DZC.

Os resultados demonstraram que as três amostras de diazepam apresentaram perda de massa a partir de 240°C. Estas perdas acontecem até 320°C nas amostras analisadas. Como não houve presença de outra perda de massa nas curvas, pode ser sugerido que as amostras estavam puras, corroborando com as

observações feitas por DSC para as mesmas amostras.

Zayed, Fahmey & Hawash (2005) analisaram termicamente o diazepam e a curva de TGA obtida registrando perda de massa entre 270 - 320°C. Com isso, os resultados obtidos estão de acordo com o descrito na literatura.

5.1.9. Difração de Raio-X de Pó (DRXP)

A Figura 30 apresenta os resultados da análise de difração de raio x de pó das amostras DZA, DZB e DZC.

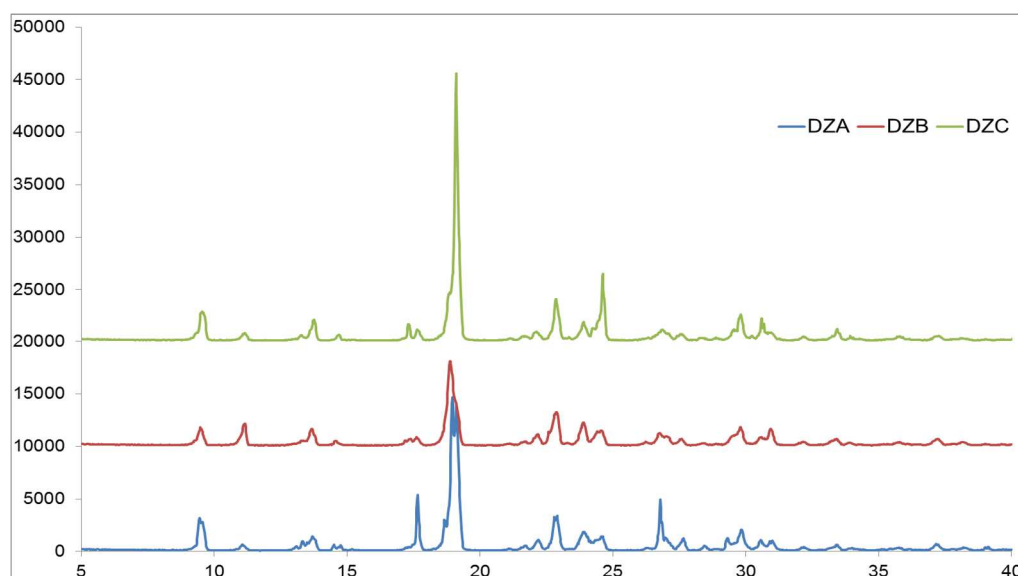


Figura 30 – Resultado da análise de DRXP dos lotes de diazepam.

Os resultados encontrados demonstraram que as três amostras analisadas apresentaram o mesmo perfil de difratograma, comprovando a identidade do diazepam. Além disso, a presença de picos no difratograma indicou que as amostras apresentaram estrutura cristalina, visto que o difratograma de uma substância amorfa não apresenta picos. A cristalinidade do diazepam pode ser confirmada com a microscopia eletrônica de varredura, que foi realizada anteriormente a este teste (Figura 20), assim como os resultados do DSC.

Verheyen e colaboradores (2002) analisaram dispersões sólidas de diazepam e temazepam em polietilenoglicol 6000. Neste estudo, eles obtiveram um resultado de DRXP do diazepam puro. Este resultado é similar aos resultados encontrados na

análise mostrada na Figura 30 confirmando que as amostras analisadas eram diazepam, como evidenciado pela análise térmica.

O mesmo perfil de difratograma do diazepam também pode ser observado no estudo realizado por Choudhari & Sanghavi (1993), ratificando novamente a cristalinidade do diazepam. Em conjunto com os resultados obtidos por análise térmica foi possível ainda verificar ausência de polimorfismo neste material, como descrito na literatura. Chieng, Rades & Aaltonen (2011) fizeram um levantamento de casos de polimorfismo descritos na literatura e o diazepam não está presente na listagem dos fármacos com polimorfos.

5.1.10. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 31 apresenta os espectros de infravermelho obtidos das três amostras de diazepam.

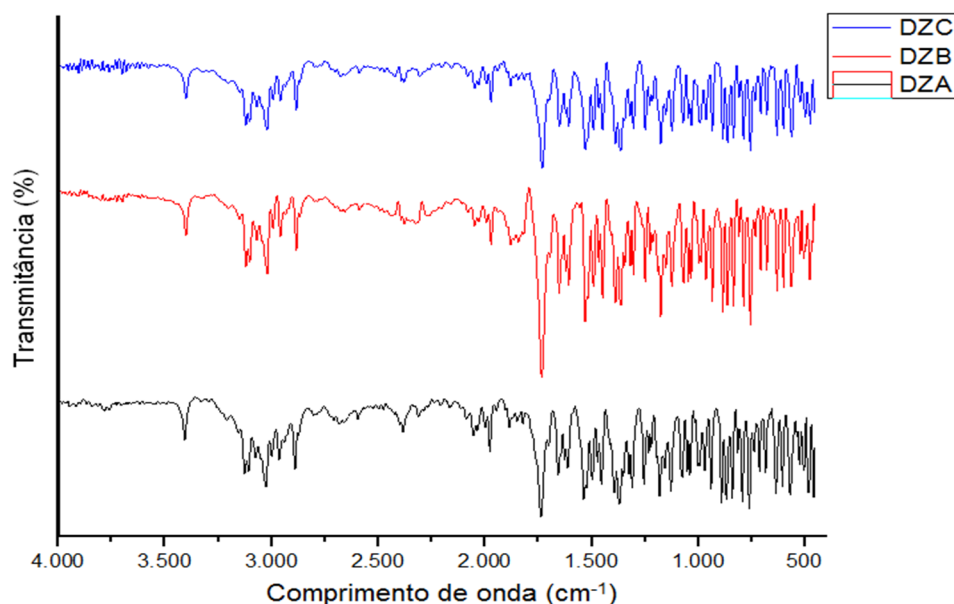


Figura 31 – Espectroscopia de infravermelho das amostras DZA, DZB e DZC.

De acordo com os resultados da Figura 31, pode-se observar que as amostras apresentam espectros semelhantes com um pico intenso em um comprimento de onda em torno de 1685. Este pico pode estar relacionado às ligações C=O de amida e as ligações duplas C=C e C=N que estão presentes na

molécula do diazepam. Noh e colaboradores (2009) analisaram o diazepam por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e encontraram um pico em 1683 cm^{-1} referente à ligação C=N presente na molécula do diazepam. Moros, Garrigues & de La Guardia (2007) utilizaram a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier no controle de qualidade de produtos contendo diazepam. Nesse estudo, eles obtiveram espectros de diazepam por absorvância, mas observaram um pico característico de diazepam entre 1682 e 1672. Isto pode confirmar que as amostras analisadas acima eram diazepam, corroborando com os resultados obtidos na análise térmica e na análise de difração de raio-X de pó.

5.1.11. Ensaio de Molhabilidade

Para análise da molhabilidade do diazepam, foi realizado um teste de *screening* inicial com o lote DZB por ser este lote de maior quantitativo disponível. Foram testadas soluções variando, de maneira decrescente, a tensão superficial em intervalos de 5dynes/cm (60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25), seguindo procedimento proposto por Stevens & Gypen (1974) descrito no item 4.1.11. A Figura 32 apresenta os resultados encontrados pelo *screening* inicial.

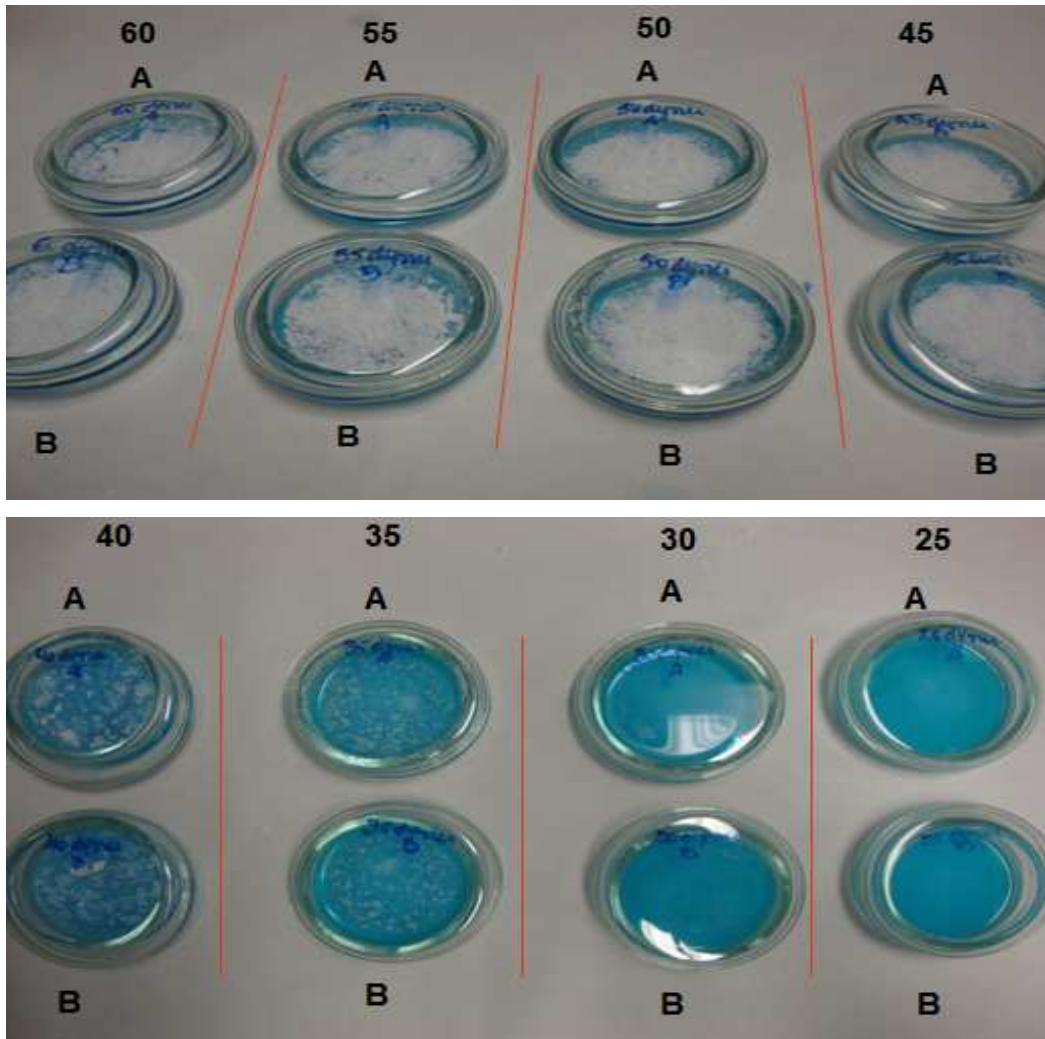


Figura 32 – Imagens do *screening* inicial realizado com a amostra DZB. As amostras foram analisadas em duplicata chamadas de A e B (Fonte: próprio autor).

De acordo com o *screening* inicial foi observado que a amostra DZB foi totalmente e parcialmente molhada nas soluções com tensão superficial de 25 dynes e 30 dynes/cm (a imagem não permite a visualização, mas ainda era possível visualização de pequenos grumos na superfície), respectivamente. A Tabela 22 apresenta os resultados encontrados, segundo a nomenclatura de molhabilidade apresentada na Tabela 6, na qual a molhabilidade é quantificada por cruzes, onde (+) indica molhabilidade total; (+/-) indica a molhabilidade parcial (uma parte do pó fica na superfície sem absorver a solução que é levemente azul) e (-) indica ausência de molhabilidade.

Tabela 22 – Resultados obtidos do *screening* inicial do estudo de molhabilidade do diazepam.

Amostra	Tensão superficial (dynes/cm)							
	60	55	50	45	40	35	30	25
DZB	-	-	-	-	-	-	+/-	+

Com esses resultados foi determinada a faixa de tensão superficial para o *screening* final da análise de molhabilidade. Nesta etapa, as soluções foram preparadas variando 1dyne/cm entre 30 e 25 dynes/cm, sendo avaliados os três lotes de diazepam. Como todas as amostras foram totalmente molhadas nas soluções de 25, 26 e 27 dynes/cm, a Figura 33 apresenta somente o ensaio de molhabilidade das três amostras nas soluções de 28, 29 e 30 dynes/cm.

Foi verificado que as amostras DZA e DZC foram totalmente molhadas nas três soluções preparadas. Porém, a amostra DZB apresentou molhabilidade parcial na solução de 30 dynes/cm (a imagem não permite a visualização, mas ainda era possível visualização de pequenos grumos na superfície), sugerindo que o número de molhagem dessa amostra seja 29 dynes/cm. Esta observação visual pode ser transformada nos resultados observados na Tabela 23.

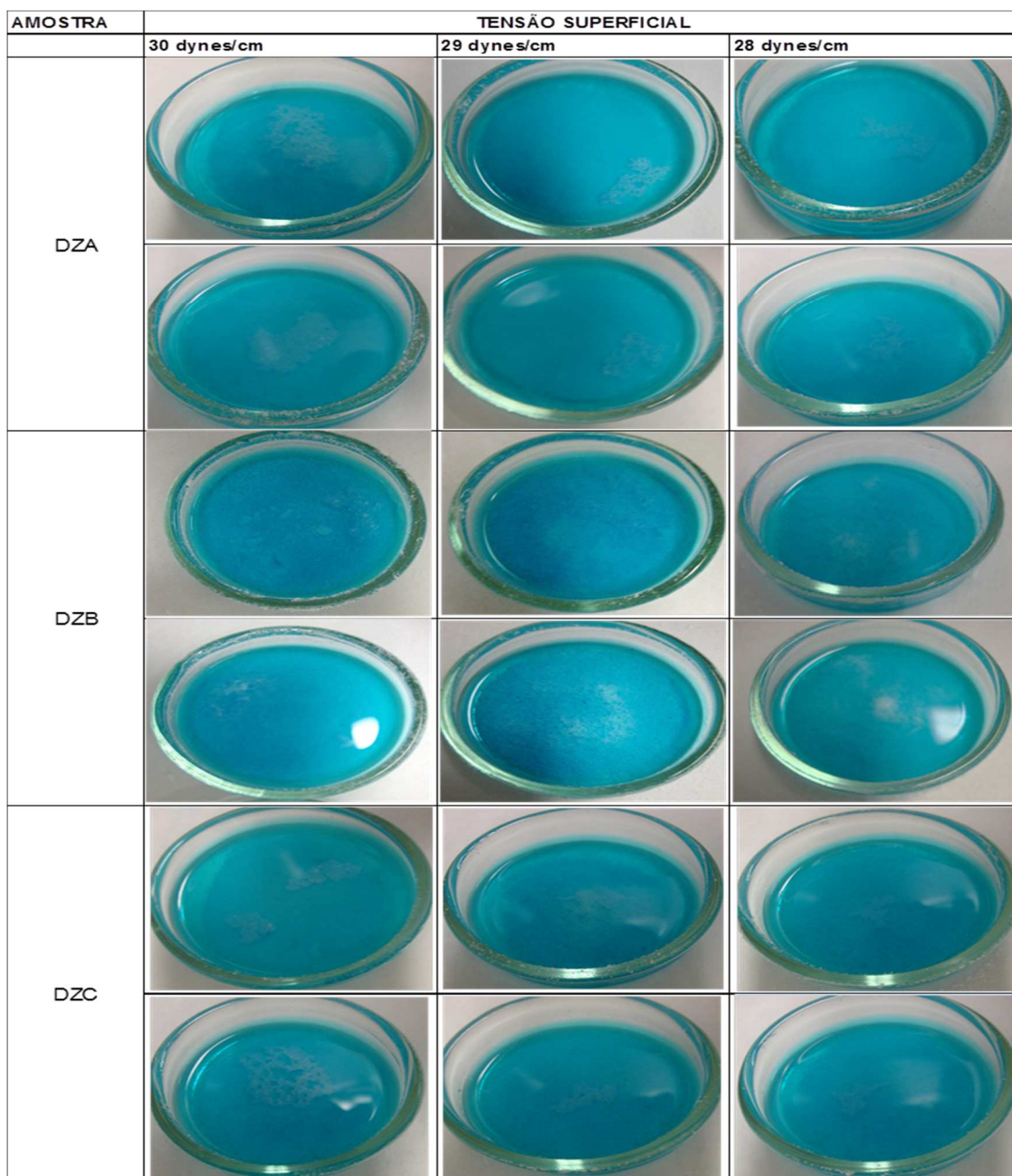


Figura 33 – Imagem do *screening* final das três amostras de diazepam (Fonte: próprio autor).

Tabela 23 – Resultados do *screening* final do ensaio de molhabilidade do diazepam.

Amostra	Tensão superficial (dynes/cm)		
	30	29	28
DZA	+	+	+
DZB	+/-	+	+
DZC	+	+	+

Para conseguir encontrar o número de molhagem das outras duas amostras, foram preparadas novas soluções com tensão superficial de 30 dynes/cm e variando de 1dyne cada solução. A Figura 34 apresenta o *screening* final de DZA e DZC analisados nas soluções de 31, 32, 33, 34 e 35 dynes/cm.

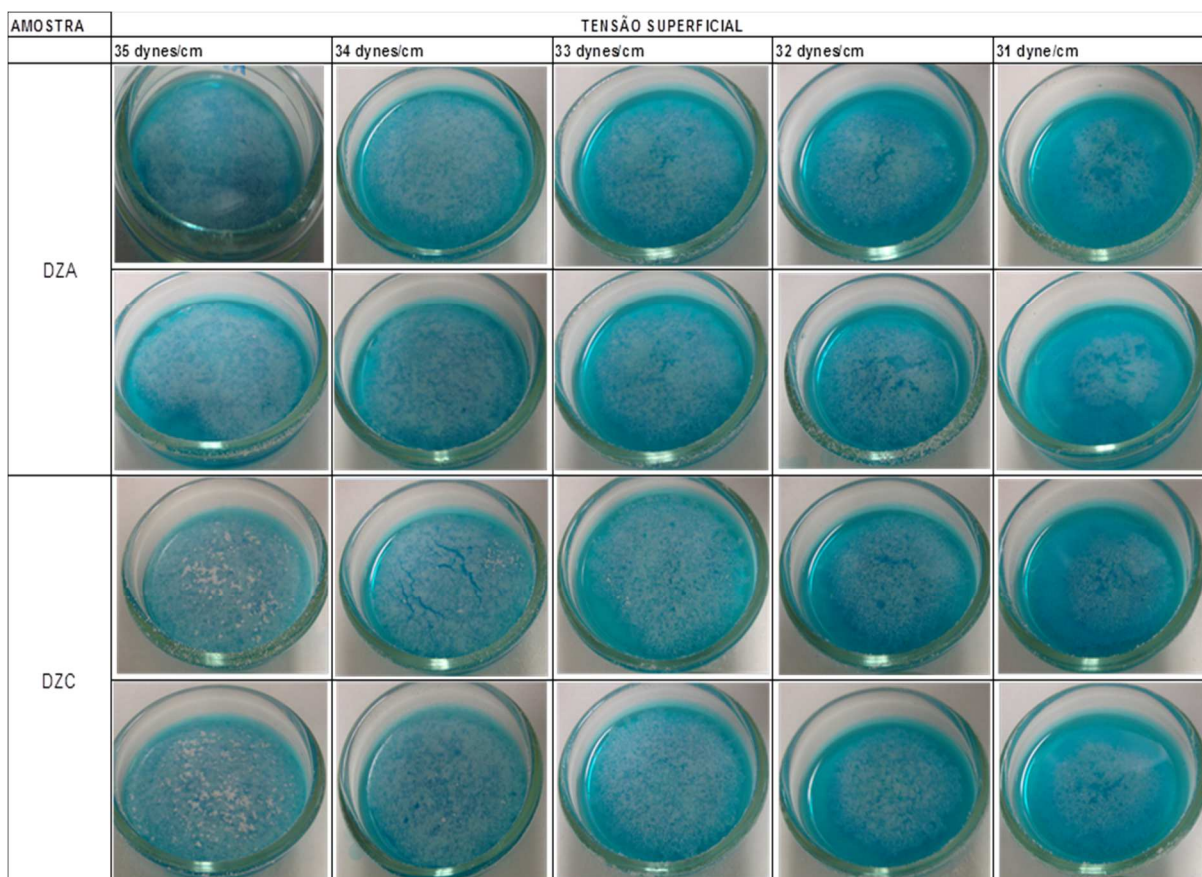


Figura 34 – Imagem do *screening* final do ensaio de molhabilidade das amostras DZA e DZC (Fonte: próprio autor).

De acordo com os resultados da Figura 34, a amostra DZC apresentou número de molhagem de 33 dynes/cm, uma vez que a mesma foi parcialmente molhada nas soluções de 34 e 35 dynes/cm, considerando os “pontos brancos” na superfície da solução. A amostra DZA apresentou um número de molhagem igual ao da amostra DZC, 33 dynes/cm, porém os “pontos brancos” presentes nas soluções de 34 e 35 dynes/cm não ficaram muito evidentes nas imagens registradas, sendo observados somente no momento do experimento. A Tabela 24 resume os resultados obtidos na Figura 34, seguindo nomenclatura descrita na Tabela 6.

Tabela 24 – Resultados obtidos no *screening* final do ensaio de molhabilidade das amostras DZA e DZC.

Amostra	Tensão superficial (dynes/cm)				
	35	34	33	32	31
DZA	+/-	+/-	+	+	+
DZC	+/-	+/-	+	+	+

A Tabela 25 apresenta os resultados do estudo de molhabilidade das três amostras de diazepam. Além disso, o número de molhagem final foi expresso em valores reais de tensão superficial obtidos pelo tensiômetro.

Tabela 25 – Número de molhagem dos três lotes de diazepam.

Amostra	Número de molhagem	Número de molhagem
	teórico	real
DZA	33 dynes/cm	34,2 ± 0,018 dynes/cm
DZB	29 dynes/cm	29,7 ± 0,001 dynes/cm
DZC	33 dynes/cm	34,2 ± 0,018 dynes/cm

De acordo com os resultados da Tabela 25, foi concluído que a amostra DZB apresentou um número de molhagem menor (29,7 dynes/cm), com diferença estatisticamente significativa em relação aos resultados encontrados para as amostras DZA e DZC, ambos com 34,2 dynes/cm.

Apesar da pequena diferença no número de molhagem da amostra DZB, as três amostras apresentaram um número de molhagem considerado baixo (STEVENS & GYPEN, 1974). Este resultado foi compatível com de outros autores, os quais relataram a baixa solubilidade do diazepam (VERHEYEN *et al.*, 2002; ABED *et al.*, 2010).

Cabe ressaltar que este ensaio é bastante trabalhoso e com um referencial teórico bem antigo, porém ainda vem sendo utilizado por alguns grupos de pesquisa na falta de disponibilidade do equipamento instrumentado para este tipo de avaliação, tornando-se uma análise interessante a qual permitiu evidenciar a baixa solubilidade do diazepam.

Dias (2009) realizou um estudo da molhabilidade da rifampicina utilizando este mesmo método e observou a relação dos resultados obtidos no ensaio de molhabilidade (rifampicina apresentou baixa molhabilidade) com os resultados de perfil de dissolução do fármaco.

Conforme relatado, um dos maiores desafios farmacotécnicos é o desenvolvimento de formulações contendo fármacos de baixa solubilidade em água e conseqüente baixa molhabilidade.

5.1.12. Ensaio de Compressibilidade

O ensaio de compressibilidade do fármaco foi realizado como último ensaio de caracterização da matéria-prima. A Figura 35 apresenta os resultados obtidos nesse ensaio, nas três condições descritas na Tabela 10.

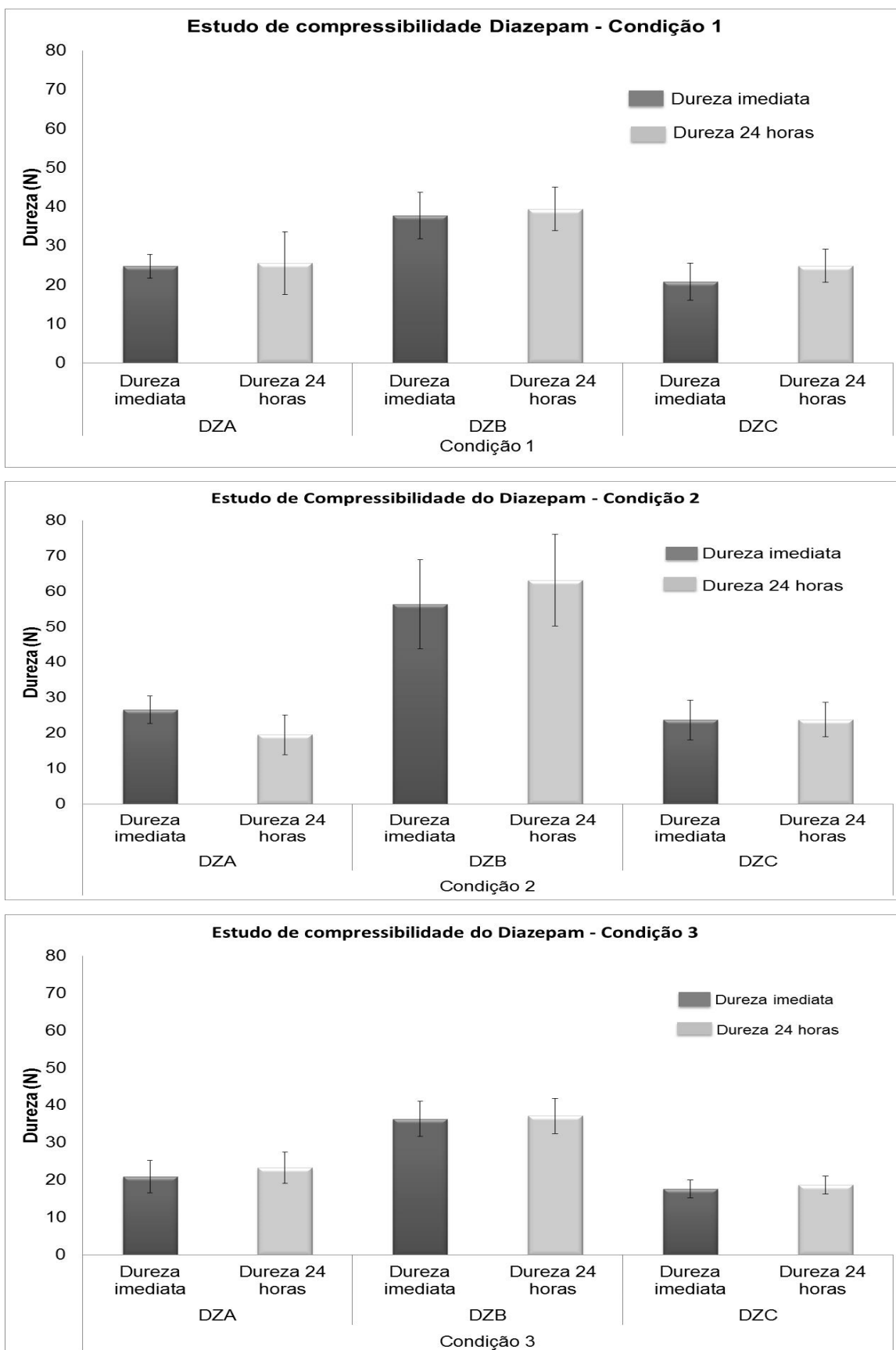


Figura 35 – Resultados do estudo de compressibilidade do diazepam.

De acordo com os resultados de compressibilidade mostrados na Figura 35, foi verificado que a dureza média encontrada nos comprimidos formados, dos três lotes de diazepam e nas três condições analisadas, logo após a compressão, permaneceu praticamente constante após 24 horas da compressão. Isto sugere que o diazepam apresenta um comportamento plástico, já que os comprimidos se apresentaram íntegros após 24 horas (dados não mostrados).

Além disso, segundo protocolo de compressibilidade, a resistência ao esmagamento se apresentou na ordem de condição 2>1>3, o que também caracteriza a matéria-prima com comportamento plástico (Aulton, 2005).

A amostra DZB apresentou os melhores resultados de compressibilidade, visto que apresentou maiores valores de dureza dos comprimidos analisados. Este dado pode ser confirmado com os resultados obtidos na análise de densidade aparente e batida (Figura 25) e na distribuição granulométrica (Figuras 21 e 22), uma vez que esta amostra apresentou menor tamanho médio de partículas e índices de Carr e Hausner menores (Tabela 20).

Como a amostra DZB apresentou os resultados de caracterização mais adequados, esta foi selecionada para a continuidade dos estudos de diazepam, sendo utilizada como matéria-prima para o estudo de compatibilidade fármaco-excipiente e para o desenvolvimento dos lotes experimentais e pilotos do produto diazepam 10mg comprimidos de liberação imediata.

5.1.13. Ensaio de solubilidade

O ensaio de solubilidade do diazepam foi realizado, primeiramente, em água para avaliação da solubilidade química. Para obtenção da solubilidade foi preparada a curva de calibração do diazepam em água no espectrofotômetro de UV, como descrito em no item 4.1.13 do material e métodos.

A partir da solução concentrada de diazepam padrão primário USP, foram feitas diferentes diluições, como descrito na Tabela 26.

Tabela 26 – Pontos da curva de calibração do diazepam padrão primário USP em água.

Pontos	Volume de alíquota de solução mãe (mL)	Volume final de solução (mL)	Concentração final de diazepam (mg/mL)
1	5	50	0,011
2	10	50	0,022
3	15	50	0,033
4	20	50	0,044
5	25	50	0,055
6	30	50	0,066

A Figura 36 apresenta a curva de calibração da solubilidade do diazepam padrão primário em água obtida em espectrofotômetro de UV com a equação da reta e coeficiente de correlação (r^2) baseado na média de três leituras de cada ponto.

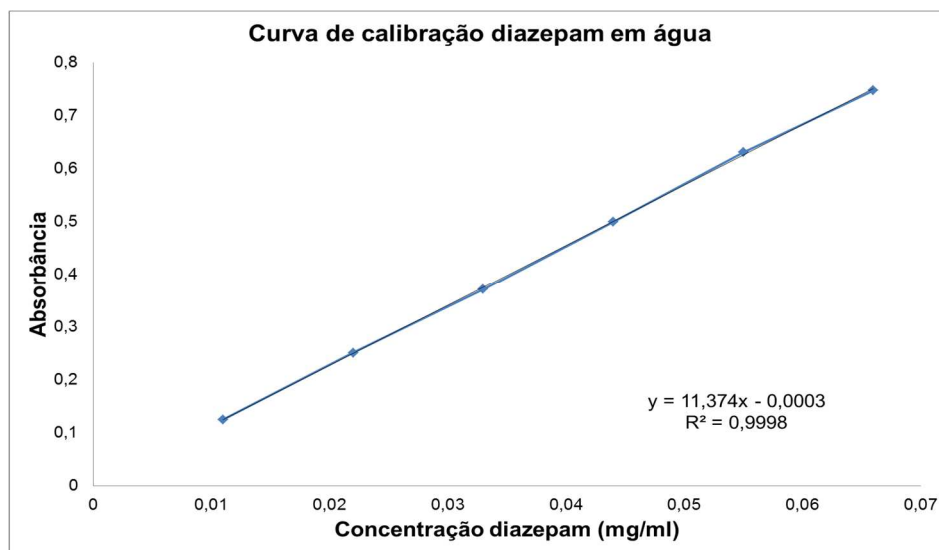


Figura 36 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em água.

O ensaio de solubilidade foi realizado com o lote da matéria-prima diazepam DZB que apresentou os resultados do estudo de pré-formulação mais adequados para o desenvolvimento farmacotécnico do produto diazepam 10mg comprimidos. A Tabela 27 apresenta os resultados de absorbância e a concentração de diazepam obtido após 24 horas do ensaio de solubilidade em água de cada amostra.

Tabela 27 – Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em água após 24 horas de ensaio.

<i>Amostra</i>	<i>Média de absorvância de três leituras obtidas em 284 nm</i>	<i>Solubilidade do diazepam em água (mg/mL)</i>
DZP1	0,37306±0,0003	0,0656
DZP2	0,37010±0,0003	0,0650
DZP3	0,37448±0,0004	0,0658

A solubilidade do diazepam encontrada no ensaio de solubilidade em água à temperatura de 37°C apresentou um valor médio de 0,0655mg/mL ou 65,5mg/L, o que corresponde a um valor semelhante ao descrito na literatura de 65,2mg/L (MITHANI *et al.*, 1996) sob mesma temperatura. Além disso, pode-se observar um aumento da solubilidade do diazepam com o aumento da temperatura, já que a solubilidade deste fármaco em água a temperatura de 25°C é de 50mg/L (CHEMID PLUS, 2011; SILA-ON *et al.*, 2008). Este valor de solubilidade do diazepam em água corrobora com os relatos da literatura sobre a baixa solubilidade deste fármaco.

Para verificar possíveis degradações do fármaco após 24 horas de ensaio, foi realizado um ensaio de cromatografia em camada fina seguindo metodologia descrita na monografia do diazepam da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010e). O resultado mostrou que não houve degradação do diazepam, pois não houve o aparecimento de bandas secundárias na amostra, aparecendo somente uma correlacionada com mesmo Rf (0,42) do padrão de diazepam (Figura 37).

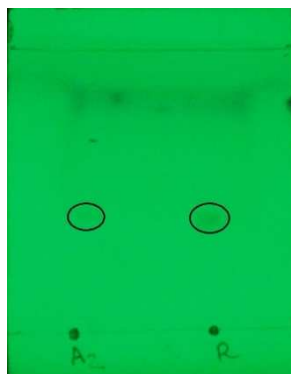


Figura 37 - CCF do diazepam em água ultrapura (A - amostra, R – padrão).

O ensaio de solubilidade em meio tampão fosfato pH 6,8 foi realizado sob as mesmas condições do ensaio do diazepam em água, porém a curva de calibração foi preparada com outros pontos utilizando o diazepam padrão primário USP. As diluições da solução padrão de diazepam em tampão fosfato de potássio pH 6,8 estão mostradas na Tabela 28.

Tabela 28 - Pontos da curva de calibração do diazepam padrão primário USP em tampão fosfato de potássio pH 6,8

Pontos	Volume de alíquota de solução mãe (mL)	Volume final de solução (mL)	Concentração final de diazepam (mg/mL)
1	1	100	0,0011
2	5	200	0,00275
3	5	100	0,0055
4	2	25	0,0088
5	5	50	0,0110

A Figura 38 apresenta a curva de calibração da solubilidade do diazepam em tampão fosfato pH 6,8 obtida em espectrofotômetro de UV. A equação da reta e o coeficiente de correlação (r^2) foram obtidos a partir da média de três leituras de cada ponto.

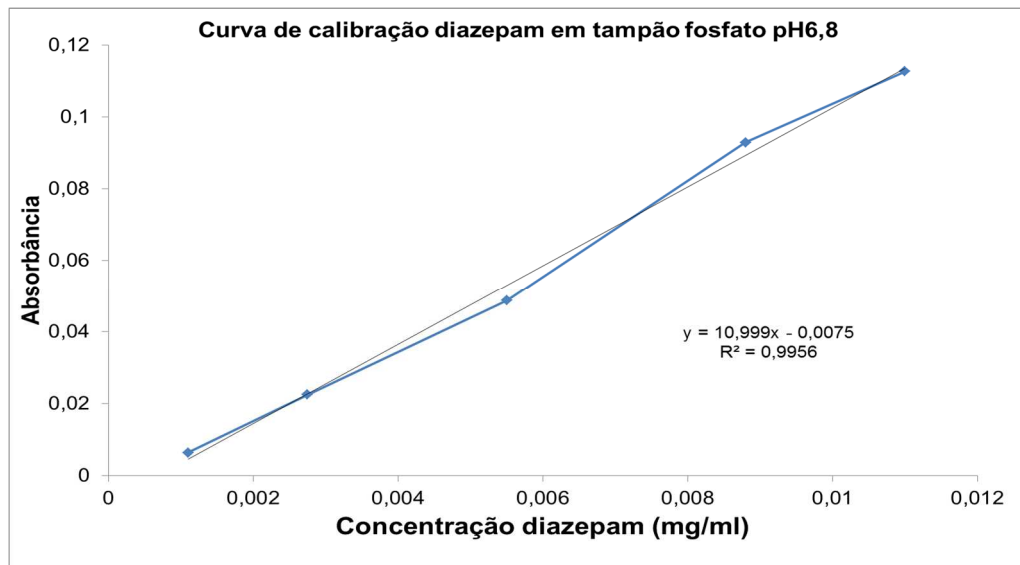


Figura 38 - Curva de calibração da solubilidade do diazepam em tampão fosfato pH 6,8.

A Tabela 29 apresenta os resultados de absorvância e a solubilidade do diazepam (DZB) em meio tampão fosfato pH 6,8 após 24 horas de ensaio.

Tabela 29 - Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em tampão fosfato pH 6,8 após 24 horas de ensaio.

<i>Amostra</i>	<i>Média de absorvância de três leituras obtidas em 284 nm</i>	<i>Solubilidade do diazepam em tampão fosfato pH 6,8(mg/mL)</i>
DZP1	0,34127±0,0003	0,0624
DZP2	0,33875±0,0005	0,0618
DZP3	0,33292±0,0005	0,0606

A solubilidade do diazepam encontrada no ensaio de solubilidade em tampão fosfato pH 6,8, à temperatura de 37°C apresentou um valor médio de 0,0616mg/mL ou 61,6mg/L. Este valor foi um pouco menor que aquele encontrado no ensaio de solubilidade do diazepam em água, indicando uma baixa solubilidade do diazepam neste meio.

Após as 24 horas, foi realizado o ensaio de cromatografia em camada fina (CCF) para verificar degradações do fármaco em pH 6,8. Assim como observado na CCF feita da solubilidade do diazepam em água, não houve aparecimento de bandas secundárias na placa cromatográfica, ou seja, não houve degradação do fármaco nesse meio tampão fosfato pH 6,8 (Figura 39). Além disso, o Rf da amostra foi igual ao Rf do padrão diazepam (0,37).

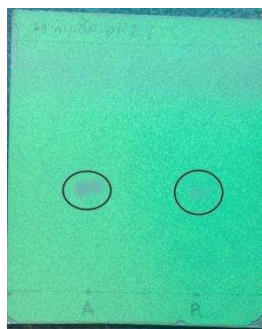


Figura 39 – CCF do diazepam em meio tampão fosfato pH 6,8 (A - amostra, R – padrão).

O ensaio de solubilidade em meio tampão acetato de sódio pH 4,5 foi realizado sob as mesmas condições e com a curva de calibração apresentando os mesmos pontos do ensaio em tampão fosfato pH 6,8. A Figura 40 apresenta a curva de calibração do diazepam em meio tampão pH 4,5.

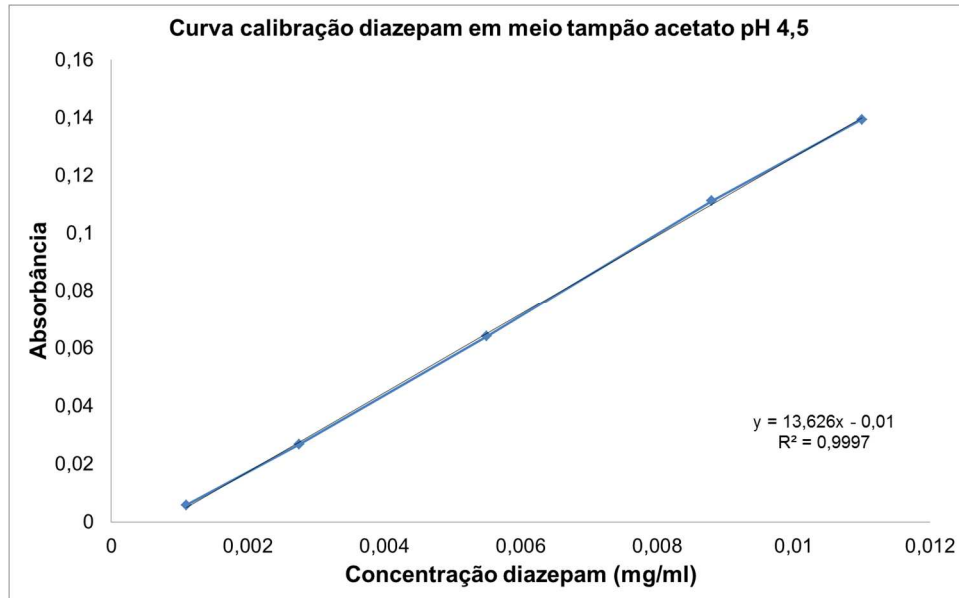


Figura 40 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em tampão acetato pH 4,5.

A Tabela 30 apresenta os resultados de absorbância e a solubilidade do diazepam em meio tampão acetato pH 4,5 após 24 horas de ensaio.

Tabela 30 - Resultados do ensaio de solubilidade do diazepam (amostra DZB) em tampão acetato pH 4,5 após 24 horas de ensaio.

<i>Amostra</i>	<i>Média de absorbância de três leituras obtidas em 284 nm</i>	<i>Solubilidade do diazepam em tampão acetato pH 4,5(mg/mL)</i>
DZP1	0,50932±0,0001	0,0762
DZP2	0,50915±0,0005	0,0762
DZP3	0,51756±0,0004	0,0774

A solubilidade do diazepam encontrada no ensaio de solubilidade em tampão acetato pH 4,5 à temperatura de 37°C apresentou um valor médio de 0,0766mg/mL

ou 76,6mg/L. Este valor representa um aumento de solubilidade do fármaco com a diminuição do pH. Isto pode estar relacionado a melhor estabilidade do fármaco, visto que este é mais estável em pH em torno de 5,0 (CONNORS, AMIDON, STELLA, 1986). Após esse ensaio, foi realizado a CCF para verificar possíveis degradações. Assim como observado no ensaio de solubilidade do diazepam em água e em meio tampão fosfato pH 6,8 não foram identificadas bandas secundárias (Figura 41), o que sugere que não houve degradação do diazepam em meio acetato pH 4,5. Além disso, o Rf da amostra foi igual ao Rf do padrão diazepam (0,46).

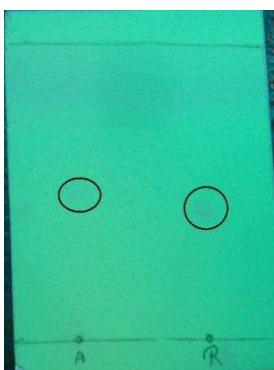


Figura 41 - CCF do diazepam em meio tampão acetato pH 4,5 (A - amostra, R - padrão).

O ensaio de solubilidade em meio HCl 0,1M foi realizado sob as mesmas condições e com a curva de calibração apresentando os mesmos pontos dos ensaios realizados com os tampões. A Figura 42 apresenta a curva de calibração do diazepam em meio HCl 0,1M.

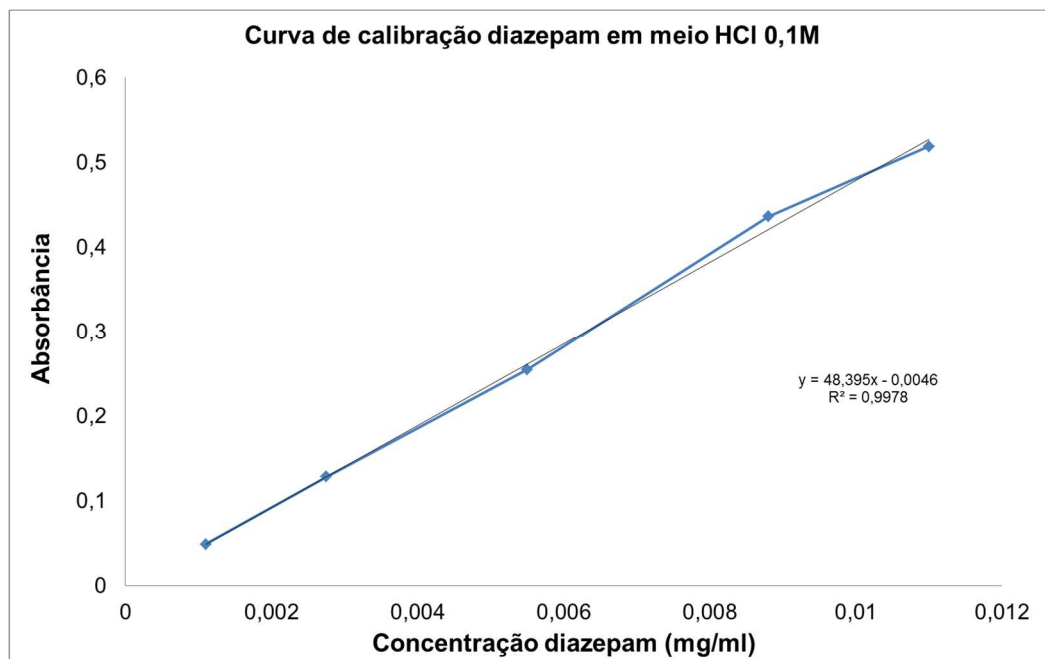


Figura 42 – Curva de calibração da solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M.

A solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M não pode ser quantificada, pois o fármaco degradou logo após a dispersão deste no meio ácido conforme Figura 43. Foi observado visualmente que uma grande parte do sobrenadante observado no início do teste de solubilidade se solubilizou neste meio após o tempo do ensaio o que demonstra possivelmente uma alta solubilidade do fármaco neste meio. No entanto, observa-se mudança da cor do meio de incolor para amarelo após a dispersão do diazepam o que possivelmente indica uma degradação. A degradação do diazepam está relacionada a uma reação reversível de hidrólise ácida que o fármaco sofre à temperatura de 37°C (ABDELBARY & FAHMY, 2009; CONNORS, AMIDON, STELLA, 1986; NAKANO *et al.*, 1979) e em presença de luz, já que este fármaco é fotossensível. Esta reação promove a formação de uma benzofenona (2-metilamino-5-clorobenzofenona), que cora de amarelo o meio reacional (CONNORS, AMIDON, STELLA, 1986), porém não houve aparecimento de manchas secundárias na análise de CCF, não sendo assim possível a confirmação desta degradação, conforme registrado na Figura 44. Este perfil de degradação poderia ser estudado utilizando outras técnicas analíticas, mas que não estão no escopo deste projeto.



Figura 43 – Ensaio de solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M (Fonte: próprio autor).

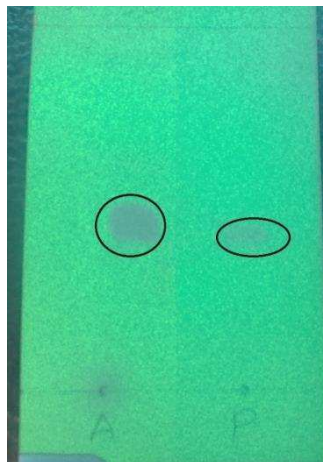


Figura 44 – CCF do diazepam em meio ácido HCl 0,1M (A - amostra, R - padrão).

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios de solubilidade para a verificação da classe biofarmacêutica, foi verificado que o diazepam apresentou um valor de solubilidade de, aproximadamente, 0,062mg/mL em meio tampão fosfato pH 6,8 e de, aproximadamente, 0,077mg/mL em meio tampão acetato pH 4,5. Estes valores são mais altos do que o esperado na correlação de dose mais alta do fármaco (10 mg) solubilizado em 250mL de meio (0,04mg/mL). Por este motivo e com base na possível alta solubilidade do diazepam em meio HCl 0,1M foi possível classificar o diazepam como fármaco pertencente a classe I do SCB, de acordo com os relatos da literatura (LINDENBERG, KOPP & DRESSMAN, 2004; KLEIN & SHAH, 2008; ZAKI, ARTURSSON & BERGSTRÖM, 2010). Porém, ao se analisar a

solubilidade pela classificação proposta pela Farmacopeia Brasileira, descrita na Tabela 7, a qual se baseia somente na solubilidade em água e geralmente a temperatura ambiente, o diazepam é classificado como fármaco pouco solúvel precisando de 100 a 1000 partes de solvente para uma parte de soluto. Essa discrepância em termos de dados físico-químicos só mostra a importância dos estudos de pré-formulação no intuito de fazer a melhor caracterização possível dos insumos de partida como subsídio ao desenvolvimento de um produto farmacêutico.

A degradação do fármaco observada em meio HCl 0,1M promove uma discussão sobre a indicação farmacopeica para avaliação da dissolução de comprimidos de diazepam (BRASIL, 2010e). Além da degradação, a alta solubilidade nesse meio promoveu uma dificuldade na avaliação da porcentagem de dissolução do fármaco liberada por um período de tempo e, assim como a escolha de uma formulação ideal durante o desenvolvimento do produto. Para uma avaliação de dissolução de um fármaco na etapa de desenvolvimento, o uso de meios que não permitem a solubilização total do fármaco em um período de tempo curto não fornece dados discriminativos.

Os dados de solubilidade obtidos corroboram os resultados observados nas análises de diferentes meios de dissolução do medicamento referência Valium 10mg comprimidos (item 5.1.4.1) e reforçam a necessidade de utilização de meios de dissolução não farmacopeicos (tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8), para a etapa de desenvolvimento de formulações.

5.2. Estudo de Compatibilidade Fármaco-excipiente:

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente foi realizado por análise térmica e por FTIR como técnica complementar. Além disso, foi realizado um estudo de estabilidade acelerada por 3 meses de todas as misturas preparadas. Para a discussão deste trabalho foram escolhidos os resultados mais relevantes. A Figura 45 apresenta os resultados obtidos por DSC da mistura 1:1 de diazepam + amido glicolato de sódio (DZP + AGS). Cada amostra foi analisada em duplicata.

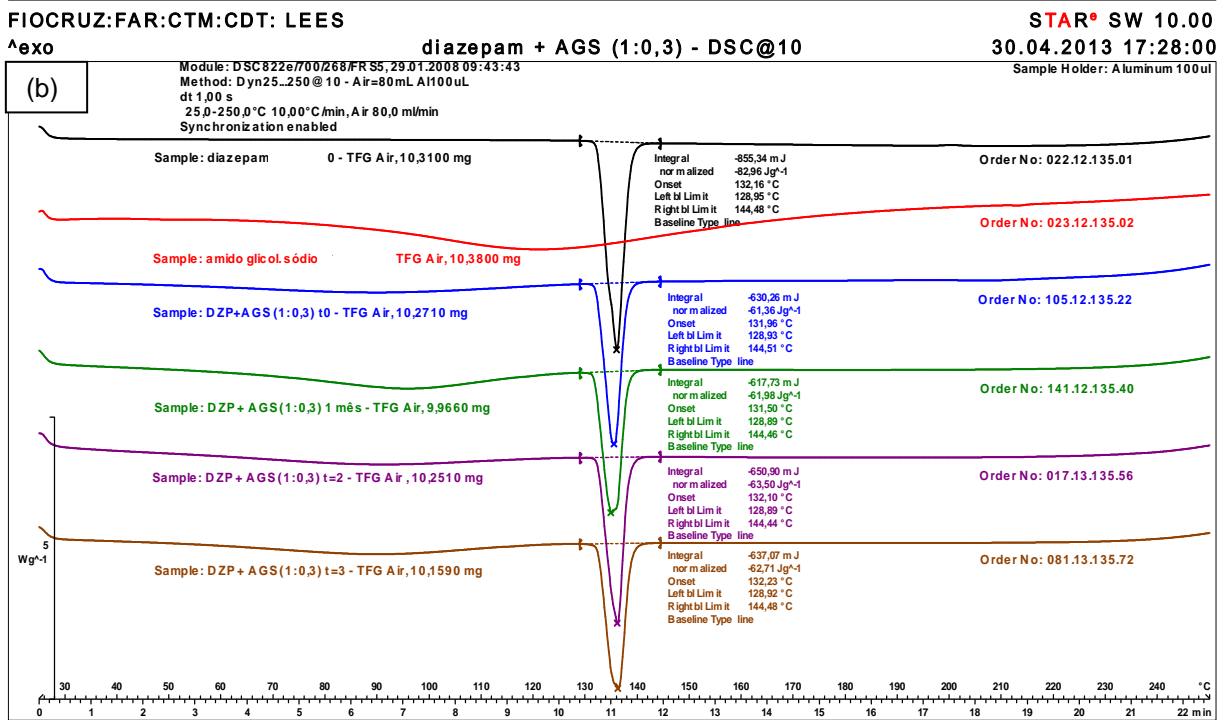
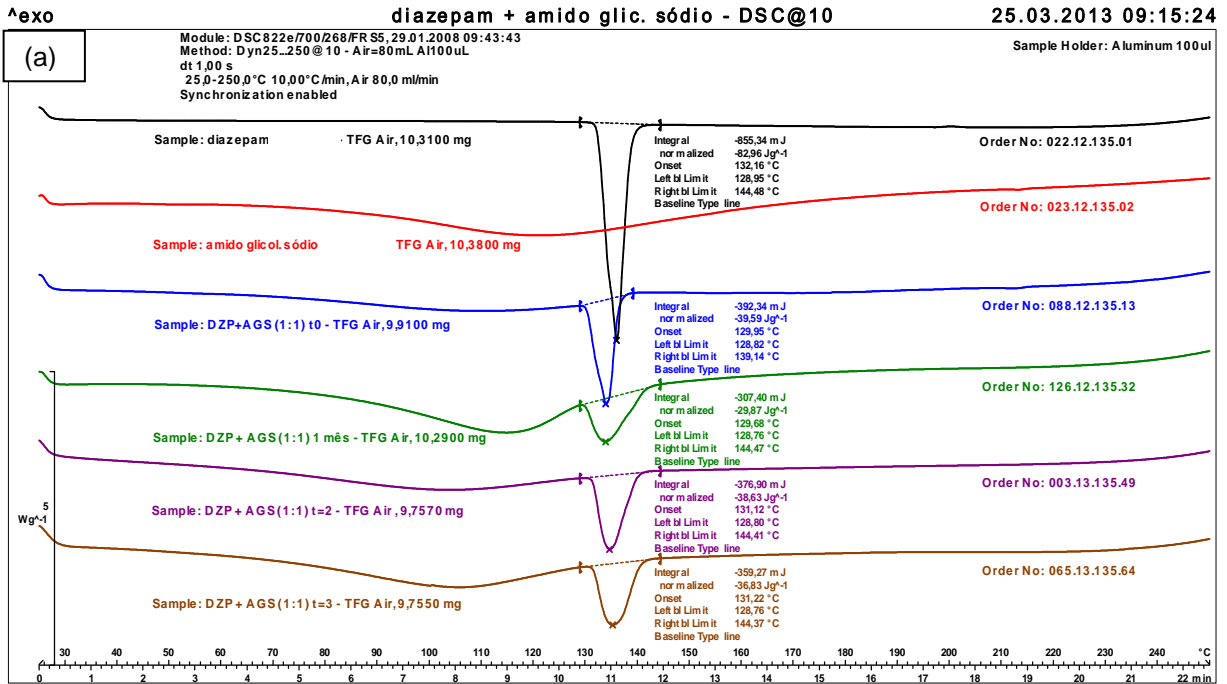


Figura 45 – Análise de DSC das misturas (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3).

De acordo com a Figura 45, as misturas de diazepam com amido glicolato de sódio apresentaram o pico de fusão do diazepam aproximadamente na mesma temperatura da análise do diazepam puro. Pode-se observar, também, que as misturas apresentaram uma diferença de entalpia ($\Delta H = -39 \text{ J/g}$) do pico de fusão do

diazepam aproximadamente a metade do ΔH observado na análise do diazepam puro ($\Delta H = - 83 \text{ J/g}$). Isto pode ser explicado porque a mistura apresentou somente 50% de fármaco, ou seja, a metade da quantidade da amostra pura do diazepam, promovendo a queda de 50% do valor da entalpia do pico de fusão do fármaco, uma vez que se trata de uma mistura 1:1 (p/p) (OLIVEIRA, YOSHIDA & GOMES, 2011).

De acordo com Oliveira e colaboradores (2010) alterações na faixa de fusão do fármaco analisado e modificações na forma e na área dos picos de fusão após a mistura podem sugerir possíveis interações ou reações entre o fármaco e o excipiente estudado. No estudo do diazepam não foram observadas essas alterações, como observado nos picos das misturas analisadas por DSC.

Além disso, a amostra DZP+AGS analisada após o 1º mês de estabilidade absorveu mais umidade que as demais amostras. Isto pode ser observado pela alteração de entalpia ($\Delta H = - 30 \text{ J/g}$) da mistura quando comparado ao ΔH observado nas demais misturas. Este fato pode estar relacionado a problemas de homogeneização no preparo da mistura. Por isso, foi realizada uma nova análise, em duplicata, sendo observado o mesmo resultado, sugerindo uma possível característica da mistura preparada. O mesmo resultado obtido na amostra analisada após 1 mês de estabilidade pode ser observado na Figura 45(b), apresentando os resultados de DSC das misturas DZP+AGS, com proporção de 1:0,3 em relação a formulação.

A Figura 46 apresenta os resultados de termogravimetria das misturas DZP+AGS.

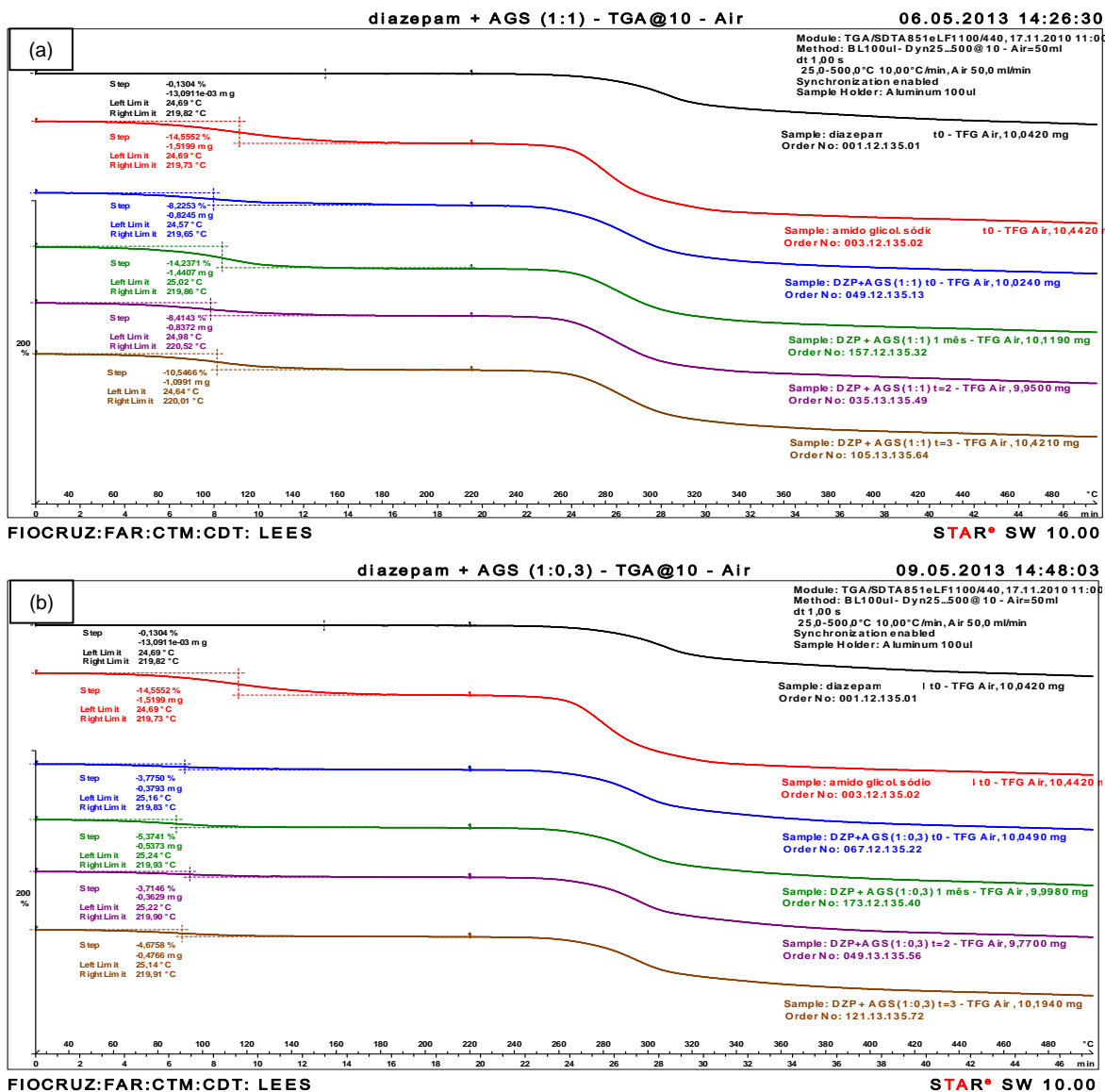


Figura 46 – Análise de TG das misturas de (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3).

De acordo com os resultados de TG, pode-se observar que não houve interações do diazepam com o amido glicolato de sódio, já que as curvas das misturas apresentaram perda de massa nas regiões de temperatura de perdas de massa do diazepam (a partir de 240°C) e do amido glicolato de sódio (a partir de 250°C). Este tipo de observação pode ser verificado em artigos da literatura como no estudo de compatibilidade do captopril com excipientes feito por Stulzer e colaboradores (2008), em que não houve alterações das temperaturas de perda de massa do fármaco e dos diluentes analisados após a mistura destes.

Os resultados obtidos por TG confirmaram os resultados obtidos por DSC das misturas de diazepam e amido glicolato de sódio.

A Figura 47 apresenta a análise de infravermelho da mistura DZP+AGS para confirmar os resultados obtidos por análise térmica.

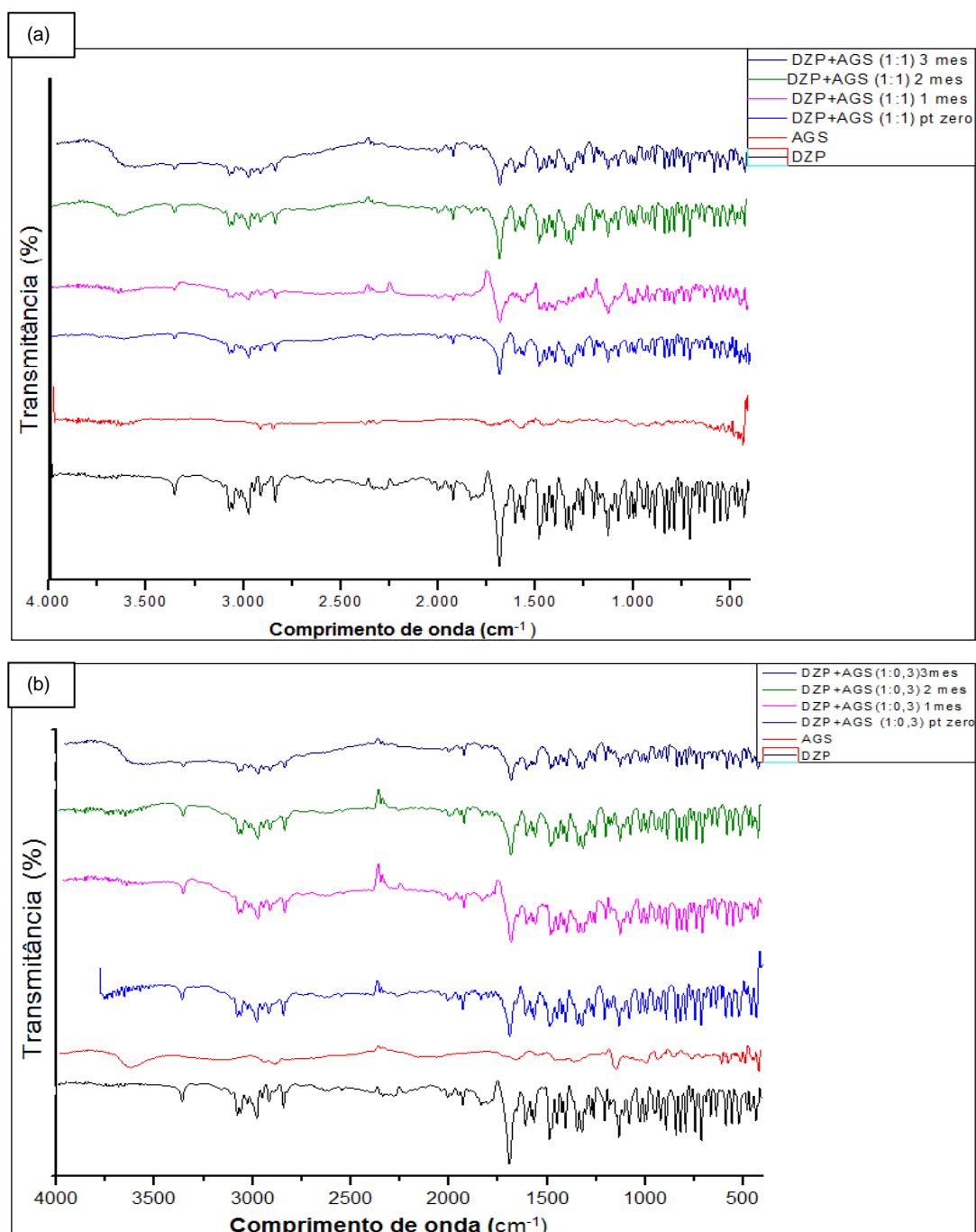


Figura 47 – Análise de infravermelho com transformada de Fourier das misturas (a) DZP+AGS (1:1) e (b) DZP+AGS (1:0,3).

Em relação as análises da mistura do diazepam e amido glicolato de sódio por FTIR não foram identificadas interações entre o fármaco e o excipiente analisado. Este resultado confirmou aqueles obtidos por análise térmica.

A Figura 48 apresenta os resultados obtidos por DSC das misturas preparadas com o diazepam e o dióxido de silício coloidal. A Tabela 31 apresenta os parâmetros térmicos obtidos para essas misturas.

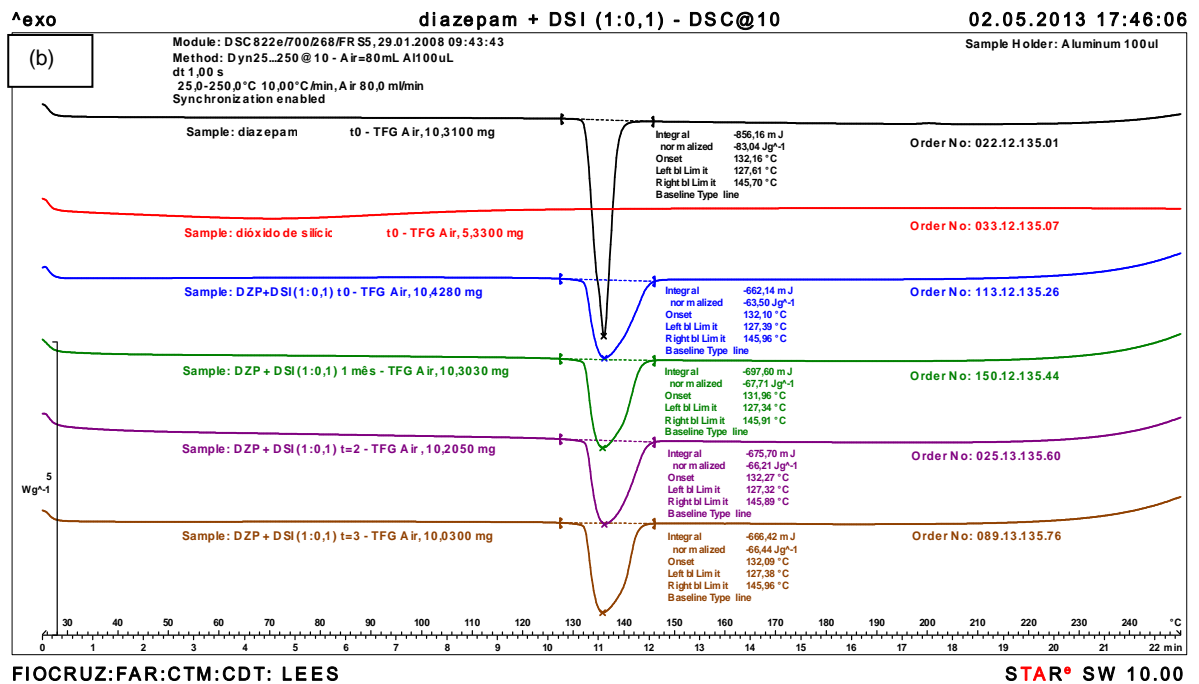
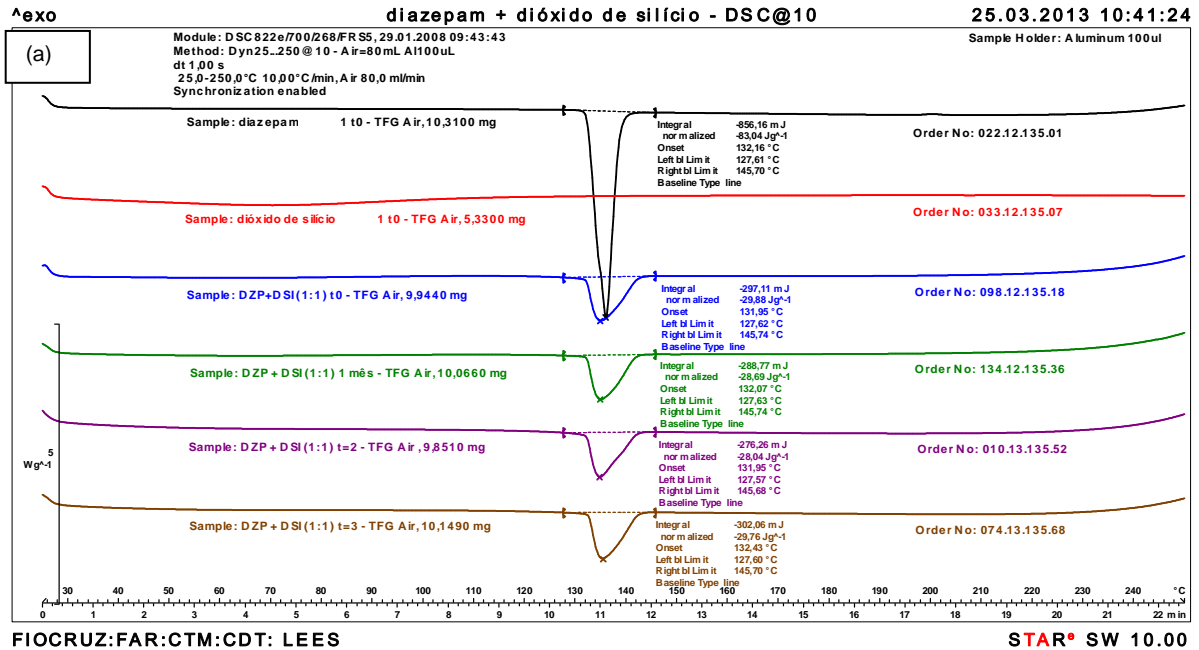


Figura 48 – Análise de DSC das misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1).

Tabela 31 – Parâmetros térmicos obtidos por DSC das misturas DZP+DSI

Amostras	Parâmetros das curvas de DSC	
	Tonset (°C)	ΔH (J/g)
DZP	132	83
DZP+DSI (1:1) ponto zero	132	30
DZP+DSI (1:1) 1 ^o mês	132	29
DZP+DSI (1:1) 2 ^o mês	132	28
DZP+DSI (1:1) 3 ^o mês	132	30
DZP+DSI (1:0,1) ponto zero	132	64
DZP+DSI (1:0,1) 1 ^o mês	132	68
DZP+DSI (1;0,1) 2 ^o mês	132	66
DZP+DSI (1:0,1) 3 ^o mês	132	66

De acordo com a Figura 48 e a Tabela 31, as misturas de diazepam com dióxido de silício coloidal apresentaram o pico de fusão do diazepam na mesma temperatura (132°C) da análise do diazepam puro. Porém, as misturas DZP+DSI (1:1) apresentaram uma diferença de entalpia ($\Delta H = -28$ a -30 J/g) do pico de fusão do diazepam puro ($\Delta H = -83$ J/g) menor do que a esperada, ou seja, em torno de $\Delta H = -42$ J/g equivalente à metade da entalpia encontrada na análise do fármaco puro.

Em relação às misturas DZP+DSI (1:0,1), pode-se observar as entalpias em torno de $\Delta H = -64$ a -68 J/g, valores bem diferentes do esperado ($\Delta H \sim -75$ J/g), visto que as misturas estão numa proporção de 99 partes de ativo para 1 parte de excipiente. Estas diferenças dos valores de entalpias das misturas sugerem possíveis interações do diazepam com o dióxido de silício, mas não necessariamente uma incompatibilidade.

Todas as amostras indicaram que o fármaco DZP foi estável do ponto zero ao terceiro mês de estabilidade à 40°C / 75% UR. De acordo com o teste não-paramétrico Friedman os valores encontrados foram de 4 ($p = 0,26146$) e 4,5 ($p = 0,21229$) para as misturas DZP+DSI 1:1 e DZP+DSI 1:0,1, respectivamente. Como o $p > 0,05$ em um intervalo de confiança de 5%, não há evidências de diferença significativa entre os grupos analisados.

Esse tipo de interação do dióxido de silício coloidal com fármacos vem sendo descrita na literatura, como relatado por Verma & Garg (2004) no estudo de compatibilidade do mononitrato de isossorbida e por Tita e colaboradores (2011) no estudo de compatibilidade do cetoprofeno. Apesar dos relatos dessa interação, não há ainda uma explicação sobre a interferência do dióxido de silício coloidal na entalpia do ponto de fusão de fármacos.

A Figura 49 apresenta os resultados das misturas DZP+DSI analisadas por termogravimetria.

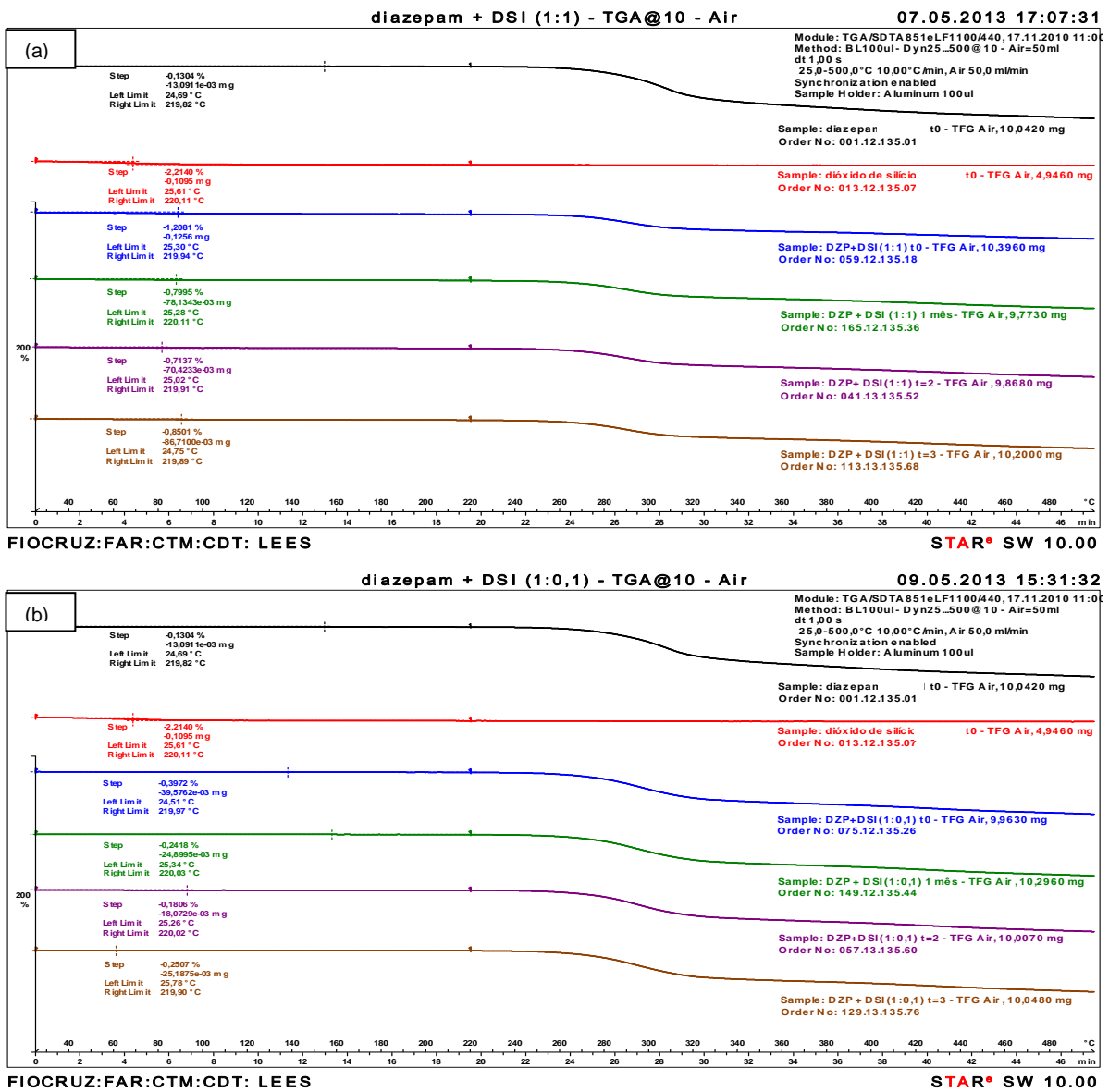


Figura 49 - Resultados das análises de TG para as misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1).

De acordo com os resultados de TG foi observado que não houve interações do diazepam com o dióxido de silício coloidal, já que as curvas das misturas apresentaram perda de massa do diazepam (a partir de 240°C). Este resultado pode sugerir que a possível interação do dióxido com o diazepam observada na calorimetria exploratória de varredura, não seja uma incompatibilidade.

A Figura 50 apresenta os resultados de infravermelho obtidos da mistura diazepam e dióxido de silício.

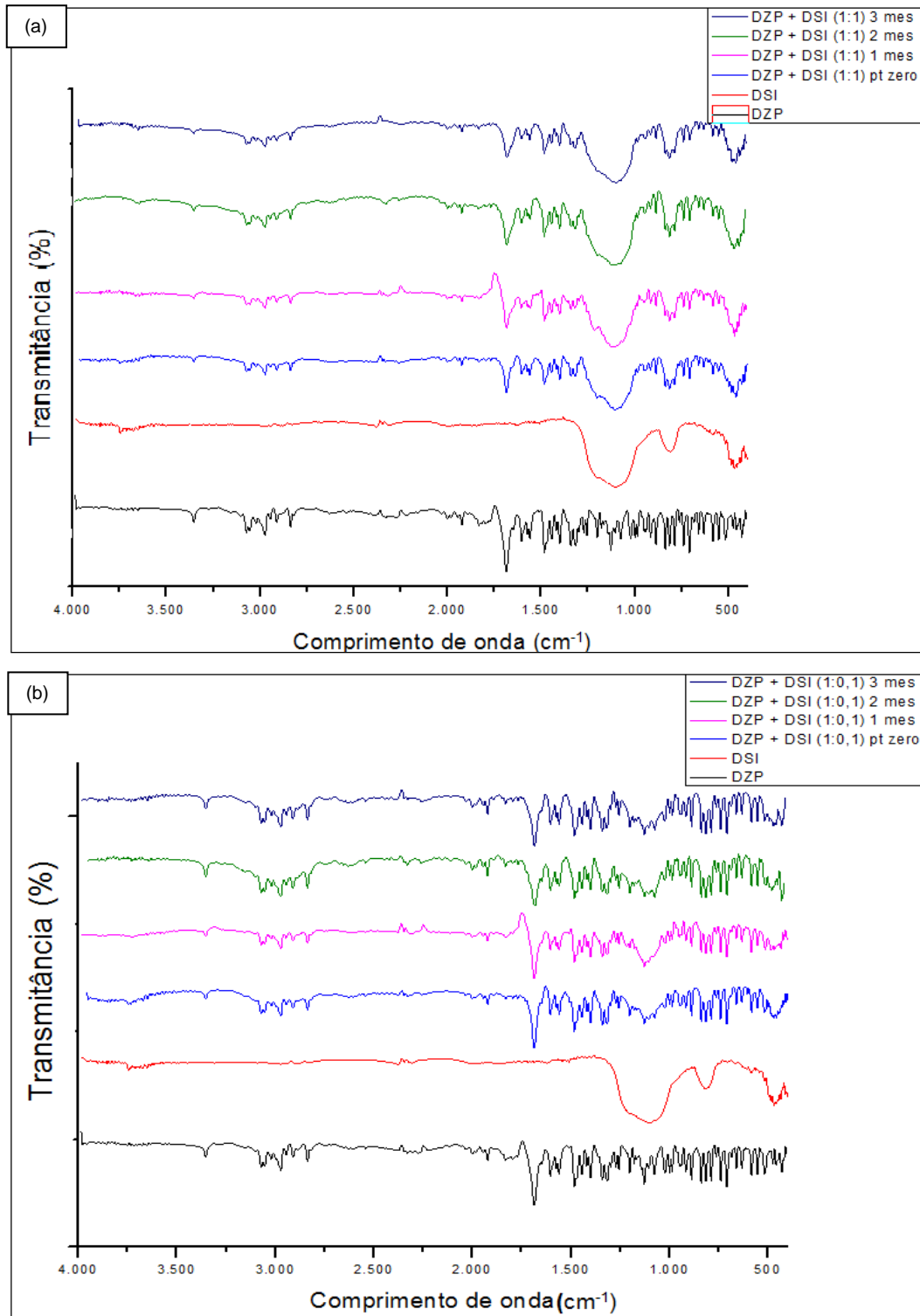


Figura 50 – Resultados da análise de FTIR das misturas (a) DZP+DSI (1:1) e (b) DZP+DSI (1:0,1).

Os resultados de infravermelho das misturas de diazepam com dióxido de silício mostraram que não há incompatibilidade do fármaco com esse excipiente,

confirmando os resultados obtidos pela termogravimetria. Porém, para investigar as alterações de entalpia observadas na análise de DSC, foi realizado um estudo complementar através da análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A Figura 51 apresenta os cromatogramas do dióxido de silício matéria-prima, diazepam matéria-prima e das misturas de DZP+DSI após três meses do estudo de estabilidade acelerado.

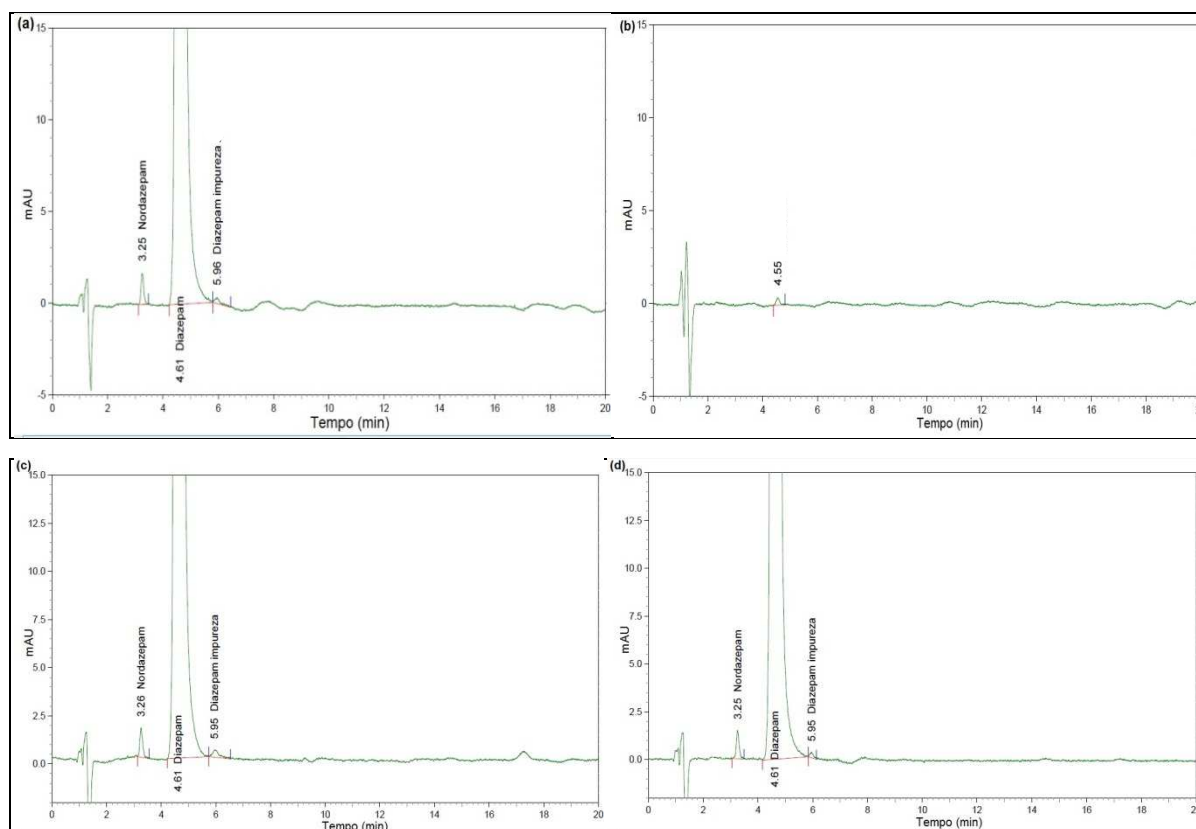


Figura 51 – Cromatogramas das misturas físicas diazepam e dióxido de silício (a) diazepam matéria-prima; (b) dióxido de silício matéria-prima; (c) DZP+DSI 1:1 três meses de estabilidade (40°C/75%UR); (d) DZP+DSI 1:0,1 três meses de estabilidade (40°C/75%UR).

Os cromatogramas demonstraram que o diazepam apresentou um pico de retenção em 4,65 minutos e seu composto de degradação mais conhecido, o nordazepam, um pico em 3,26 minutos. Além disso, foi observada a presença de um pico, caracterizado como impureza, em 5,95 minutos. Ao analisar o cromatograma do dióxido de silício foi observado um pico de retenção em, aproximadamente, 4,61 minutos. Este pico na amostra de DSI não era esperado, visto que esta substância é

inorgânica (uma sílica - SiO_2), não devendo apresentar pico na análise realizada. Por esse motivo, este pico sugere que a amostra DSI apresente alguma substância derivada de sua síntese, sendo essa substância responsável pela diminuição da entalpia das misturas de DZP+DSI. Além disso, como o tempo de retenção do pico do DSI ocorreu no mesmo tempo do pico característico do diazepam, a substância derivada da síntese apresentou mesma afinidade pela coluna cromatográfica e pela fase móvel.

Os resultados confirmaram que o pico observado na análise de DSI pode ser derivado de uma substância da síntese do excipiente, visto que não foram verificados a presença de um pico de DSI no tempo de retenção do diazepam nos outros lotes de DSI, do mesmo fornecedor e de fornecedor diferente, analisados (dados não mostrados). Além disso, esses resultados demonstraram que o método de análise (substâncias relacionadas do diazepam – USP 2012d) não foi discriminativo para promover a separação dos picos do DSI e do fármaco (DZP).

Entretanto, foi possível confirmar que a diminuição dos valores de entalpia registrados na análise das misturas no DSC não seria uma incompatibilidade, mas poderia ser uma interação física.

Os resultados da análise térmica e de infravermelho por transformada de Fourier das misturas de diazepam com os demais excipientes analisados (amido parcialmente pré gelatinizado, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, estearato de magnésio, lactose monohidratada spray-dried e talco 325 Mesh) não apresentaram interações e nem incompatibilidades (Anexo 1).

5.3. Desenvolvimento Farmacotécnico:

Após a escolha da matéria-prima realizada pelos resultados obtidos na caracterização físico-química e a escolha dos excipientes através do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente, foi realizado o estudo de formulações.

5.3.1. Desenvolvimento de Formulações

Foram preparados seis lotes experimentais, os quais se diferenciavam quanto aos excipientes utilizados conforme Tabela 16. Dentre esses lotes, o primeiro lote

experimental analisado (EXP1) foi preparado com a matéria-prima DZA para análise da influência do tamanho de partícula do fármaco na dissolução dos comprimidos. Além disso, foram preparados dois lotes experimentais (EXP2 e EXP3) com matéria-prima DZA moída três vezes em moinho de faca-martelos (Fitz Patrick), a fim de promover melhorias na matéria-prima DZA em relação ao tamanho de partícula e as propriedades de fluxo dessa amostra do fármaco. A amostra DZA inicialmente foi contemplada nos estudos experimentais, já que era o material em maior quantidade disponível no estoque da empresa, mas sabia-se de sua complicada performance, pois a mesma no passado havia sido usada em lote de produto acabado submetido ao estudo de bioequivalência e que não obteve sucesso. No entanto, a manipulação da mesma foi tomada como interessante visto que seria um bom material de referência para os lotes em desenvolvimento. Os demais lotes experimentais (EXP4, EXP5 e EXP6) foram preparados com a matéria-prima DZB, uma vez que esta apresentou os resultados mais adequados do estudo de pré-formulação para o desenvolvimento farmacotécnico.

5.3.2. Controle em Processo

Os resultados de controle em processo dos seis lotes experimentais do diazepam 10mg comprimidos produzidos estão mostrados na Tabela 32 e os principais resultados também estão mostrados nas Figuras 52 (peso médio), 53 (dureza) e 54 (desintegração) contendo linhas tracejadas mostrando os valores de referência para melhorar a visualização dos dados.

Tabela 32 - Resultados do controle em processo dos seis lotes experimentais produzidos

Controle em processo	Dados de referência	Lotes experimentais					
		EXP 1	EXP 2	EXP3	EXP 4	EXP 5	EXP 6
Peso médio (mg)	140,00 ± 5,00	141,50 ± 0,90	142,50 ± 2,70	141,79 ± 0,90	140,68 ± 1,90	141,20 ± 1,00	140,98 ± 1,10
Espessura (mm)	2,55 – 3,00	2,66 ± 0,01	2,59 ± 0,04	2,63 ± 0,04	2,64 ± 0,04	2,63 ± 0,03	2,69 ± 0,03
Dureza (N)	39,23 – 98,07	76,80 ± 4,19	52,51 ± 5,68	65,10 ± 13,64	65,61 ± 13,58	47,86 ± 2,36	57,87 ± 4,77
Friabilidade (%)	Máximo 1,5%	0,088	0,173	0,117	0,105	0,222	0,159
Desintegração (min)	Máximo de 30 minutos em água à 37°C	1'33"	5'02"	2'09"	1'19"	3'38"	1'40"

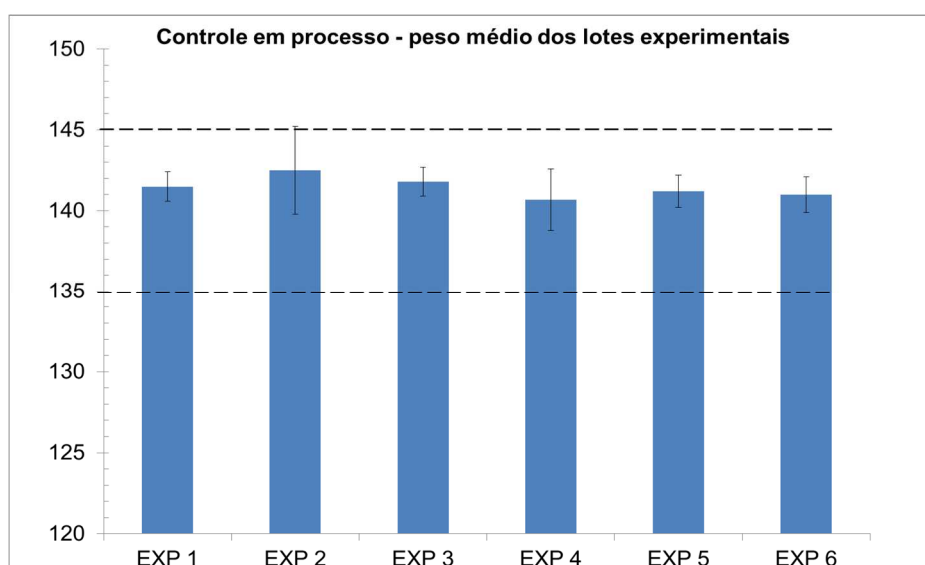


Figura 52 – Resultados de peso médio dos comprimidos dos lotes experimentais

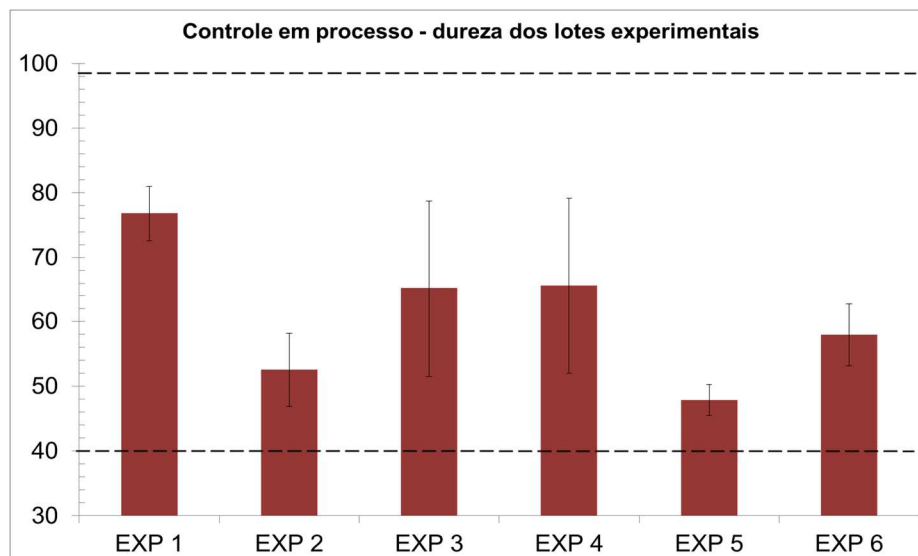


Figura 53 – Resultados de dureza dos comprimidos dos lotes experimentais

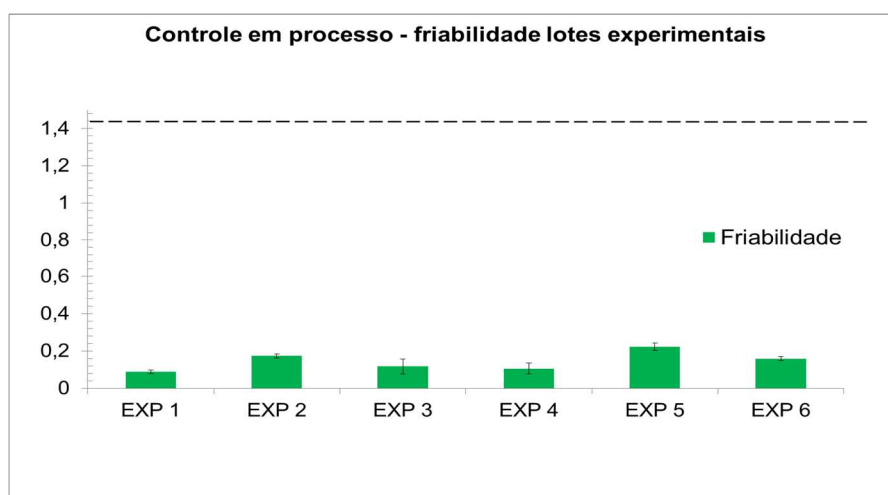


Figura 54 – Resultados da friabilidade dos comprimidos dos lotes experimentais

Os dados de referência (peso médio, dureza e espessura) foram obtidos através de cálculos matemáticos de adequação desses parâmetros com o formato do comprimido desejado (redondo e sulcado) e com o tipo de punção escolhido (7mm) para este produto. Os dados de referência de friabilidade e desintegração foram retirados da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010g, 2010h).

De acordo com os resultados obtidos no controle em processo (Figuras 52, 53 e 54), todos os lotes experimentais estavam de acordo com os parâmetros estabelecidos como referência, sendo, por isso, os seis lotes submetidos a ensaio de perfil de dissolução.

Esses lotes não foram submetidos a ensaios de uniformidade de conteúdo e nem a ensaios de teor, pois o objetivo era avaliar o perfil de dissolução para escolha da melhor formulação. Além disso, não haviam relatos de problemas relacionados aos resultados de teor e de uniformidade de conteúdo desse produto.

5.3.3. Perfil de Dissolução Comparativo do Produto Diazepam 10 mg Comprimidos

Os comprimidos formados nos lotes experimentais foram avaliados quanto ao perfil de dissolução e os resultados comparados com o perfil de dissolução de um lote do medicamento referência. Os perfis de dissolução foram analisados em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5, conforme descrito no item 4.3.6. Os resultados foram plotados a partir da média obtida considerando as seis cubas independentes do dissolutor para cada lote (Figura 55).

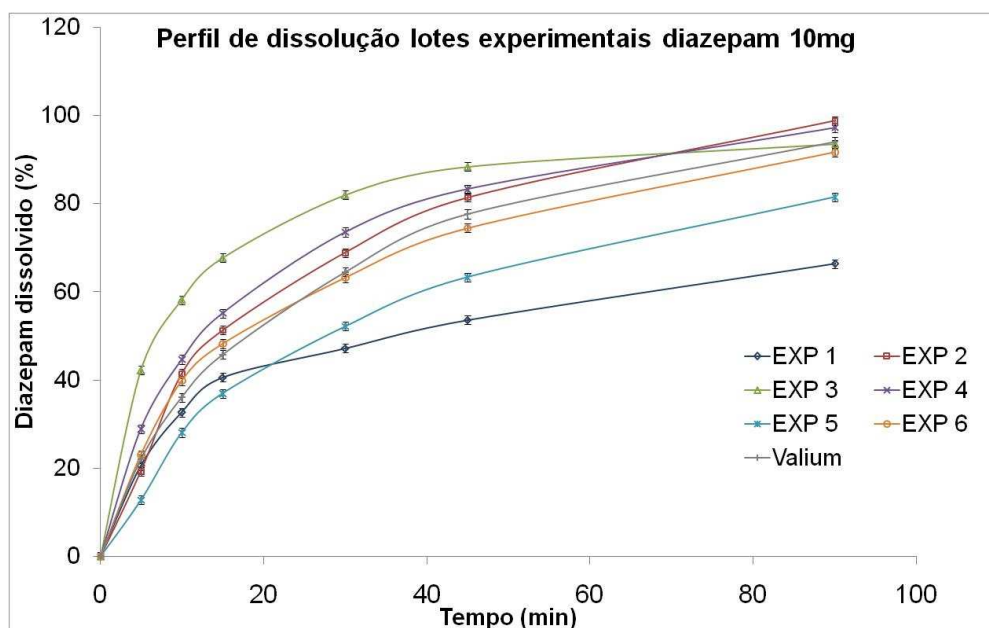


Figura 55 - Perfil de dissolução, em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5, comparativo entre amostras de comprimidos de diazepam 10 mg utilizando os diferentes lotes experimentais de diazepam (EXP1-6) e um lote de medicamento referência (Valium 10mg).

A Figura 55 mostra que o lote EXP 1 apresentou um perfil de dissolução pior do que os demais, apresentando uma taxa de dissolução, no tempo de 90 minutos, de 66,3%. Este resultado pode ser explicado pelo lote do fármaco utilizado na formulação (DZA) que apresenta um tamanho de partícula maior quando comparado ao lote DZB do mesmo fármaco, já que existe uma relação direta da influência do tamanho de partícula no perfil de dissolução, principalmente quando é analisado o perfil de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, como é o caso do diazepam (HINTZ & JOHNSON, 1989). O lote EXP 5 apresentou uma taxa de dissolução maior (81,5% em 90 minutos) do que o lote EXP 1, porém menor do que os demais lotes experimentais e o lote referência.

Os lotes EXP 2 e EXP 4 apresentaram resultados de taxa de dissolução (98,7% e 97,2%, respectivamente), após 90 minutos, maiores que a taxa do lote do produto referência (94,0%). Os lotes EXP 3 e EXP 6 apresentaram as taxas de dissolução (93,4% e 91,6%, respectivamente), em 90 minutos, mais próximas da taxa de dissolução do referência.

Os resultados de perfil de dissolução dos seis lotes experimentais de diazepam 10mg comprimidos foram utilizados para o cálculo do fator de semelhança (f_2) visando identificar o lote com o perfil equivalente ao lote do medicamento referência. Os valores de f_2 devem ser maiores que 50 para que o perfil de dissolução do medicamento teste possa ser considerado semelhante ao perfil do medicamento referência (BRASIL, 2010d). Os resultados da análise de f_2 estão mostrados na Tabela 33 mostrada a seguir.

Tabela 33 – Resultados da análise do fator de semelhança dos lotes experimentais de diazepam 10mg comprimidos

Lotes experimentais	Valor de f2 obtido	Perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência
EXP 1	39%	Não
EXP 2	67%	Sim
EXP 3	38%	Não
EXP 4	56%	Sim
EXP 5	48%	Não
EXP 6	78%	Sim

De acordo com os resultados do fator de semelhança encontrado para os lotes experimentais, pode-se observar que três lotes (EXP 1, EXP 3 e EXP 5) não apresentaram semelhança do perfil de dissolução com o medicamento referência. Dentre os três lotes experimentais que apresentaram semelhança, o lote EXP 6 apresentou o valor de f2 mais próximo de 100, o que sugere que este lote apresenta um perfil de dissolução mais próximo do perfil do medicamento referência. Com esses resultados, a formulação do lote EXP 6 foi escolhida para a continuação do desenvolvimento do produto teste. Os boletins de análise dos f2 dos lotes experimentais estão mostrados no Anexo 2.

5.3.4. Desenvolvimento de Lotes Pilotos

De acordo com os resultados dos lotes experimentais, a formulação do lote EXP 6 foi escolhida para o desenvolvimento dos três lotes pilotos industriais. Os lotes pilotos (PILOTO 1, PILOTO 2 e PILOTO 3) foram produzidos por compressão direta e acondicionados em dois tipos de embalagem primária (strip alumínio e PVC/pvdc cristal). O processo de aumento de escala conseguiu reproduzir os resultados obtidos na avaliação dos parâmetros do lote experimental. A Tabela 34 apresenta os valores dos testes físico-mecânicos e físico-químicos do lote

experimental EXP 6 e dos três lotes pilotos.

Tabela 34 – Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos do lote experimental e dos lotes de aumento de escala (lotes pilotos).

Análise	Especificação	Lote experimental	Lotes Pilotos		
		EXP 6	PILOTO 1	PILOTO 2	PILOTO 3
Teor da mistura final (%)	90-110%	-	99,6	99,8	99,6
Aspecto	comprimido circular, sulcado e branco	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Peso médio (mg)	140 ± 5% (133 a 147)	141,0±1,1	141,8 ± 1,1	140,0 ± 0,97	140,1 ± 0,9
Espessura (mm)	2,5 a 3,0mm	2,69±0,03	2,78 ± 0,02	2,84 ± 0,01	2,81 ± 0,01
Dureza (N)	39,24 - 98,10	57,81±4,77	87,21 ± 5,56	66,48 ± 5,23	69,75 ± 5,23
Friabilidade (%)	Máx. 1,5%	0,01	0,00	0,00	0,07
Desintegração	Máx. 30min - em água com disco	1'13"	3'14"	2'10"	2'05"
Teor (%)	90-110%	-	98	98	99
Dissolução média (pH 1,2)	Q= 75% em 45 minutos	-	94,3	95,5	95,3
Uniformidade de conteúdo (VA ≤ 15)	98,5 – 101,5%	-	98,5 (4,8)	98,5 (5,4)	98,5 (2,6)

Observação: VA = valor de aceitação da uniformidade de conteúdo.
- = análise não realizada

De acordo com os resultados da Tabela 34, foi possível observar que os lotes pilotos apresentaram resultados semelhantes ao lote EXP 6, porém o lote PILOTO 1

apresentou valores de dureza mais altos que os demais e consequente aumento no tempo de desintegração dos comprimidos. Esta diferença está relacionada a parâmetros da compressão, já que a força da compressão principal do lote PILOTO 1 foi de 14,1kN, enquanto que nos lotes PILOTO 2 e PILOTO 3 foi de 9,2kN e 10,0kN, respectivamente. Além disso, a altura do cilindro na etapa de compressão principal foi de 1,40mm para o lote PILOTO 1. Já os lotes PILOTO 2 e 3 apresentaram altura de 1,60mm e 1,65mm, respectivamente. A altura do cilindro está diretamente relacionada à dureza dos comprimidos. Esta alteração de força de compressão e altura de cilindro foi necessária logo após a produção do primeiro lote piloto para que o processo de compressão ocorresse de forma a causar menor desgaste da própria máquina assim como dos ferramentais de compressão. Este novo parâmetro de ajuste de máquina se reproduziu bem na produção do piloto 3 por isso ambos os lotes (2 e 3) apresentaram resultados de controle em processo muito semelhantes.

5.3.5. Perfil de Dissolução dos Lotes Pilotos

Após as análises mostradas, foi realizado o ensaio de perfil de dissolução para os três lotes pilotos e os resultados foram plotados a partir da média obtida considerando as seis cubas independentes do dissolutor para cada lote (Figura 56).

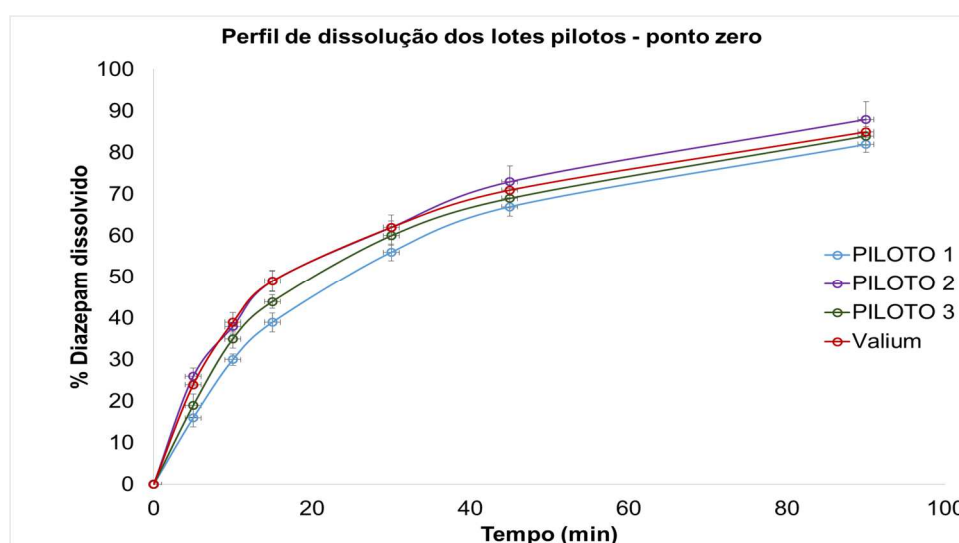


Figura 56 – Perfil de dissolução em meio tampão acetato pH 4,5 dos três lotes pilotos no ponto zero de estabilidade.

Os três lotes pilotos apresentaram perfis de dissolução sem diferenças estatisticamente significativas entre eles (Anova One-Way, $p \leq 0,05$). Porém, quando os perfis de dissolução dos lotes pilotos foram comparados com o perfil de dissolução do lote referência houve uma diferença estatisticamente significativa entre cada lote piloto com o medicamento referência, considerando o intervalo de confiança de 95% ($p=0,05$).

Para avaliação da similaridade entre os perfis de dissolução dos medicamentos testes com o medicamento referência, foi realizado o cálculo do fator de semelhança (f_2) segundo RDC 31 da ANVISA (BRASIL, 2010d). Os resultados do cálculo do fator de semelhança estão mostrados na Tabela 35. Os boletins de análise estão mostrados no Anexo 3.

Tabela 35 – Resultados do estudo do fator de semelhança dos lotes pilotos de diazepam 10mg comprimidos de liberação imediata

<i>Lotes pilotos</i>	<i>Valor de f_2 obtido</i>	<i>Perfil de dissolução semelhante ao medicamento referência</i>
PILOTO 1	57%	SIM
PILOTO 2	85%	SIM
PILOTO 3	72%	SIM

Apesar dos resultados estatisticamente diferentes pela ANOVA One-way, pode-se verificar que, de acordo com os resultados de f_2 apresentados acima, os perfis de dissolução do medicamento teste são semelhantes ao perfil de dissolução do medicamento referência, o que sugere semelhança entre os medicamentos de acordo com a RDC 31 (BRASIL, 2010d).

Entretanto, são necessários novos estudos de equivalência farmacêutica e de bioequivalência farmacêutica em laboratório certificado pela ANVISA entre o medicamento teste e o medicamento referência para que este produto seja aprovado e comercializado.

5.4. Estudo de Estabilidade Acelerada

Os lotes pilotos, então, foram submetidos a um estudo de estabilidade acelerada em câmara climática à 40°C/75% de umidade relativa do ar. Foram avaliadas as características organolépticas (aspecto), as características físico-mecânicas (peso médio, dureza, espessura, friabilidade e desintegração) e as características físico-químicas (perfil de dissolução). Os comprimidos foram avaliados em três tempos do estudo de estabilidade (0, 3 e 6 meses).

Os três lotes pilotos produzidos foram analisados quanto a peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, teor e aspecto nos três tempos do estudo de estabilidade (ponto zero, 3 e 6 meses) e nas duas embalagens primárias escolhidas (strip alumínio e PVC/pvdc cristal). O teste de substâncias relacionadas foi realizado somente nas amostras de estabilidade acelerada (3 e 6 meses). Em relação a dissolução média, foi realizada análise da dissolução média do diazepam em meio ácido HCl 0,1M, sendo necessário um resultado acima de 75% de diazepam dissolvido em todas as cubas de dissolução após 45 minutos. Esse ensaio de dissolução média foi realizado seguindo a monografia do diazepam comprimidos presente na Farmacopeia Brasileira sendo um ensaio de controle de qualidade do medicamento em estabilidade. Nesta fase não foi possível a análise no meio acetato pH 4,5 pois o mesmo ainda estava em desenvolvimento e por não ser farmacopeico necessitaria ser validado e tal abordagem não foi dada neste trabalho de dissertação. Os resultados de ponto zero foram obtidos do granel dos comprimidos antes de serem embalados e estão mostrados na Tabela 34. Os resultados desses testes foram divididos pelo tempo do estudo de estabilidade e estão mostrados na Tabela 36 (3 meses, 40°C/75%UR) e Tabela 37 (6 meses, 40°C/75% UR).

Os resultados obtidos nas análises dos comprimidos no ponto zero do estudo de estabilidade (Tabela 34) foram comparados com os resultados obtidos nas análises dos tempos de 3 e 6 meses. A Tabela 36 apresenta os resultados obtidos após três meses de estabilidade acelerada.

Tabela 36 – Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos após três meses do estudo de estabilidade acelerada.

Tipo de embalagem		Lotes Pilotos					
		PILOTO 1		PILOTO 2		PILOTO 3	
Análise	Especificação	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal
Aspecto	comprimido circular, sulcado e branco	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Peso médio (mg)	140 ± 5% (133 a 147mg)	140,7 ±1,20	142,6±1,10	139,9 ±1,05	141,8 ±0,95	139,8 ±0,68	142,0 ±1,00
Dureza (N)	39,24 - 98,10	86,0 ±12,64	89,0 ±12,17	67,0 ±5,78	68,0 ±9,89	72,0 ±7,49	73,0 ±4,10
Friabilidade (%)	Máx. 1,5%	0,02	0,1	0,1	0,2	0,02	0,2
Desintegração	Máx. 30min - em água com disco	2'18"	3'21"	1'08"	2'09"	2'06"	1'56"
Teor (%)	90-110%	95	99	96	100	96	97
Dissolução média (pH 1,2)	Q= 75% em 45 minutos	96,8	97,3	101,2	96,0	103,0	95,8
Substâncias relacionadas	Nenhuma mancha secundária na solução concentrada deve ser mais intensa que a mancha principal na solução diluída	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária

De acordo com os resultados mostrados nas duas últimas tabelas, todas as amostras se apresentaram dentro das especificações estabelecidas. Quando os resultados da Tabela 36 são comparados com os resultados da Tabela 34 (ponto zero), foi verificado um ganho de dureza em todos os lotes analisados. Isto pode ser explicado pelo fato do diazepam apresentar um comportamento plástico (as moléculas não retornam ao estado anterior ao de compressão) (AULTON, 2005). A Tabela 37 apresenta os resultados do sexto mês de estabilidade acelerada dos lotes pilotos.

Tabela 37 – Resultados obtidos dos testes físico-mecânicos e físico-químicos após seis meses do estudo de estabilidade acelerada.

Tipo de embalagem		Lotes Pilotos					
		PILOTO 1		PILOTO 2		PILOTO 3	
Análise	Especificação	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal	Strip alumínio	Pvc/ pvdc cristal
Aspecto	comprimido circular, sulcado e branco	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Peso médio (mg)	140 ± 5% (133 a 147mg)	140,7 ±1,20	142,8 ±1,10	140,0 ±0,96	142,1±1,0 8	140,2 ±1,06	141,9±1,0 5
Dureza (N)	39,24 - 98,10	102,0 ±12,35	90,0 ±9,69	76,0 ± 8,80	69,0 ± 9,41	82,0 ±10,38	75,0 ± 6,67
Friabilidade (%)	Máx. 1,5%	0,00	0,1	0,1	0,00	0,02	0,2
Desintegração	Máx. 30min - em água com disco	3'29"	3'11"	1'58"	2'14"	2'27"	2'58"
Teor (%)	90-110%	100	100	103	101	102	101
Dissolução média (pH ácido)	Q=75% em 45 minutos	89,2	95,7	92,3	88,8	93,2	90,0
Substâncias relacionadas	Nenhuma mancha secundária na solução concentrada deve ser mais intensa que a mancha principal na solução diluída	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária	Ausência de mancha secundária

De acordo com os resultados mostrados nas tabelas acima, pode-se observar que todas as amostras se apresentaram dentro das especificações estabelecidas, com exceção do valor de dureza médio encontrado no lote PILOTO 1, na embalagem strip de alumínio e na condição de seis meses de estabilidade acelerada. Apesar de dentro da especificação os demais lotes em suas diferentes embalagens também apresentaram incremento nos valores de dureza ao longo da estocagem, no entanto não houve alteração nem no ensaio de desintegração nem na dissolução.

Quando os resultados da Tabela 37 são comparados com a Tabela 34 (ponto zero) e a Tabela 36 (três meses), foi observado que a friabilidade é praticamente

nula, o que sugere que os comprimidos não se tornaram friáveis, mesmo sob condições exigidas pelo estudo de estabilidade.

5.5. Estudo de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência

De acordo com os resultados do ensaio de equivalência farmacêutica realizado entre os produtos teste e referência, os dois produtos foram considerados equivalentes apresentando os valores de fator de diferença ($f_1 = 2,21$) e fator de semelhança ($f_2 = 81,70$) derivados dos resultados de perfil de dissolução em meio farmacopeico (HCl 0,1M) dentro das especificações, conforme descrito no Relatório de Equivalência Farmacêutica número 007/11 de Farmanguinhos (documento acessível na empresa sob demanda autorizada).

Entretanto, os dois produtos apresentaram diferenças em relação ao aspecto dos comprimidos formados. Os comprimidos do medicamento teste são circulares, sulcados e de coloração branca. Já os comprimidos do medicamento referência são circulares, sulcados, com uma das faces contendo a inscrição "ROCHE 10" e de coloração azul.

A legislação de equivalência farmacêutica (BRASIL, 2010d) determina que medicamentos equivalentes devem apresentar a mesma forma farmacêutica, a mesma via de administração, a mesma quantidade de fármaco e cumprir com os mesmos requisitos da monografia do produto, descritos nos compêndios oficiais, não havendo necessidade dos produtos equivalentes apresentarem mesmo aspecto físico.

Em relação ao ensaio de bioequivalência foram calculados os parâmetros farmacocinéticos de área sob a curva (ASC), do tempo zero até o último tempo de coleta (ASC_{0-t}); área sob a curva do tempo zero projetada ao infinito (ASC_{inf}); concentração máxima ($C_{máx}$); tempo decorrido até a obtenção da concentração máxima ($T_{máx}$); constante de eliminação (K_e) e tempo de meia vida ($t_{1/2}$) do produto teste e do produto referência. Os resultados estão descritos no Relatório de Biodisponibilidade Relativa/ Bioequivalência do diazepam 10 mg comprimidos (Estudo 03.DZP01-12TE.48), documento acessível na empresa sob demanda autorizada.

A Tabela 38 apresenta os valores médios e seus respectivos desvios padrões

considerando os parâmetros farmacocinéticos ASC_{0-t} , ASC_{inf} e o $T_{máx}$ obtidos dos produtos analisados.

Tabela 38 – Parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência

<i>Formulação</i>	ASC_{0-t} (<i>h*ng/mL</i>)	ASC_{inf} (<i>h*ng/mL</i>)	$T_{máx}$ (<i>h</i>)
Referência (R)	4381.516±1554.826	6457.609±3368.744	1.038±0.49
Teste (T)	4289.443±1506.235	6302.154±2810.043	1±0.463

De acordo com os resultados de parâmetros farmacocinéticos obtidos e a análise estatística destes com intervalo de confiança de 90% estabelecida pela resolução RE 1170 (BRASIL, 2006), as formulações teste e referência foram consideradas bioequivalentes. Além disso, os dados de $T_{máx}$ estão de acordo com os observados na literatura (ABBARA *et al.*, 2009; KLOTZ, ANTONIN & BIECK, 1976).

5.6. Correlação In Vitro-In Vivo (CIVIV)

A correlação *in vitro-in vivo* foi realizada com os produtos que foram submetidos ao estudo de bioequivalência. Os dados de perfil de dissolução utilizados foram os obtidos no meio mais discriminativo, tampão acetato pH 4,5. Os dados de dissolução do diazepam em meio ácido (HCl 0,1M) não puderam ser utilizados para a realização de uma CIVIV, visto que o diazepam dissolve rapidamente neste meio não apresentando uma liberação gradativa do fármaco.

A CIVIV nível A entre os medicamentos teste e referência foi realizada pelo programa Phoenix WinNolin® 6.3 IVIVC Toolkit™ e o resultado obtido apresentou uma correlação com $r^2 = 0,338$. Este valor sugere que não houve correlação entre os produtos. Isto pode ser explicado porque o medicamento analisado apresenta um perfil de dissolução rápido, pois em 90 minutos, a taxa de dissolução do fármaco atinge o platô de liberação. Entretanto, o estudo de bioequivalência foi realizado por um período de 96 horas, já que o tempo de meia vida do diazepam é elevado porque este fármaco apresenta metabólitos ativos. Essa diferença de tempos de análise proporcionou a baixa correlação ponto a ponto (nível A). Este tipo de correlação é mais indicado para medicamentos de liberação modificada (BRASIL, 2002).

A CIVIV nível C múltiplo entre os medicamentos teste (PILOTO 2) e referência foi realizada pelo programa Microsoft Excel®. O teste foi realizado baseado na comparação de ASC parciais com os pontos da dissolução. As ASC parciais foram baseadas no $T_{máx}$ do fármaco. A Tabela 39 apresenta os dados de ASC parciais e a Tabela 40 os dados de dissolução que foram utilizados na CIVIV.

Tabela 39 – Parâmetros farmacocinéticos para o estudo de CIVIV nível C múltiplo

Formulação	Parâmetros farmacocinéticos			
	ASC _{0-1h}	ASC _{0-1,5h}	ASC _{0-2h}	ASC _{0-3h}
R	115,803	206,486	285,583	403,201
T	114,978	206,136	285,755	404,718

Tabela 40 – Dados de dissolução para o estudo de CIVIV nível C múltiplo

Formulação	Dados de dissolução			
	15 min	30 min	45 min	90 min
R	49	62	71	85
T	49	62	73	88

A partir desses dados foi realizada a correlação indicada na Figura 57.

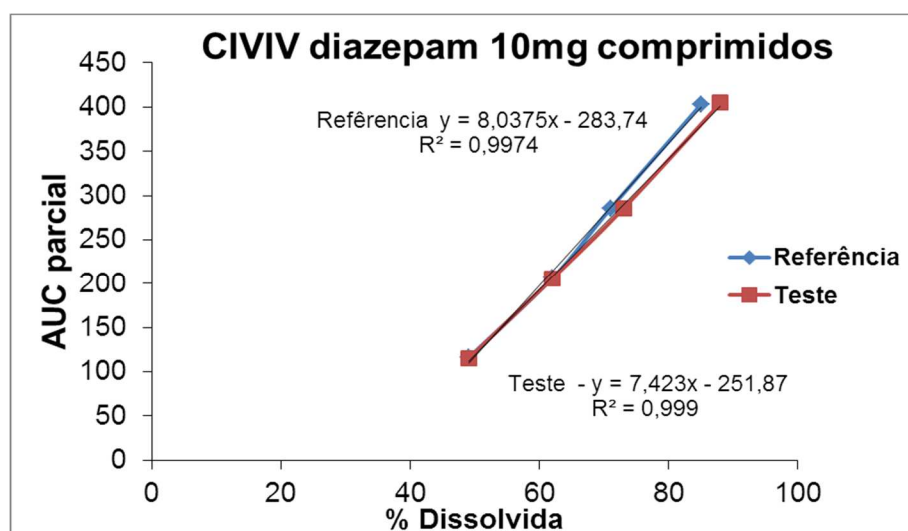


Figura 57 – CIVIV nível C múltiplo dos medicamentos referência e teste do diazepam 10mg comprimidos.

De acordo com a Figura 57 os resultados demonstraram que o medicamento referência apresentou um coeficiente de correlação de $r^2= 0,9974$ e o medicamento teste um $r^2= 0,999$. Os valores de coeficiente de correlação sugerem que os medicamentos apresentam uma boa correlação *in vitro-in vivo* nível C múltiplo. Esse resultado só vem a corroborar com a ideia de que o meio pH 4,5 é o mais discriminativo para ser utilizado ao longo do desenvolvimento deste referido produto e vale esforços para a realização de validação analítica, uma vez que apresentou resultados de correlação promissores.

Uma forma de validar a CIVIV obtida é substituir os valores encontrados experimentalmente de taxa de dissolução ou ASC nas equações da reta obtidas, mostradas na Figura 57. As Tabelas 41 e 42 apresentam os valores de ASC do medicamento referência e do medicamento teste obtidos pela equação da reta de cada medicamento com os valores de taxa de dissolução substituídos nessas equações, respectivamente.

Tabela 41 – Validação dos dados obtidos de $ASC_{parcial}$ da equação da reta do medicamento referência (equação da reta: $y= 8,0375x - 283,74$).

Taxa de dissolução obtida experimentalmente	Valor de ASC obtido teoricamente
49	110,098
62	214,585
71	286,923
85	399,448

Tabela 42 – Validação dos dados obtidos de $ASC_{parcial}$ da equação da reta do medicamento teste (equação da reta: $y= 7,423x - 251,87$).

Taxa de dissolução obtida experimentalmente	Valor de ASC obtido teoricamente
49	111,857
62	208,356
73	290,009
88	401,354

De acordo com os resultados teóricos mostrados nas Tabelas 41 e 42, pode ser observado que os valores de ASC encontrados são próximos dos valores de ASC obtidos experimentalmente. Com isso, pode ser verificada a validação da CIVIV nível C múltiplo obtida.

As correlações *in vitro-in vivo* nível C múltiplo vem sendo descritas na literatura para avaliação de formulações em desenvolvimento. Essas correlações podem ser realizadas comparando as ASC parciais com os dados de dissolução, mais usual, ou outros parâmetros farmacocinéticos com os dados da dissolução. Volpato e colaboradores (2004) avaliaram a CIVIV nível c múltiplo de comprimidos de l-tirosina comparando ASC parciais com os dados obtidos de um novo meio de dissolução dos comprimidos obtendo resultados promissores. Já Viçosa e colaboradores (2009) avaliaram a CIVIV nível C múltiplo de comprimidos genéricos de cetoconazol comparando os dados de $C_{máx}$ com as porcentagens do fármaco dissolvido em diferentes meios de dissolução, obtendo resultados satisfatórios com meio tampão pH 4,5.

6. CONCLUSÃO:

A escolha do fármaco diazepam como modelo para esse trabalho foi baseada na baixa solubilidade em água apresentada por este ativo e pelo uso indiscriminado dessa substância como calmante pela população brasileira e mundial, sendo o mesmo de grande importância para a saúde pública. Além disso, apesar de se tratar de um fármaco já de longa data na terapêutica, não apresenta estudos semelhantes na literatura envolvendo este fármaco, sobretudo estudos de pré-formulação e compatibilidade fármaco-excipiente, pois tais informações eram estritamente industriais sem divulgação científica.

O estudo de pré-formulação mostrou ser uma etapa muito importante na caracterização do IFA quanto suas características físico-químicas e físicas e apesar de trabalhoso dá maior consistência ao estudo de formulação evitando retrabalhos futuros como já foi à experiência da própria empresa onde este trabalho foi majoritariamente desenvolvido.

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a importância da qualificação de fornecedores de matéria-prima, já que as características físico-químicas e físicas das matérias-primas influenciam diretamente a qualidade, segurança e eficácia do produto formulado.

O ensaio de solubilidade do diazepam seguindo critérios da classificação biofarmacêutica de Amidon permitiu classificá-lo como um fármaco pertencente à classe I com alta solubilidade em diferentes meios. Entretanto, foi observado que este fármaco pode sofrer degradação em meio ácido por uma reação de hidrólise ácida.

O diazepam pode ser caracterizado como um fármaco cristalino que não apresenta polimorfismo e compatível com os excipientes mais utilizados no processo de compressão direta (amido glicolato de sódio, amido de milho parcialmente pré-gelatinizado, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio, lactose monohidratada spray-dried e talco).

Em relação ao desenvolvimento farmacotécnico, foi observado que a moagem do IFA diminui o tamanho de partícula e pode melhorar o perfil de dissolução fornecendo resultados melhores do que os resultados do medicamento referência. Neste desenvolvimento, foi alcançada a melhora do perfil de dissolução do produto

diazepam 10mg comprimidos baseado nos resultados do estudo de pré-formulação do ativo e da melhor escolha dos excipientes da formulação.

A partir dos resultados satisfatórios obtidos no desenvolvimento farmacotécnico pode ser realizada a produção de três lotes pilotos que apresentaram resultados reprodutíveis e de acordo com as especificações descritas nos compêndios farmacêuticos.

De acordo com os resultados do cálculo do fator de semelhança dos lotes pilotos pode ser observada uma possível equivalência farmacêutica entre o medicamento teste e o medicamento referência, que foi confirmada com o estudo de equivalência e o estudo de bioequivalência farmacêutica em centro oficial.

O estudo de correlação *in vitro-in vivo* nível C múltiplo dos medicamentos referência e teste forneceu uma boa correlação entre os dados obtidos *in vitro* com os dados obtidos *in vivo* das formulações analisadas. Entretanto, esta correlação foi obtida em meio não farmacopeico de tampão acetato pH 4,5, o qual pode ser indicado para uso nos ensaios de dissolução no re-desenvolvimento do produto assim como para ser submetido a validação analítica.

Portanto, o presente trabalho promoveu a caracterização físico-química do fármaco diazepam e um estudo completo de re-desenvolvimento do produto diazepam 10mg comprimidos fornecendo informações importantes sobre o fármaco modelo, não relatadas anteriormente na literatura. Além disso, este trabalho forneceu informações sobre as etapas necessárias para um bom desenvolvimento de produtos farmacêuticos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABBARA, C.; ROUSSEAU, J. M.; TURCANT, A.; LALLEMENT, G.; COMETS, E.; BARDOT, I.; CLAIR, P.; DIQUET, B. Bioavailability of diazepam after intramuscular injection of its water soluble prodrug alone or with atropine-pralidoxime in healthy volunteers. *British Journal of Pharmacology* v. 157, p. 1390-1397, 2009.

ABDELBARY, G.; FAHMY, R. H. Diazepam-loaded solid lipid nanoparticles: design and characterization. *AAPS PharmSciTech* v. 10, n. 1, p. 211-219, 2009.

ABED, K. K.; HUSSEIN, A. A.; GHAREEB, M. M.; ABDULRASOOL, A. A. Formulation and optimization of orodispersible tablets of diazepam. *AAPS PharmSciTech* v. 1, n. 1, p. 356-361, 2010.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P. V.; PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Solid-state characterization of rifampicin samples and biopharmaceutic relevance. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* v. 22, p. 127-144, 2004.

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raio-X. *Cerâmica* v. 48, n. 305. p. 34-37, 2002.

ALBINI, A.; FASANI, E. *Photochemistry and photostability drugs*, Ed. Royal Society of Chemistry, Grã-Bretanha, 1998.

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

ANGIOLUCCI, T.; JUNIOR, J. M. O.; CHAUD, M. V.; ARANHA, N.; FILHO, N. A. Estudos de propriedades físico-químicas envolvidas no processo de compactação de uma formulação experimental contendo zidovudina. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* v. 33, n. 2, p. 233-243, 2012.

ANSEL, H.C; POPOVICH, N.G.; ALLEN, L. V. *Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos*, 8ª Ed., São Paulo, Artmed, 2007.

ANVISA, Lista "A" de medicamentos de referência. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c090d580474591ac999fdd3fbc4c6735/lista+16-01-2012+LISTA+DE+MED+REFER%C3%8ANCIA_A.pdf?MOD=AJPERES
Acesso em: 25 de janeiro de 2012.

ANVISA. *O que devemos saber sobre medicamentos*, Brasília, 2010.

ARAÚJO, L.U.; ALBUQUERQUE, K. T.; KATO, K. C.; SILVEIRA, G. S.; MACIEL, N. R.; SPÓSITO, P. A.; BARCELLOS, N. M. S.; SOUZA, J.; BUENO, M.; STORPIRTIS, S. Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. *Revista Panamericana de Salud Pública* v. 28, n. 6, p. 480-492, 2010.

ATILA C.; YILDIZ, N.; ÇALIMLI, A. Particle size design of digitoxin in supercritical fluids. *Journal of Supercritical Fluids* v. 51, p. 404-411, 2010.

AULTON, M.E. *Delineamento de formas farmacêuticas*, 2ª Ed., São Paulo, Artmed, 2005.

BALAN, G.; TIMMINS, P.; GREENE, D. S.; MARATHE, P. H. In vitro-in vivo correlation (IVIVC) models for metformin after administration of modified-release (MR) oral dosage forms to healthy human volunteers. *Journal of Pharmaceutical Sciences* v. 90, n. 8, p. 1176-1185, 2001.

BAPTISTA, E. B. *Estudo da correlação in vivo/in vitro empregando comprimidos de glibencamida não equivalentes*, 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

BAZZO, G. C.; SILVA, M. A. S. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* v. 41, n. 3, p. 315-322, 2005.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Química Nova* v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BONAMICI, D. *Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenções*, 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Orientadora: Cristina Helena dos Reis Serra.

BONIATTI, J.; PITALUGA, A. Jr.; SEICEIRA, R. C. Avaliação de diferentes tensoativos não iônicos na análise de distribuição granulométrica do insumo farmacêutico diazepam por espalhamento de luz laser. In: 5º ENIFARMED, 2011, São Paulo. Pôster. São Paulo, 2011.

BULHOES, G. P.; ANDENA, M. B.; DIAS, I. L. T. Avaliação da uniformidade de conteúdo de cápsulas de ácido mefenâmico produzidas em pequena escala. *Revista Multidisciplinar da Saúde* v. 6, p. 15-30, 2011.

BRASIL. Lei 9787 de 10 de fevereiro de 1999. Lei de medicamentos genéricos no Brasil. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19787.htm
Acesso em: 13 de setembro de 2013.

BRASIL. Resolução RE nº 482 de 19 de março de 2002. Guia para estudos de correlação in vitro-in vivo (CIVIV). Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/resolucoes/2002/482_02re.html
Acesso em: 19 de junho de 2013.

BRASIL. Resolução RE nº 1 de 29 de Julho de 2005. Guia para realização de estudos de estabilidade. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf Acesso em: 20 de outubro de 2011.

BRASIL. Resolução RE nº 1170 de 19 de abril de 2006. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. Disponível em: <http://www.icflab.com.br/site/arquivos/downloads/resolucao-re-n-1-8713014.pdf> Acesso em: 20 de janeiro de 2014.

BRASIL. Instrução Normativa nº 2 de 30 de março de 2009. Guia para notificação de lotes pilotos de medicamentos. Disponível em: <http://www.icflab.com.br/site/arquivos/downloads/instrucao-normativa-n-2-de-30-de-marco-de-2009-17141090.pdf> Acessado em: 14 de abril de 2014.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 5.2.11. Determinação da granulometria de pós, p. 92, 2010a.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 5.2.27. Análise térmica, p.146-148, 2010b.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 4. Generalidades, p. 57, 2010c.

BRASIL. Resolução – RDC nº 31 de 11 de Agosto de 2010. (2010d) Requisitos para a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0031_11_08_2010.html
Acesso em: 10 de dezembro de 2011.

BRASIL. FARMACOPEIABRASILEIRA, 5ª ed., parte 2. Diazepam comprimidos, p.902-903, 2010e.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 5.1. Determinação de peso, p. 59-60, 2010f.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 5.1.3. Determinação de resistência mecânica aos comprimidos, p. 62-63, 2010g.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª ed., parte 1, 5.1.4. Testes de desintegração, p. 63-65, 2010h.

BRASIL. Resolução – RDC nº 37 de 3 de Agosto de 2011. Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0037_03_08_2011.html

Acesso em: 20 de janeiro de 2014.

BRITTAIN, H.G. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids (Drugs and the Pharmaceutical Sciences), New York, Marcel Dekker, v. 70, 1995.

CABRERA, C. G.; WAISBAUM, R. G.; NUDELMAN, S. Kinetics and mechanistic studies on the hydrolysis and photodegradation of diazepam and alprazolam. *Journal of Physical Organic Chemistry* v. 18, p. 156-161, 2005.

CARDOT, J. M.; BEYSSAC, E.; ALRIC, M. In vitro-in vivo correlation: Importance of dissolution in IVIVC. *Dissolution Technologies*, p. 15-19, 2007.

CASTRO, A. D.; VICENTE, J. A.; MOURÃO, S. C.; BUENO, J. H. F.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIÃO, M. P. D. Efeito da concentração de amido de milho na liberação de paracetamol de comprimidos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* v. 39, n.3, p. 289-297, 2003.

CHEMIDPLUS. United States National Library of Medicine. Disponível em: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>.

Acesso em: 08 de junho de 2011.

CHEW, N. Y. K.; CHAN, H. K. Effect of powder polydispersity on aerosol generation. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* v. 5, n. 2, p. 162-168, 2002.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 55, p. 618–644, 2011.

CHOUDHARI, K. B.; SANGHAVI, N. M. Dissolution behaviour and characterization of diazepam-Pullulan coground mixtures. *International Journal of Pharmaceutics* v. 89, p. 207-211, 1993.

CLARRYSE, S.; PSACHOULIAS, D.; BROUWERS, J.; TACK, J.; ANNAERT, P.; DUCHATEAU, G.; REPPAS, C.; AUGUSTIJNS, P. Postprandial changes in solubilizing capacity of human intestinal fluids for BCS class II drugs. *Pharmaceutical Research* v. 26, n. 6, p. 1456-1466, 2009.

CLAS, S. D.; DALTON, C. R.; HANCOCK, B. C. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science and Technology Today (PSTT)* v. 2, n.8, p. 311-320, 1999.

CONNORS, K. A.; AMIDON, G. L.; STELLA, V. J. *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists*. 2^a Ed., Editora Wiley, 1986.

DAHLBERG, C.; MILLQVIST-FUREBY, A.; SCHULEIT, M.; FURÓ, I. Relationships between solid dispersion preparation process, particle size and drug release – An NMR and NMR microimaging study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 76, p. 311-316, 2010.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras – matérias poliméricos, metálicos e semicondutores, Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007.

DEMİRTÜRK, E.; ÖNERM L. In vitro-in vivo correlations, *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences* v. 28, p. 215-224, 2003.

DIAS, S. T. *Estudo de técnica de recobrimento de cristais de rifampicina com excipientes hidrofílicos visando aumento da velocidade de dissolução*, 2009. Dissertação (Mestrado em Processos Industriais) – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, São Paulo 2009.

DOUSA, M.; GIBALA, P.; HAVLÍČEK, J.; PLACEK, L.; TKADLECOVÁ, M.; BRICHÁČ, J. Drug-exciipient compatibility testing—Identification and characterization of degradation products of phenylephrine in several pharmaceutical formulations against the common cold. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 55, p. 949-956, 2011.

EATMAN, F. B.; COLBURN, W. A.; BOXENBAUM, H. G.; POSMANTER, H. N.; WEINFELD, R. E.; RONFELD, R.; WEISSMAN, L.; MOORE, J. D.; GIBALDI, M.; KAPLAN, S. A. Pharmacokinetics of diazepam following multiple dose oral administration to healthy human subjects. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* v. 5, n. 5, p. 481-494, 1977.

EL-MASSIK, M. A.; DARWISH, I. A.; HASSAN, E. E.; EL-KHORDAGUI, L. K. Development of a dissolution medium for glibenclamide. *International Journal of Pharmaceutics* v. 140, p. 69- 76, 1996.

ELSHAER, A.; HANSON, P.; MOHAMMED, A. R. A systematic and mechanistic evaluation of aspartic acid as filler for directly compressed tablets containing trimethoprim and trimethoprim aspartate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 83,p. 468-476, 2013.

EMANI, J. *In vitro-in vivo* correlation: from theory to applications. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* v. 9, n. 2, p. 31-51, 2006.

EMERY, E.; OLIVER, J.; PUSGLEY, T.; SHARMA, J.; ZHOU, J. Flowability of moist pharmaceutical powders. *Powder Technology* v. 189, p. 409-415, 2009.

FARMANGUINHOS. Farmanguinhos/Fiocruz. Disponível em: http://www2.far.fiocruz.br/farmanguinhos/index.php?option=com_content&view=article&id=61:instituto&catid=41:instituto&Itemid=76. Acesso em: 13 de setembro de 2013.

FERNANDES, T. R. P. *Desenvolvimento farmacotécnico e validação de metodologia analítica para comprimidos revestidos à base de diclofenaco de potássio*, 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), Guidance for industry – Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Rockville, p. 1-16, 2000.

FORSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; TUCKER, I.; RADES, T. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis. *International Journal of Pharmaceutics* v. 226, p. 147-161, 2001.

GENNARO, A. F. *Remington- A ciência e a prática da Farmácia*. 20^a Ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2004.

GHOROI, C. GURUMURTHY, L.; McDANIEL, D. J.; JALLO, L. J.; DAVÉ, R. N. Multi-faceted characterization of pharmaceutical powders to discern the influence of surface modification. *Powder Technology* v. 236, p. 63-74, 2013.

GHUGARE, P.; DONGRE, V.; KARMUSE, P.; RANA, R.; SIGNH, D.; KUMAR, A.; FILMWALA, Z. Solid state investigation and characterization of the polymorphic and pseudopolymorphic forms of indapamide. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 51, p. 532-540, 2010.

GIRI, T. K.; SA, B. Preparation and evaluation of rapidly disintegrating fast release tablet of diazepam-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex. *Pharmacology & Pharmacy* v.1, p. 18-26, 2010.

GIRON, D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 4, p. 755–770, 1986.

GOBBO, L. A., *Os compostos do Clínquer Portland: sua caracterização por difração de raios-X e quantificação por refinamento de Rietveld*, 2003. Dissertação (Mestrado em Recursos Minerais e Hidrogeologia) – Universidade de São Paulo, 2003.

GOHEL, M. C.; JOGANI, P. D. A review of co-processed directly compressible excipients. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* v. 8, n. 1, p. 76-93, 2005.

GOLDSTEIN, J.; NEWBURY, D.; ECHIL, P.; JOY, D.; LYMAN, C.; LIFSHIN, E.; SAWER, L.; MICHAEL, J. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*, Third Edition, Plenum Press; New York, 1992.

GRANULATE FLOW TEST, ERWEKA. Disponível em: <http://www.erweka.com/en/products/gt.html> Acesso em: 13 de setembro de 2013.

GUNASEKARAN, S.; KUMAR, R. T.; PONNUSAMY, S. Vibrational spectra and normal coordinate analysis of diazepam, phenytoin and phenobarbitone. *Spectrochimica Acta Part A* v. 65, p.1041-1052, 2006.

HADŽIABDIĆ, J.; ELEZOVIĆ, A.; HADŽOVIĆ, S.; VEHABOVIĆ, M. The solubility-intrinsic dissolution rate of diazepam and inclusion complexes diazepam with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Science, Technology and Society* v.1, n.1, p. 24-35, 2013.

HAMAD, M. L.; BOWMAN, K.; SMITH, N.; SHENG, X.; MORRIS, K. R. Multi-scale pharmaceutical process understanding: From particle to powder to dosage form. *Chemical Engineering Science* v. 65, p. 5625-5638, 2010.

HINTZ, R. J.; JOHNSON, K. C. The effect of particle size distribution on dissolution rate and oral absorption. *International Journal of Pharmaceutics* v. 51, p. 9-17, 1989.

HÖRTER, D.; DRESSMAN, J. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews* v. 46, p. 75-87, 2001.

HUANG, C.Y.; KU, M. S. Prediction of drug particle size and content uniformity in low-dose solid dosage form. *International Journal of Pharmaceutics* v. 383, p. 70-80, 2010.

INOMATA, S.; NAGASHIMA, A.; ITAGAKI, F.; HOMMA, M.; NISHIMURA, M.; OSAKA, Y.; OKUYAMA, K.; TANAKA, E.; NAKAMURA, T.; KOHDA, Y.; NAITO, S.; MIYABE, M.; TOYOOTTA, H. CYP2C19 genotype affects diazepam pharmacokinetics and emergence from general anesthesia. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* v. 78, p. 647-655, 2005. Disponível em: http://www.nature.com/clpt/journal/v78/n6/fig_tab/clpt2005539f1.html

JINNO, J.; KAMADA, N.; MIYAKE, M.; YAMADA, 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* v. 111, p. 56-64, 2006.

JIVRAJ, M.; MARTINI, L. G.; THOMSON, C. M. An overview of the different excipients useful for direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science Technology Today* v. 3, n. 2, p. 58-63, 2000.

KAIALY, W.; LARHRIB, H.; CHIKWANHA, B.; SHOJAEI, S.; NOKHODCHI, A. An approach to engineer paracetamol crystals by antisolvent crystallization technique in presence of various additives for direct compression. *International Journal of Pharmaceutics* v. 464, p. 53-64, 2014.

KATZUNG, B. G. *Farmacologia básica & clínica*. 9ª Ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2005.

KIPPAX, P. Measuring Particle Size Using Modern Laser Diffraction Techniques. *Paint & Coatings Industry*, 2005. Disponível em [http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000930/\\$file/MRK696-01.pdf](http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000930/$file/MRK696-01.pdf)
Acesso em: 29 de setembro de 2011.

KEIN, S.; SHAH, V. P. A standardized mini paddles apparatus as an alternative to the standard paddle. *AAPS PharmSciTech* v.9, n. 4, p. 1179-1184, 2008.

KLOTZ, U.; ANTONIN, K. H.; BIECK, P. R. Comparison of the pharmacokinetics of diazepam after single and subchronic doses, *European Journal of Clinical Pharmacology* v. 10, p. 121-126, 1976.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANIG, J. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*, Lisboa, Fundação Calouste, 2001.

LAU, E. Preformulation studies. *Separation Science and Technology* v. 3, p. 173-233, 2001.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solids dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 50, p. 47-60, 2000.

LI, Z. Q.; HE, X.; GAO, X.; XU, Y. Y.; WANG, Y. F.; GU, H.; JI, R. F.; SUN, S. S. Study on dissolution and absorption of four dosage forms of isosorbide mononitrate: Level A in vitro-in vivo correlation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 79, p. 364-371, 2011.

LIARUANGRATH, S.; MAKCHIT, J.; LIARUANGRATH, B. A simple flow injection spectrophotometric procedure for the determination diazepam in pharmaceutical formulation. *Analytical Sciences* v. 22, p. 127-130, 2006.

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 58, p. 265-278, 2004.

MAHLE, F.; GOELZER, F.; ADRIANO, J.; FELIPPE, M.; VIER, N.; CARLI, R. B. G.; ROSA, T.; COUTO, A. G.; LUCINDA-SILVA, R. M. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* v. 28, n. 3, p. 265-271, 2007.

MANOGAR, P. G.; HARI, B. N. V.; DEVI, D. R. Emerging liquid solid compact technology for solubility enhancement of BCS class-II drug. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* v. 3, n. 12, p. 1604-1611, 2011.

MATOS, A. P. S. *Estudos de compatibilidade fármaco-excipiente e sua importância no desenvolvimento de formulações farmacêuticas*, 2012. Monografia (Especialização *lato sensu* em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) – Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos, 2012.

MAXIMILIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y.; SOUZA, J.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. *Química Nova* v. 33, n.8, p. 1714-1719, 2010.

MEDEIROS, A. C. D.; CERVANTES, N. A. B.; GOMES, A. P. B.; MACÊDO, R. O. Thermal stability of prednisone drug and tablets. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* v. 64, p. 745-750, 2001.

MIELCAREK, J.; NOWAK, D. M.; PAJZDERSKA, A.; PEPLINSKA, B.; WASICKI, J. A hybrid method for estimation of molecular dynamics of diazepam-density functional theory combined with NMR and FT-IR spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics* v. 404, p. 19-26, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Relação de medicamentos essenciais, 7ª Ed., Brasília, 2010.

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

MONAJJEMZADEH, F.; HASSANZADEH, D.; VALIZADEH, H.; SIASHI-SHADBAD, M. R.; MOJARRAD, J. S.; ROBERTSON, T. A.; ROBERTS, M. S. Compatibility

studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v.73, p. 404-413, 2009.

MOREIRA, G. F.; BALBO, A.; ACHETE, C. A.; BARIN, J. S.; WOLLINGER, W.; NOGUEIRA, R.; BITTENCOURT, C. F.; RODRIGUES, J. M. Aplicação da calorimetria exploratória diferencial (DSC) para determinação de pureza de fármacos. *Produto & Produção – Edição Metrologia* v. 11, n. 1, p. 22-29, 2010.

MORIN, G.; BRIENS, L. The effect of lubricants on powder flowability for pharmaceutical application. *AAPS PharmSciTech* v. 14, n. 3, p. 1158-1168, 2013.]

MOROS, J.; GARRIGUES, S.; de La GUARDIA, M. Quality control Fourier transform infrared determination of diazepam in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 43, p. 1277-1282, 2007.

MURA, P.; FAUCCI, M. T.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 18, p. 151-163, 1998.

NAKANO, M.; INOTSUME, N.; KHORI, N.; ARITA, T. Reversible ring-opening reaction of diazepam in acid media around body temperature. *International Journal of Pharmaceutics* v. 3, p. 195-204, 1979.

NARANG, A. S.; RAO, V.M.; RAGHAVAN, K.S., *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice, Excipient Compatibility*, p. 125-145, Elsevier, 2009.

NERY, C. G. C.; PIRES, M. A. S.; PIANETTI, G. A.; VIANNA-SOARES, C. D. Caracterização do fármaco hipoglicemiante glibenclamida. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* v. 44, n. 1, p. 61-73, 2008.

NOH, D. I.; PARK, K. N.; CHUN, H. J.; PARK, C. W.; JANG, J. W.; AHN, Y. G. Compatibility of diazepam with polypropylene multilayer infusion container. *Macromolecular Research* v. 17, n. 7, p. 516-521, 2009.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; MUSSEL, W. N.; VIANNA-SOARES, C. D.; PIANETTI, G. A. Análise térmica aplicada à caracterização da simvastatina em formulações farmacêuticas. *Química Nova* v. 33, n. 8, 1653-1657, 2010.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; LIMA GOMES, E. C. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova* v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N. S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. *International Journal of Pharmaceutics* v. 201, p. 131-150, 2000.

PAPINI, C. J. *Estudo comparativo de métodos de partículas de determinação do tamanho de partícula*. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear - Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo, 2003.

PETEREIT, A.; SAAL, C. What is the solubility of my compound? Assessing solubility for pharmaceutical research and development compounds. *American Pharmaceutical Review*, 2011. Disponível em: <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/36993-What-is-the-Solubility-of-My-Compound-Assessing-Solubility-for-Pharmaceutical-Research-and-Development-Compounds/>

Acesso em: 20 de janeiro de 2013.

PORTE, L. H. M.; LEÃO, M. H. M. R.; PORTE, A. Avaliação de porosidade de microcápsulas contendo proteína bioativa por porosimetria de mercúrio e adsorção de nitrogênio. *Química Nova* v. 34, n. 9, p. 1582-1587, 2011.

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

ROUINI, M. R.; ARDAKANI, Y. H.; MOGHADDAM, K. A.; SOLATANI, M. F. An improved HPLC method for rapid quantification of diazepam and its major metabolites in human plasma. *Talanta* v. 75, p. 671-676, 2008.

SÁNCHEZ-SOTO, P. J.; GINÉS, J. M.; RABASCO, A. M.; JUSTO, A.; PÉREZ RODRÍGUEZ, J. L. Thermal study of diazepam-poly(ethylene glycol) 6000 solid dispersion. *Thermochimica Acta* v. 158, p. 225-234, 1990.

SARRAGUÇA, M. C.; CRUZ, A. V.; SOARES, S. O.; AMARAL, H. R.; COSTA, P. C.; LOPES, J. A. Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 52, p. 484-492, 2010.

SCHMITT, E. A.; PECK, K.; SUN, Y.; GEOFFROY, J. M. Rapid, practical and predictive excipient compatibility screening using isothermal microcalorimetry. *Thermochimica Acta* v. 380, p. 175-183, 2001.

SHAH, R. B.; TAWAKKUL, M. A.; KHAN, M. A. Comparative evaluation of flow for pharmaceutical powders and granules. *AAPS PharmSciTech* v. 9, n. 1, p. 250-258, 2008.

SILA-ON, W.; VARDHANABHUTI, N.; ONGPIPATTANAKUL, B.; KULVANICH, P. Influence of incorporation methods on partitioning behavior of lipophilic drugs into various phase of a parenteral lipid emulsion. *AAPS PharmSciTech* v. 9, n.2, p. 684-692, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric identification of organic compounds*, 7ª Ed., Estados Unidos da América, John Willey & Sons, 2005.

SINGH, A. V.; NATH, L. K. Evaluation of compatibility of lamivudine with tablet excipients and novel synthesized polymer. *Journal of Materials and Environmental Science* v. 2, n. 3, p. 243-250, 2011.

SK HOLDINGS CO. LTD. Yong-Moon Choi & Known-Ho Kim. Transnasal microemulsions containing diazepam CA 2529489, 15 junho 2004, 23 dezembro 2004. Disponível em: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=CA&NR=2529489C&KC=C&FT=D&ND=1&date=20120103&DB=&locale=en_EP
Acessado em: 13 de setembro de 2013.

SOARES, L. A. L.; PETROVICK, P. R. Física da Compressão. *Caderno de Farmácia* v. 15, n. 2, p. 65-79, 1999.

SOLTANPOUR, S.; JOUYBAN, A. Solubility of lamotrigine and diazepam in propylene glycol + water + carboxymethyl cellulose at a temperature of 298.2 K. *Journal of Chemical & Engineering Data* v. 55, p. 2890-2893, 2010.

SOLTANPOUR, S.; PANAHI-AZAR, V.; TAHERI, A.; BASTAMI, Z.; JOUYBAN, A. Solubility data of diazepam in binary and ternary mixtures of PEGs 200 and 400 with N-methyl pyrrolidone and water at 298.2K: Experimental data and modeling. *Journal of Solution Chemistry* v. 42, p. 2281-2295, 2013.

SOUZA, J. S.; FERRÃO, M. F. Aplicações de espectroscopia de infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: Dosagem por regressão multivariada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* v. 42, n.3, p. 437-445, 2006.

STEELE, G. Preformulation as an aid to product design in early drug development. In: GIBSON, M. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation – A practical guide from candidate drug selection to commercial dosage form*. Drug and the Pharmaceutical Sciences. Nova Iorque. Informa Healthcare USA, Inc. 2ª Ed., 2009, p. 188-246.

STEVENS, P.; GYPEN, L. Wettability of powders. *Pharmaceutics Development* v. 51, p. 150-155, 1974.

STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILANOVA, C. M. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. *Infarma* v. 16, nº 9-10, p. 51-56, 2004.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. *Biofarmacotécnica*, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2011.

ŠTRAC, D.; VLAINIĆ, J.; JEMBREK, M.; PERIČIĆ, D. Differential effects of diazepam treatment and withdrawal on recombinant GABA_A receptor expression and functional coupling. *Brain Research* v. 1246, p. 29-40, 2008.

STULZER, H. K.; RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. M.; MATOS, J. S. R.; SILVA, M. A. S. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* v. 91, n. 1, 323-328, 2008.

SUGIMOTO, M.; OKAGAKI, T.; NARISAWA, S.; KOIDA, Y.; NAKAJIMA, K. Improvement of dissolution characteristics and bioavailability of poorly water-soluble drugs by novel cogrinding method using water-soluble polymer. *International Journal of Pharmaceutics* v. 160, p. 11-19, 1998.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* v. 56, p. 221-227, 2011.

THOMAS, V. H.; NAATH, M. Design and utilization of the drug-excipient chemical compatibility automated system. *International Journal of Pharmaceutics* v. 359, p. 150-157, 2008.

UNITED STATES PHARMACOPEIA 35, vol.1, Bulk density and tapped density of powders, p.255-258, 2012a.

UNITED STATES PHARMACOPEIA 35, vol. 1, Powder Flow, p. 801-803, 2012b.

UNITED STATES PHARMACOPEIA 35, vol.1, Buffer solutions, p. 1067-1068, 2012c.

UNITED STATES PHARMACOPEIA 35, vol. 2, Diazepam, p. 2868-2869, 2012d.

VERHEYEN, S.; BLATON, N.; KINGET, R.; VAN DER MOOTER, G. Mechanism of increased dissolution of diazepam and temazepam from polyethylene glycol 6000 solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics* v. 249, p. 45-58, 2002.

VERMA, R. K.; GARG, S. Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis v. 35, p. 449-458, 2004.

VIANNA, O. S.; JÚNIOR, J. B.; SILVA, R. M. F.; MEDEIROS, F. P. M.; JÚNIOR, S. G.; ALBUQUERQUE, M. M.; NETO, P. J. R. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de obtenção de comprimidos revestidos de efavirenz – terapia anti-HIV. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* v. 42, n. 4, p. 505-511, 2006.

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

VIÇOSA, A. L.; CHATAH, E. N.; SANTOS, T. C.; JNR, L. F. J.; DANTAS, C. B.; DORNELAS, C. B.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C.; SOUZA, V. P.; DIAS, L. R. S.; CABRAL, L. M. Bioequivalence studies and sugar-based excipients effects on the properties of new generic ketocanazole tablets formulations and stability evaluation by using direct compression method. *Pharmaceutical Development and Technology* v. 14, n. 5, p. 530-539, 2009.

VIÇOSA, A.L. *Preparo, caracterização e desempenho de sistemas poliméricos nanoestruturados com ação tuberculostática*. 2010. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

VILLANOVA, J. C. O.; AYRES, E.; ORÉFICE, R. L. Design of prolonged release tablets using new solid acrylic excipients for direct compression. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* v. 79, p. 664-673, 2011.

VOLPATO, N. M.; SILVA, R. L.; BRITO, A. P. P.; GONÇALVES, J. C. S.; VAISMAN, M.; NOEL, F. Multiple level C in vitro/in vivo correlation of dissolution profiles of two l-tyrosine tablets with pharmacokinetics data obtained from patients treated for hypothyroidism. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* v. 21, p.655-660, 2004.

WEST, C. E.; ROWLAND, S. J. Aqueous phototransformation of diazepam and related human metabolites under simulated sunlight. *Environmental Science & Technology* v. 46, p. 4749-4756, 2012.

WILSON, W. I.; PENG, Y.; AUGSBURGER, L. L. Comparison of statistical analysis and Bayesian networks in the evaluation of dissolution performance of BCS class II model drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences* v.94, n. 12, p. 2764-2776, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, *WHO Model list of essential medicines*, 17^a Ed., 2011.

YU, L. X.; AMIDON, G. L.; POLLI, J. E.; ZHAO, H.; MEHTA, M. U.; CONNER, D. P.; SHAH, V. P.; LESKO, L. J.; CHEN, M. L.; LEE, V. H. L.; HUSSAIN, A. S. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. *Pharmaceutical Research* v. 19, n. 7, p.921-925, 2002.

ZAKI, N. M.; ARTURSSON, P.; BERGSTRÖM, C. A. S. A modified physiological BCS for prediction of intestinal absorption in drug discovery. *Molecular Pharmaceutics* v. 7, n. 5, p. 1478-1487, 2010.

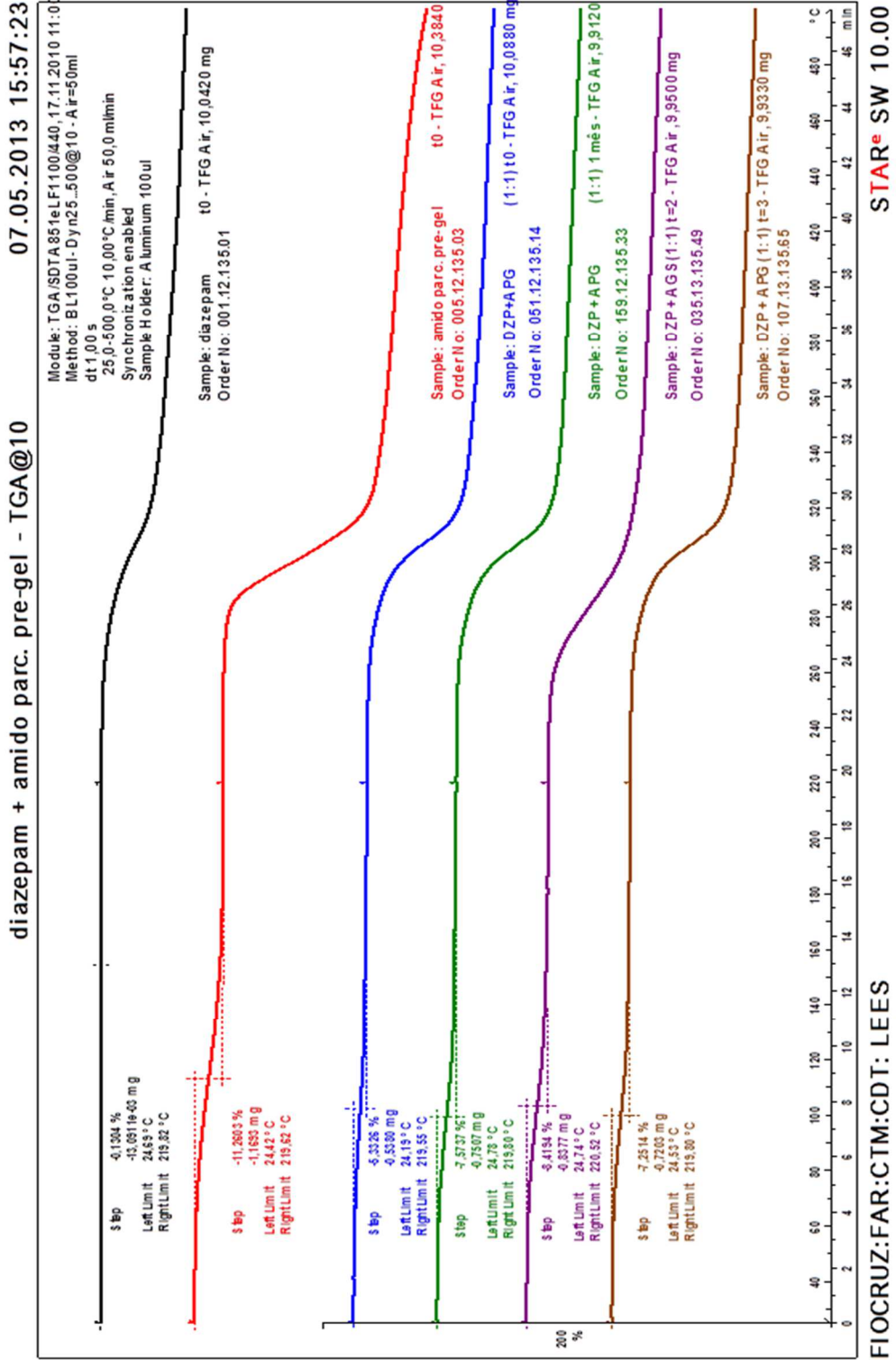
ZAYED, M. A.; FAHMEY, M. A.; HAWASH, M.F. Investigation of diazepam drug using thermal analyses, mass spectrometry and semi-empirical MO calculation. *Spectrochimica Acta Part A* v. 61, p. 799-805, 2005.

8. ANEXOS:

Anexo 1

Estudo de compatibilidade (Resultados de análise térmica e infravermelho)

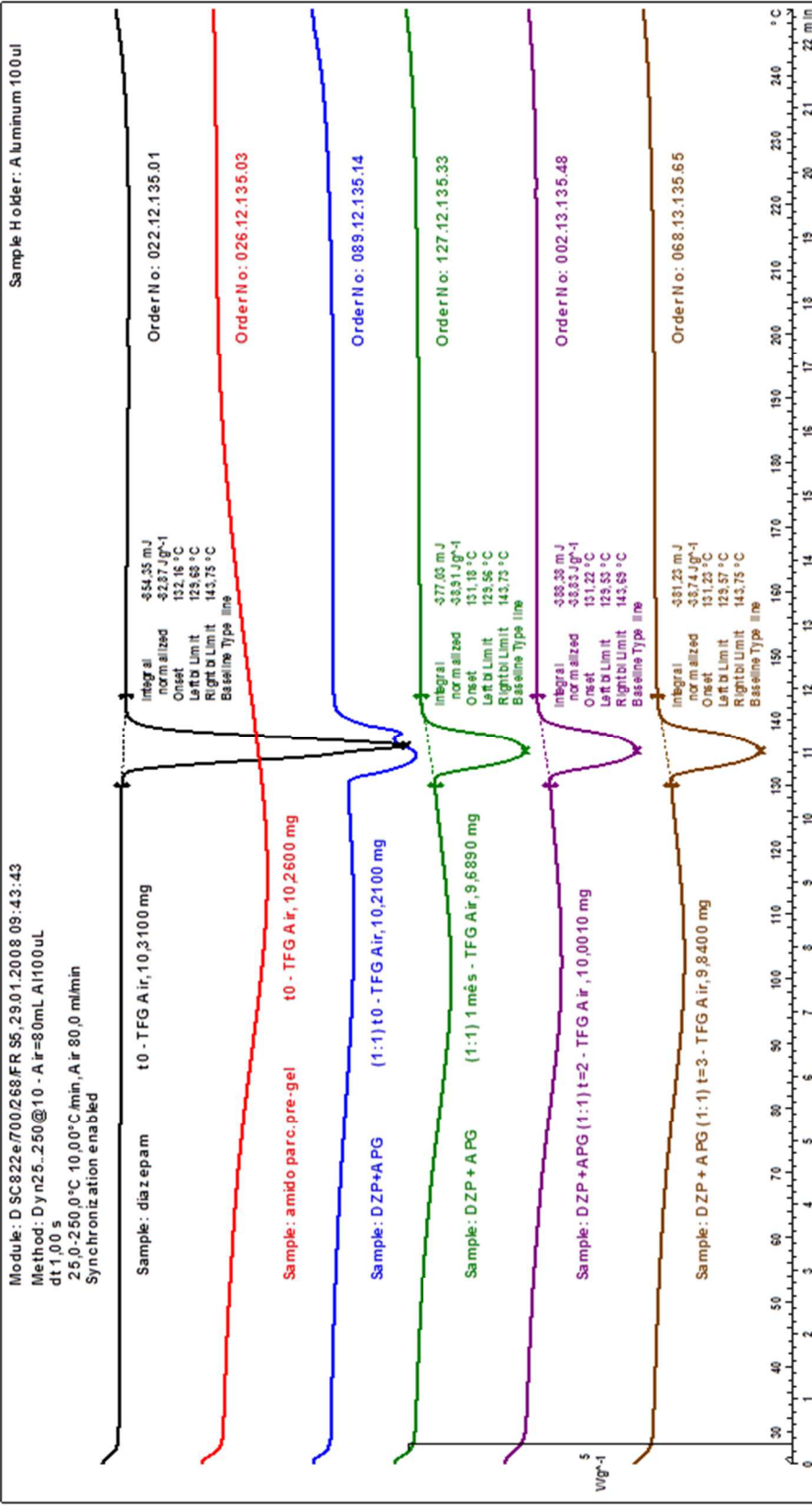
Mistura Diazepam + Amido parcialmente pré-gelatinizado (DZP+APG)



exo

diazepam + amido parc. pre-gel - DSC@10

25.03.2013 09:25:21



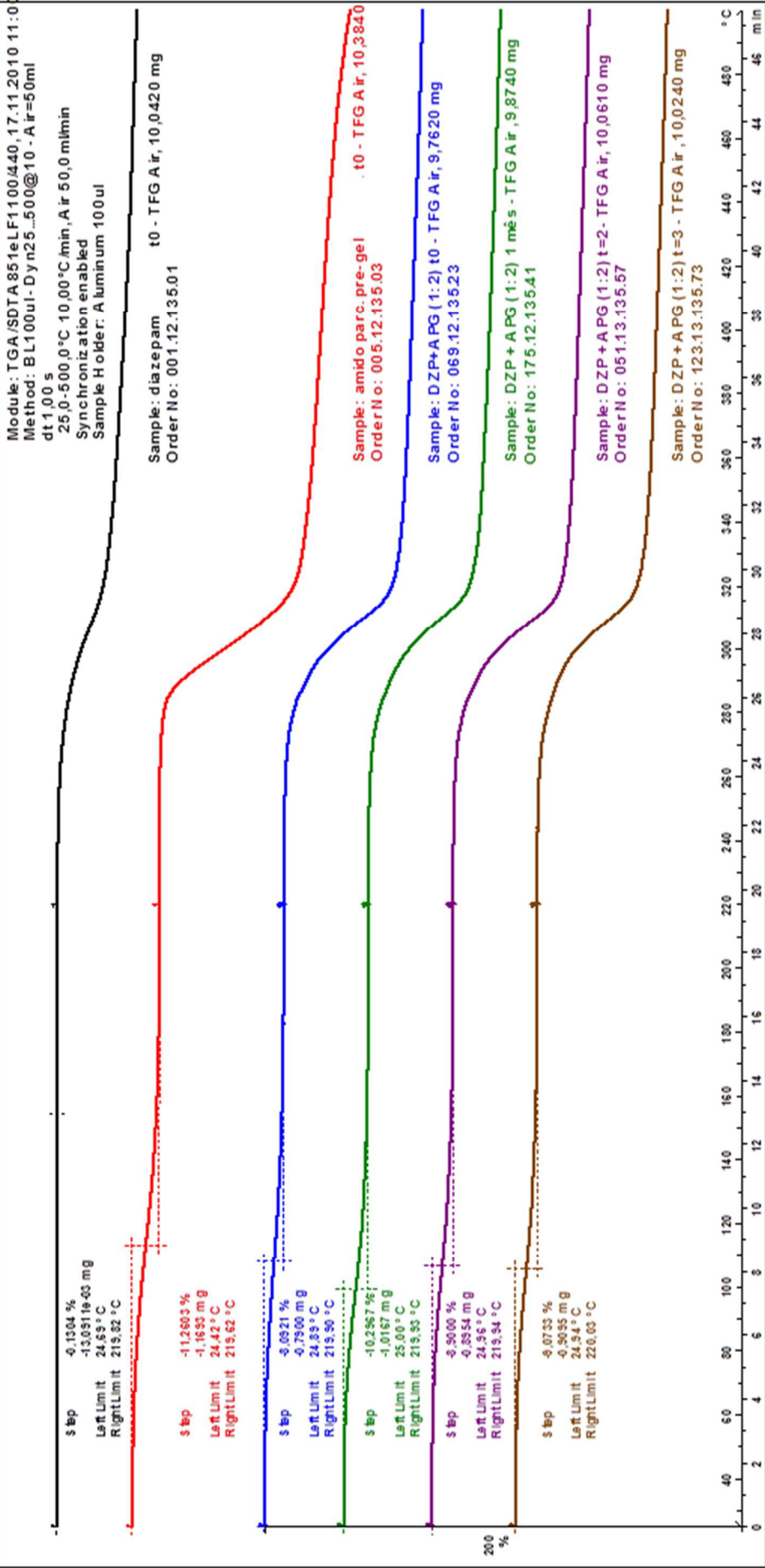
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00

diazepam + APG (1:2) - TGA@10

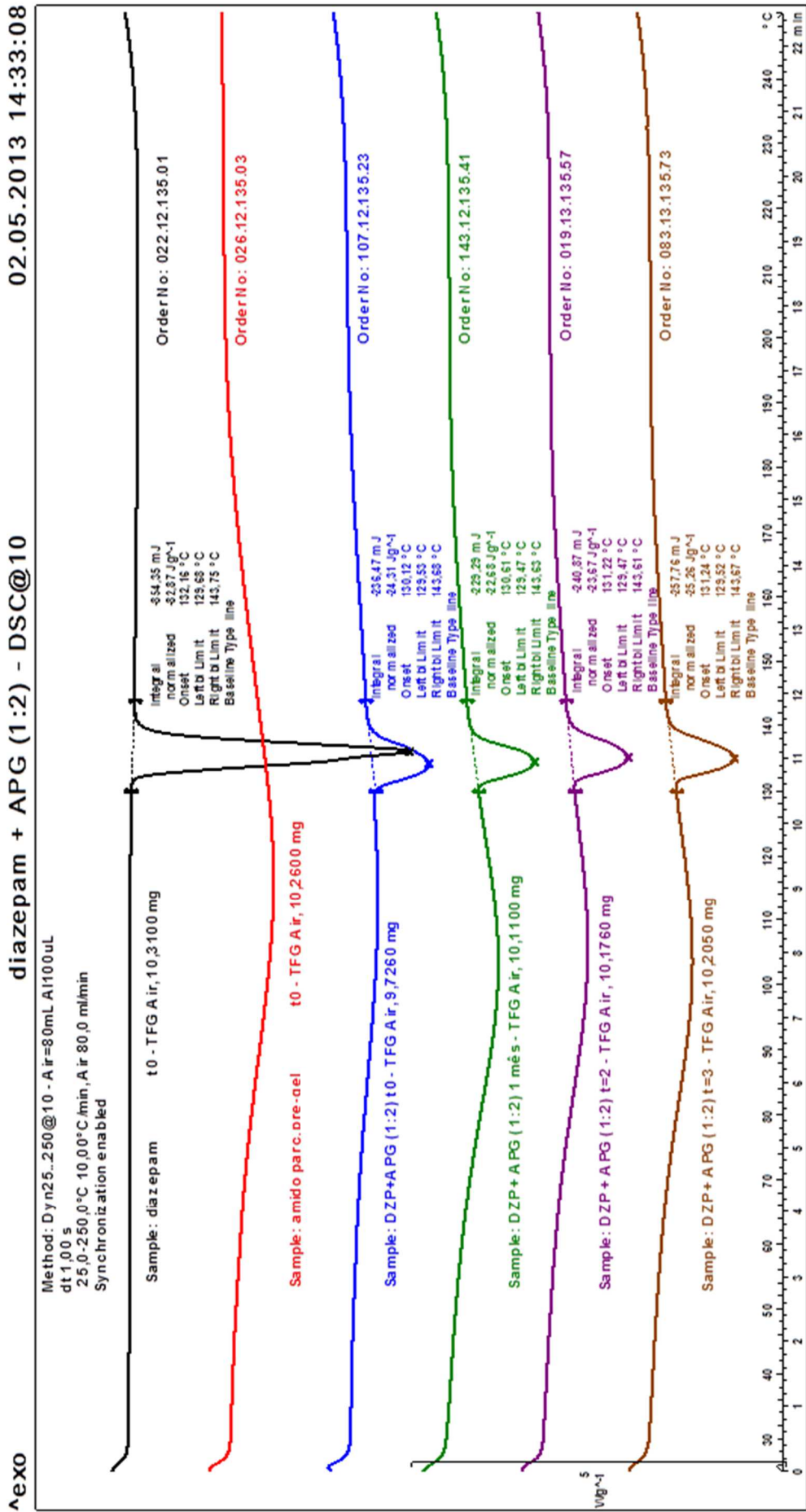
09.05.2013 14:37:28

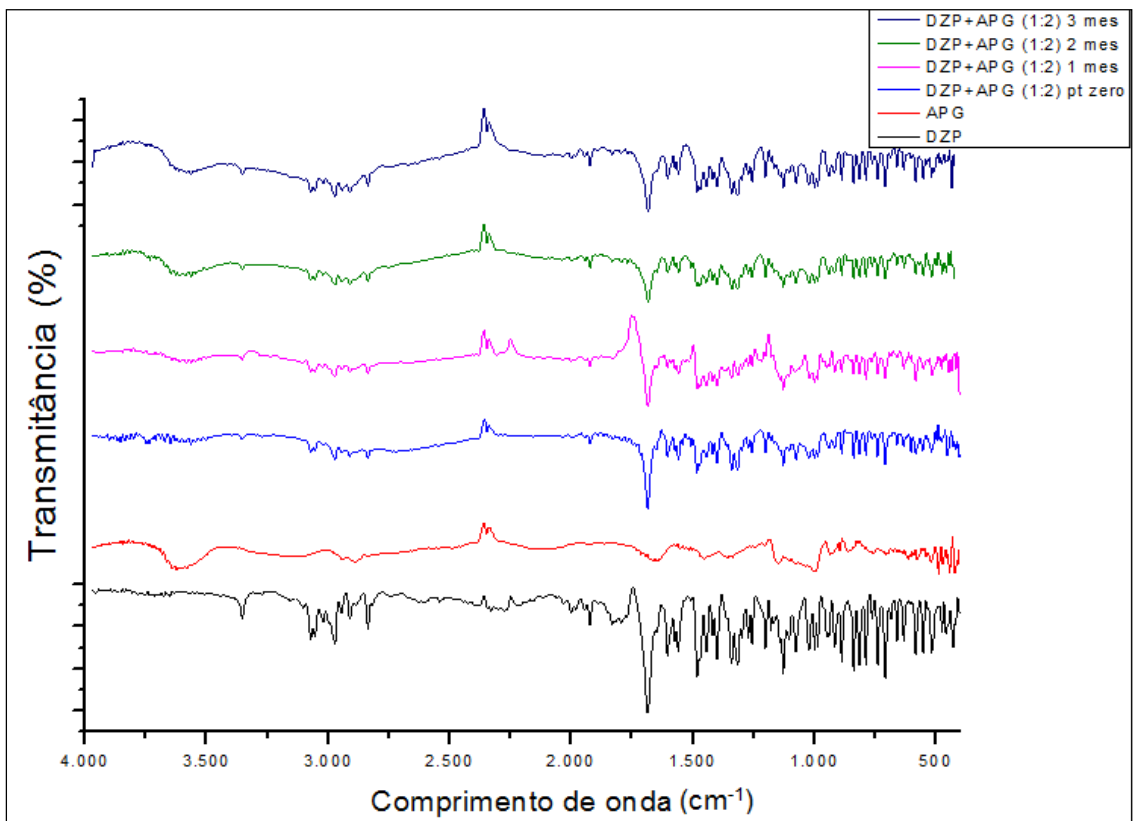
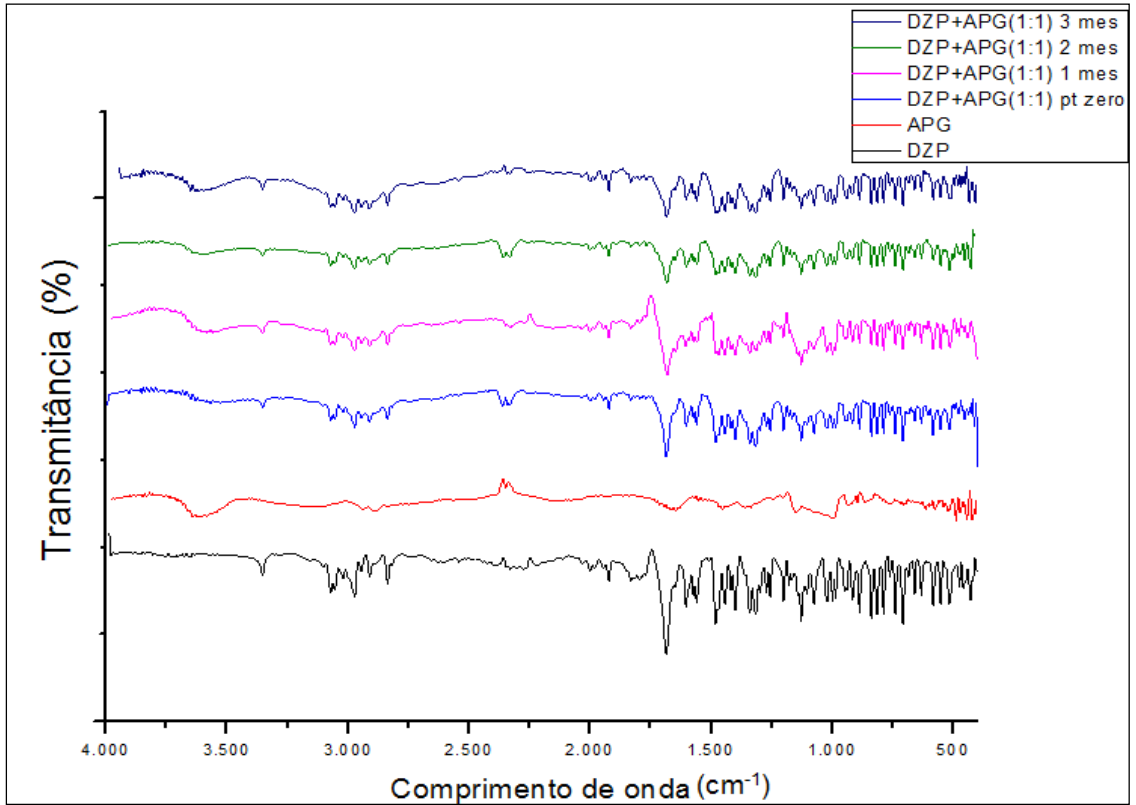
Module: TGA/SDTA851eLF1100/440,17.11.2010 11:0
 Method: BL100ul-Dyn25...500@10 - Air=50ml
 dt1,00 s
 25,0-500,0°C 10,00°C/min, Air 50,0 ml/min
 Synchronization enabled
 Sample Holder: Aluminium 100ul



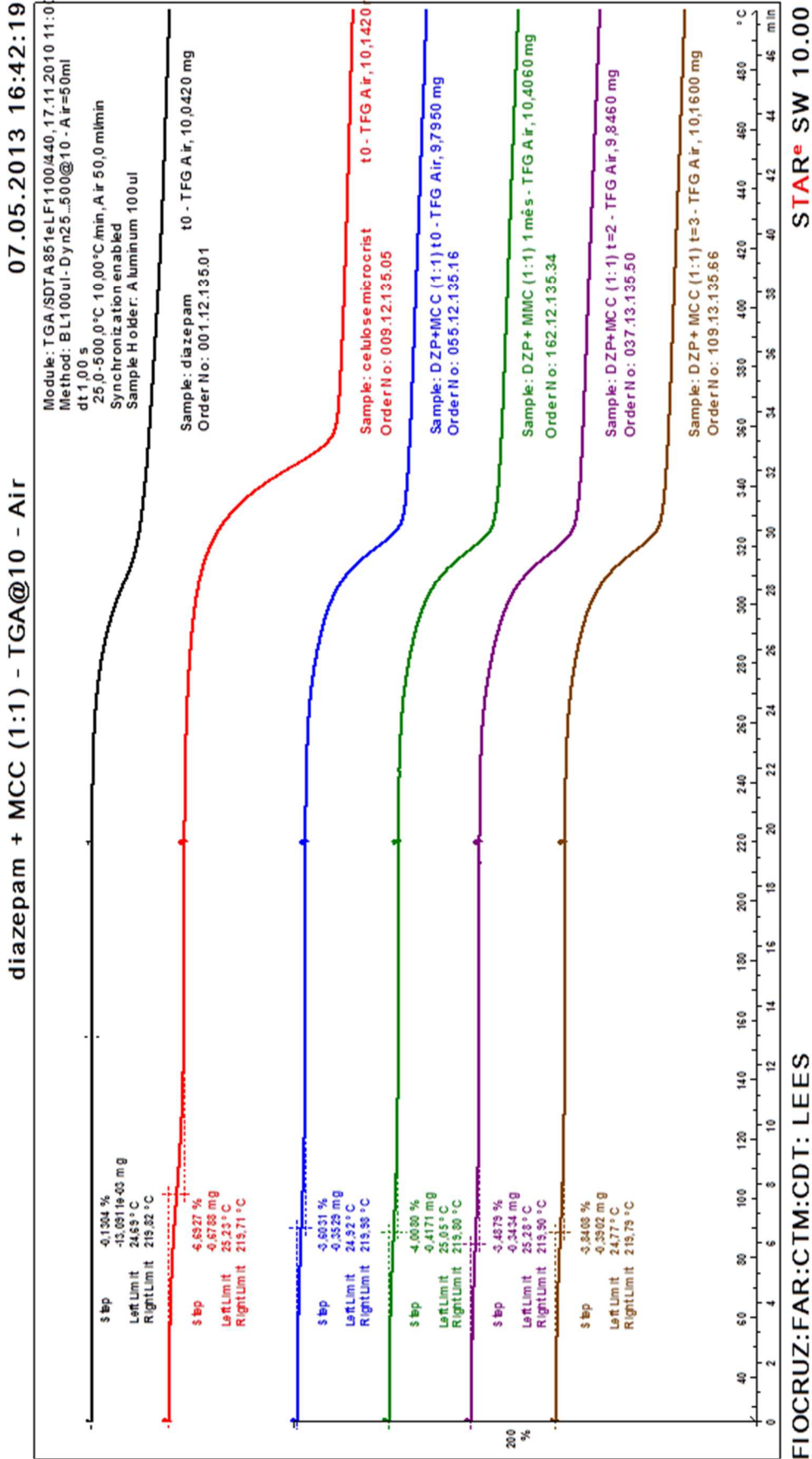
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00





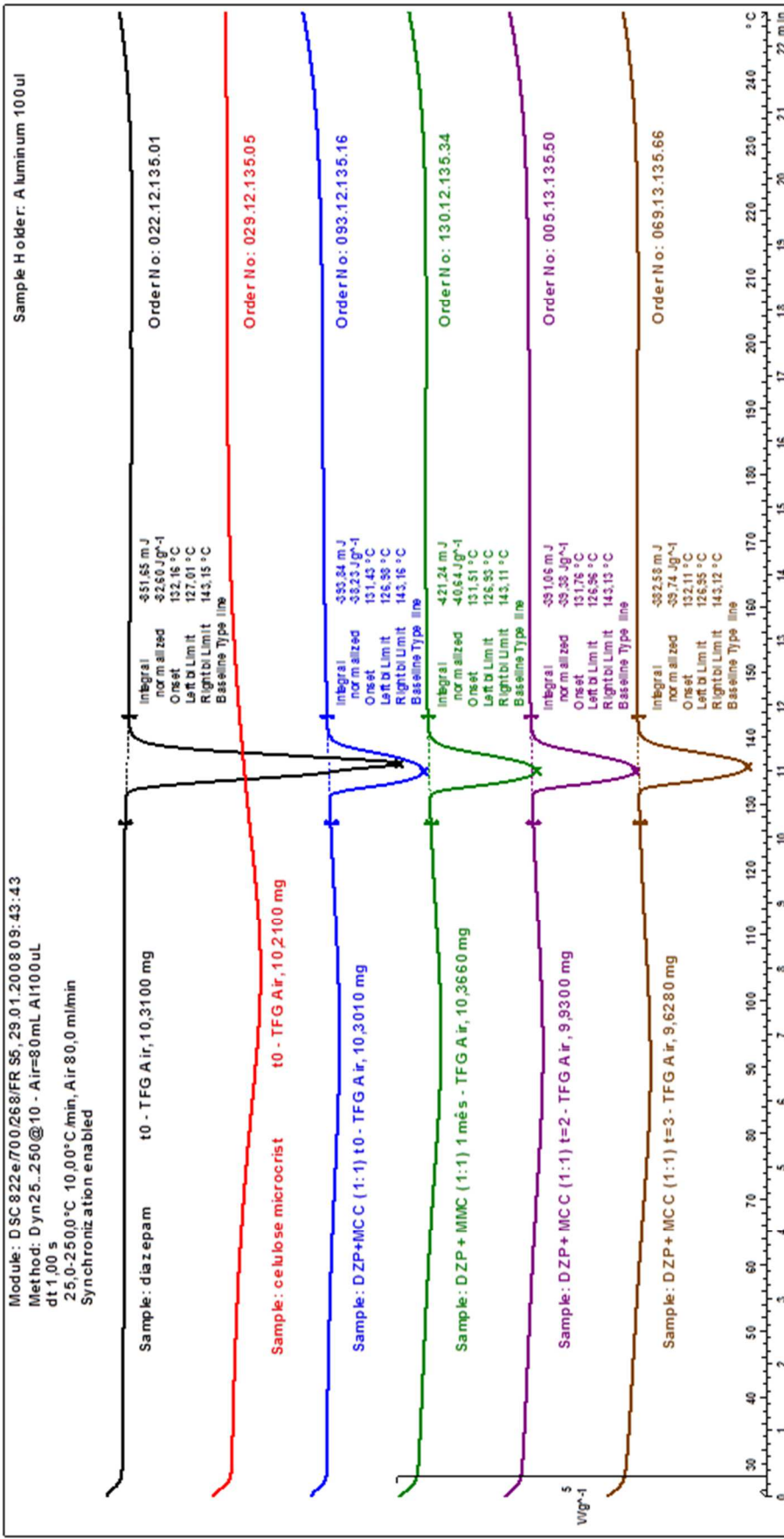
Mistura Diazepam + Celulose microcristalina (DZP+MCC)



^exo

diazepam + cellulose microcrist. - DSC@10

25.03.2013 09:53:23

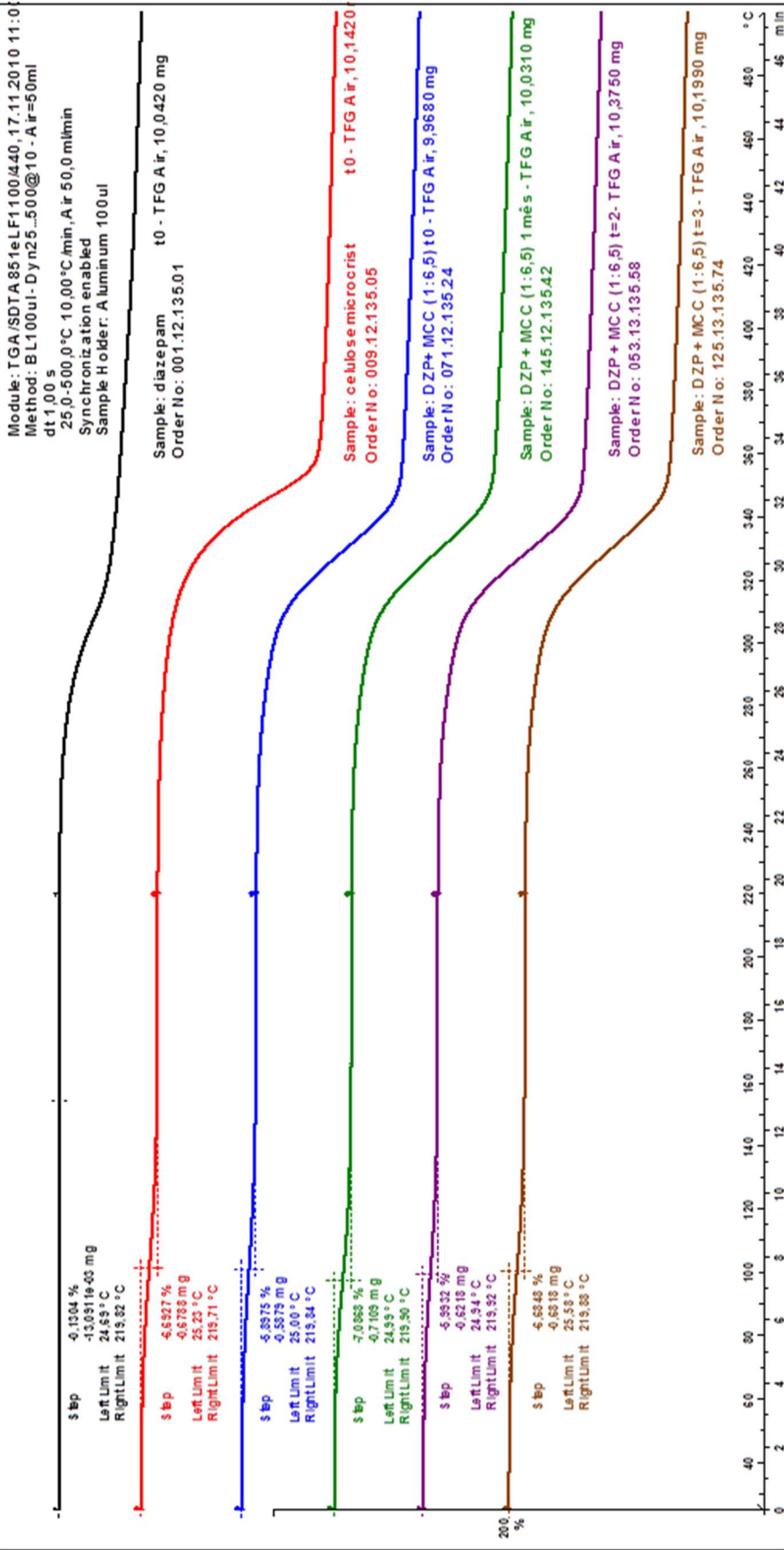


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00

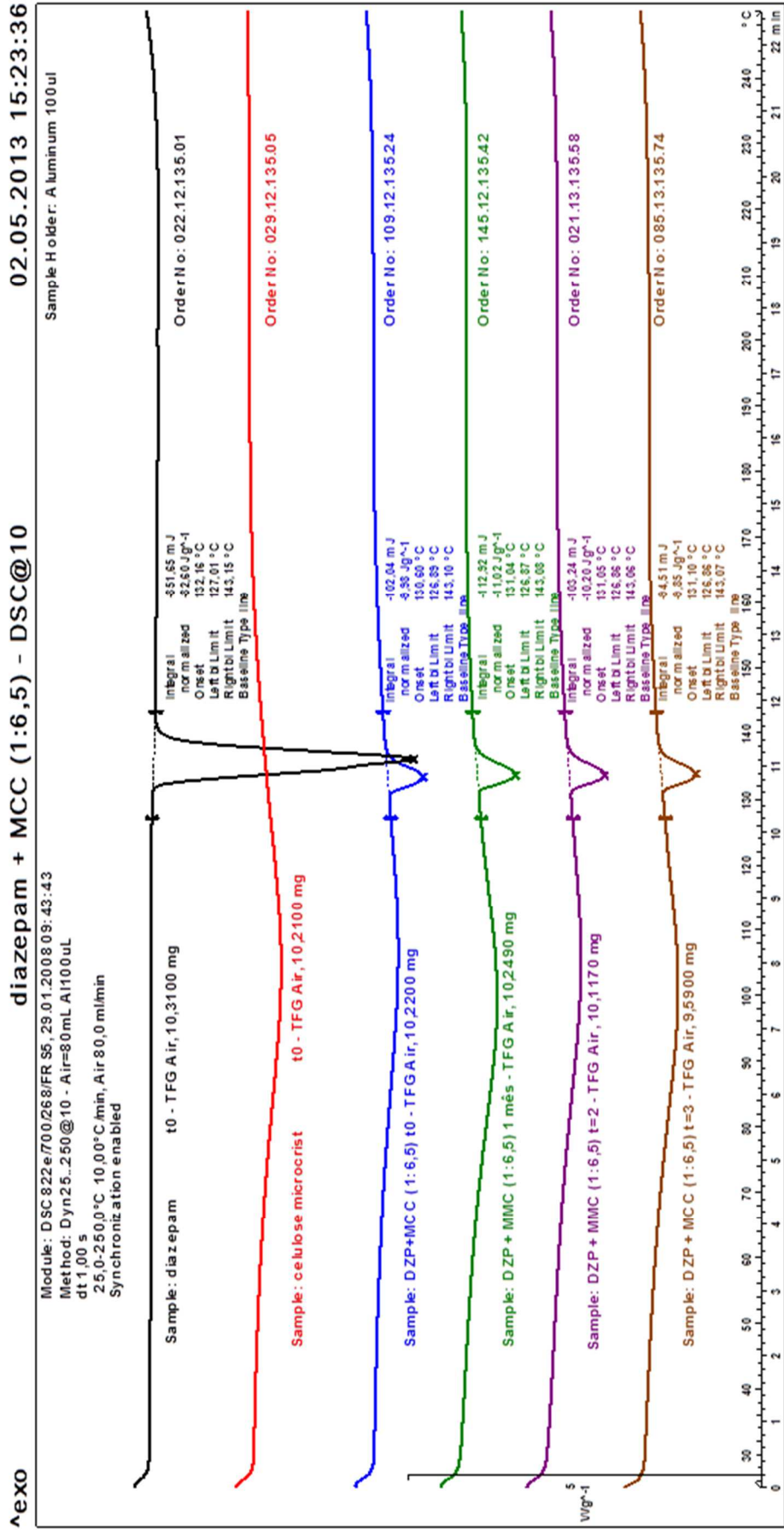
diazepam + MCC (1:6,5) - TGA@10 - Air

09.05.2013 14:52:06

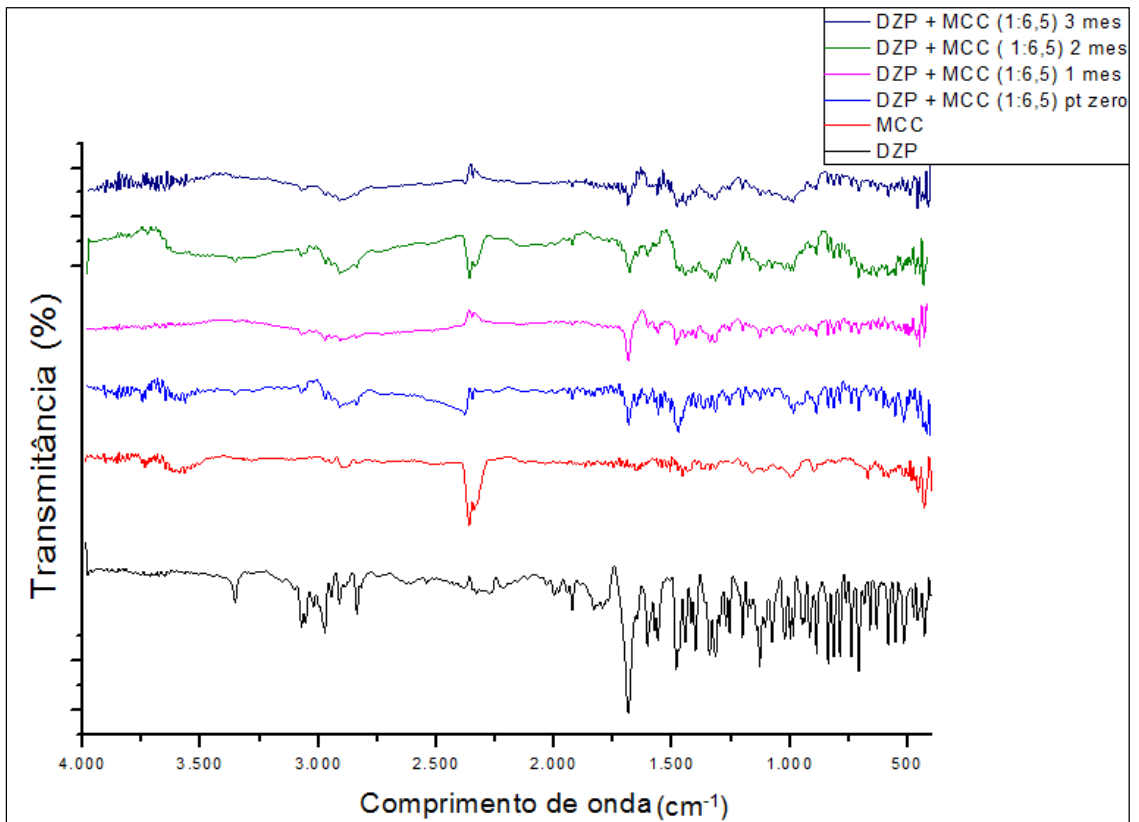
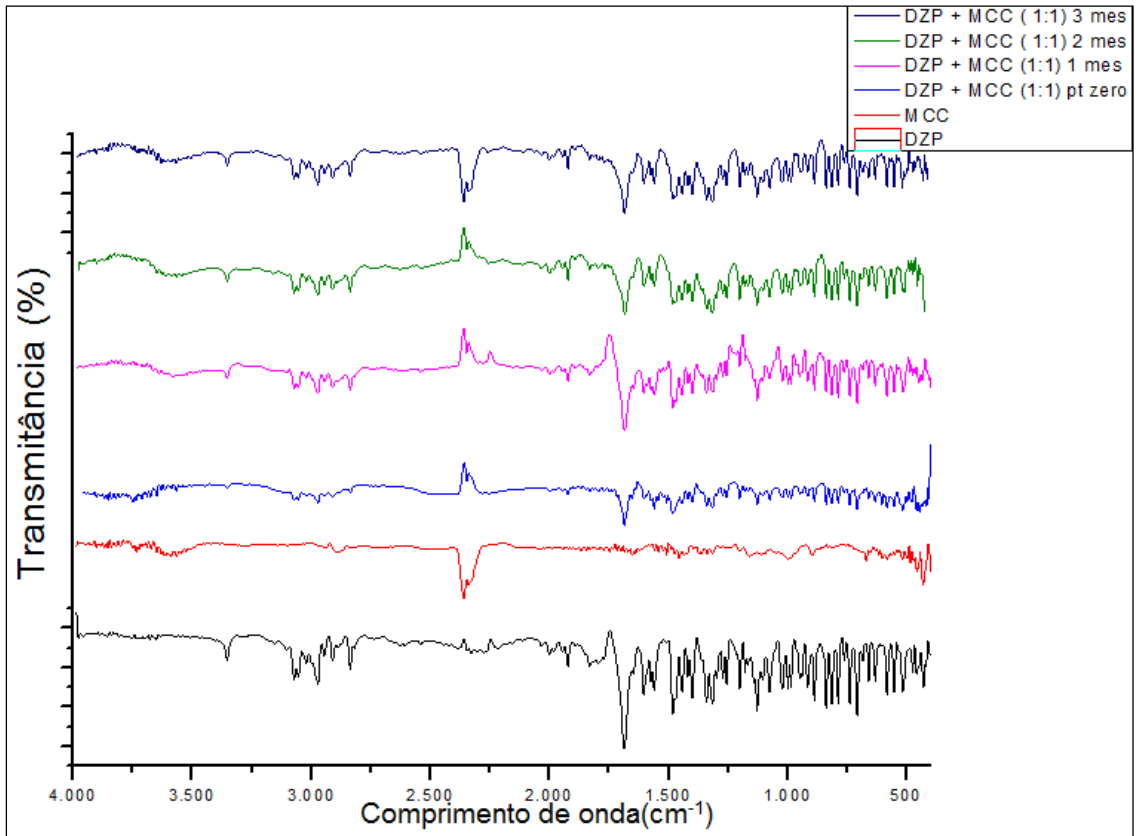


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

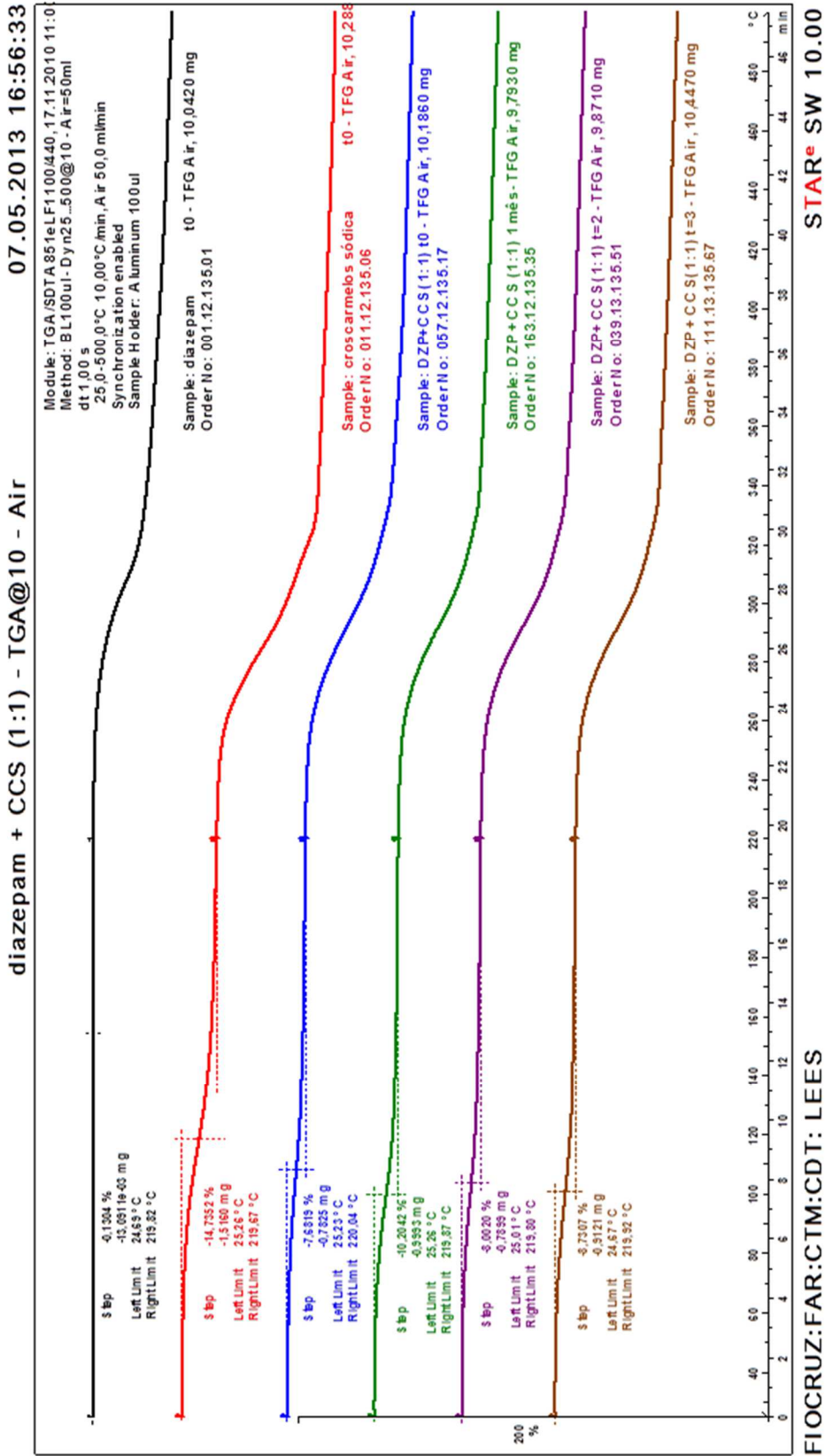
STAR^e SW 10.00

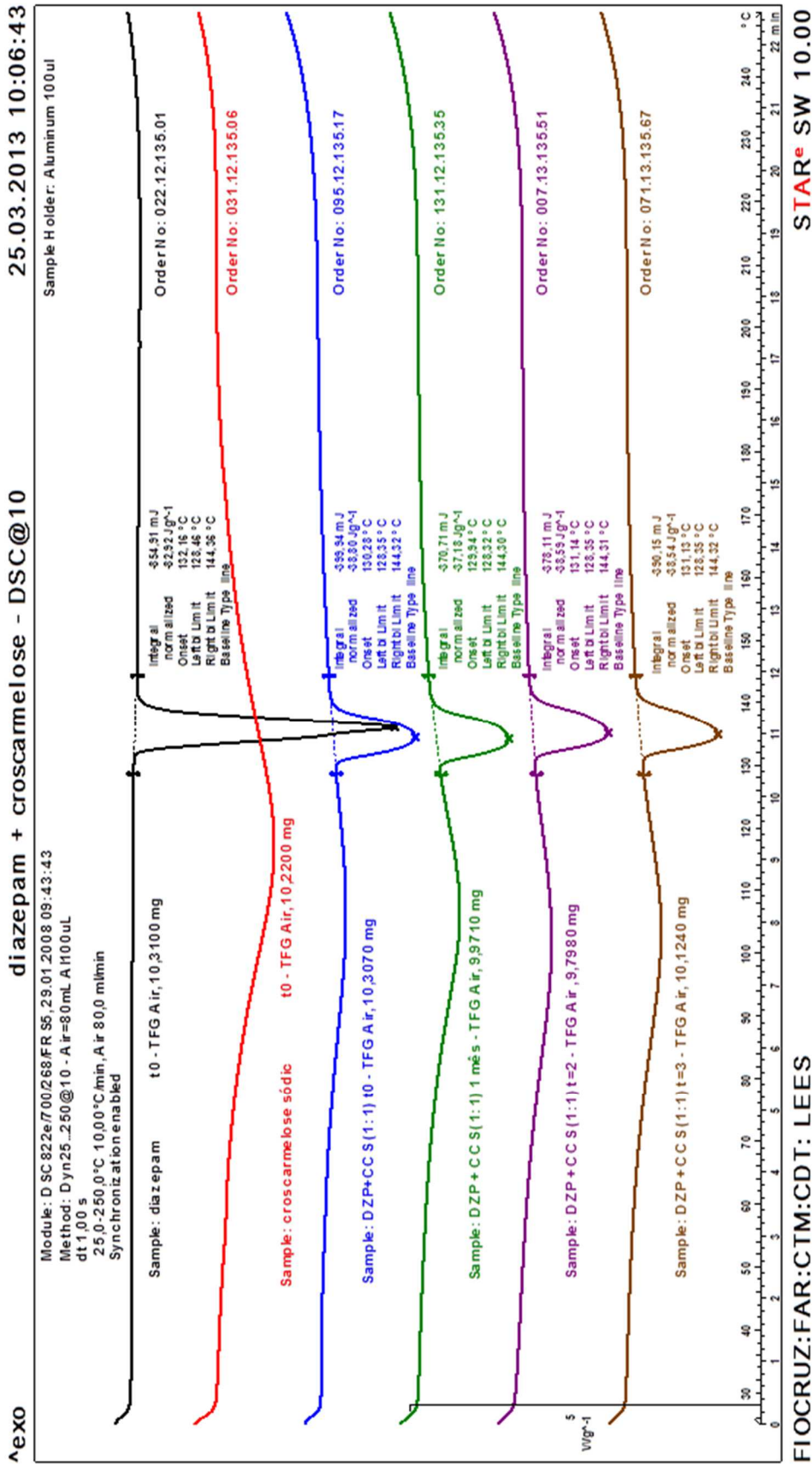


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

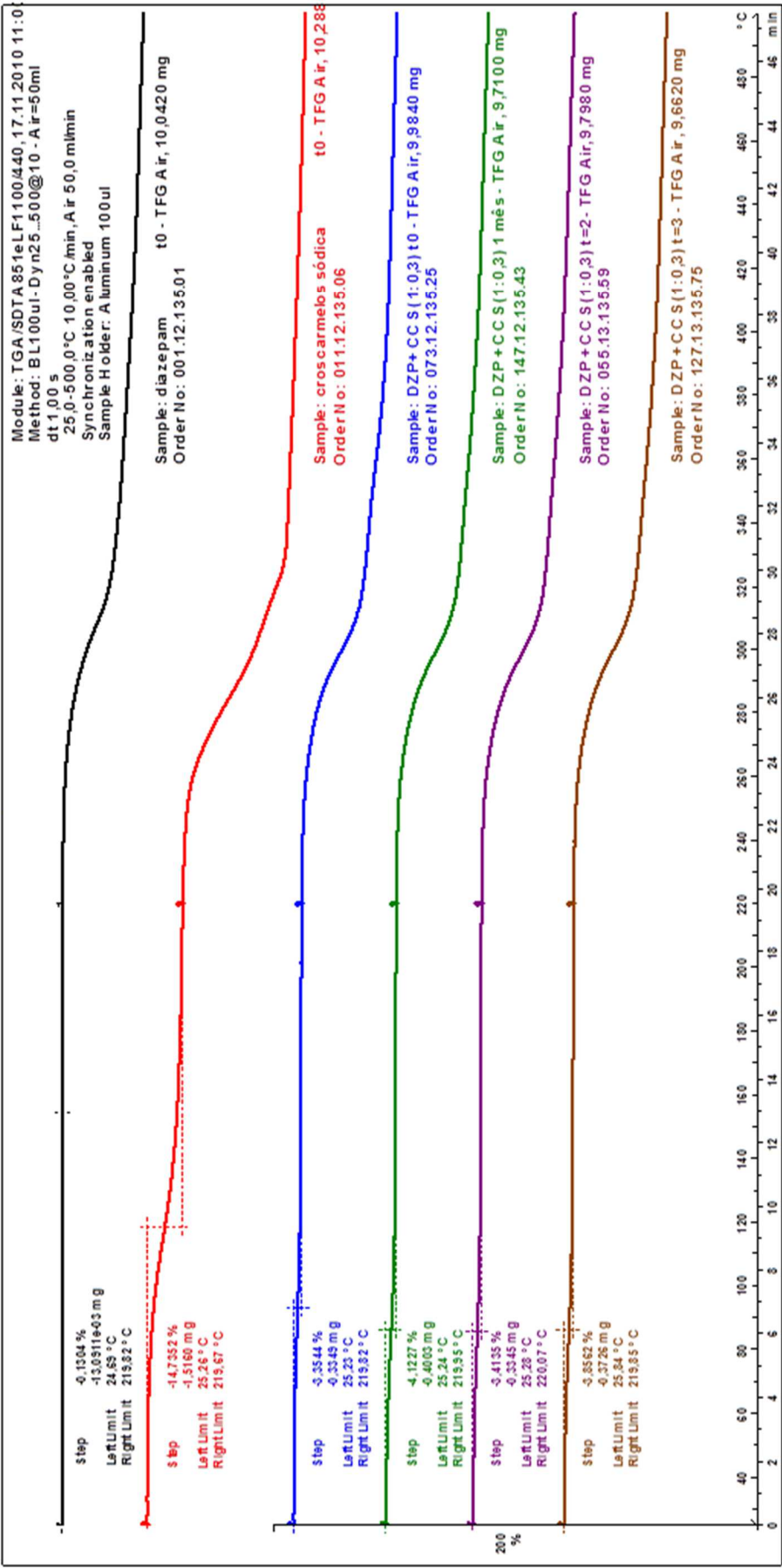


Mistura Diazepam + Croscarmelose sódica (DZP+CCS)





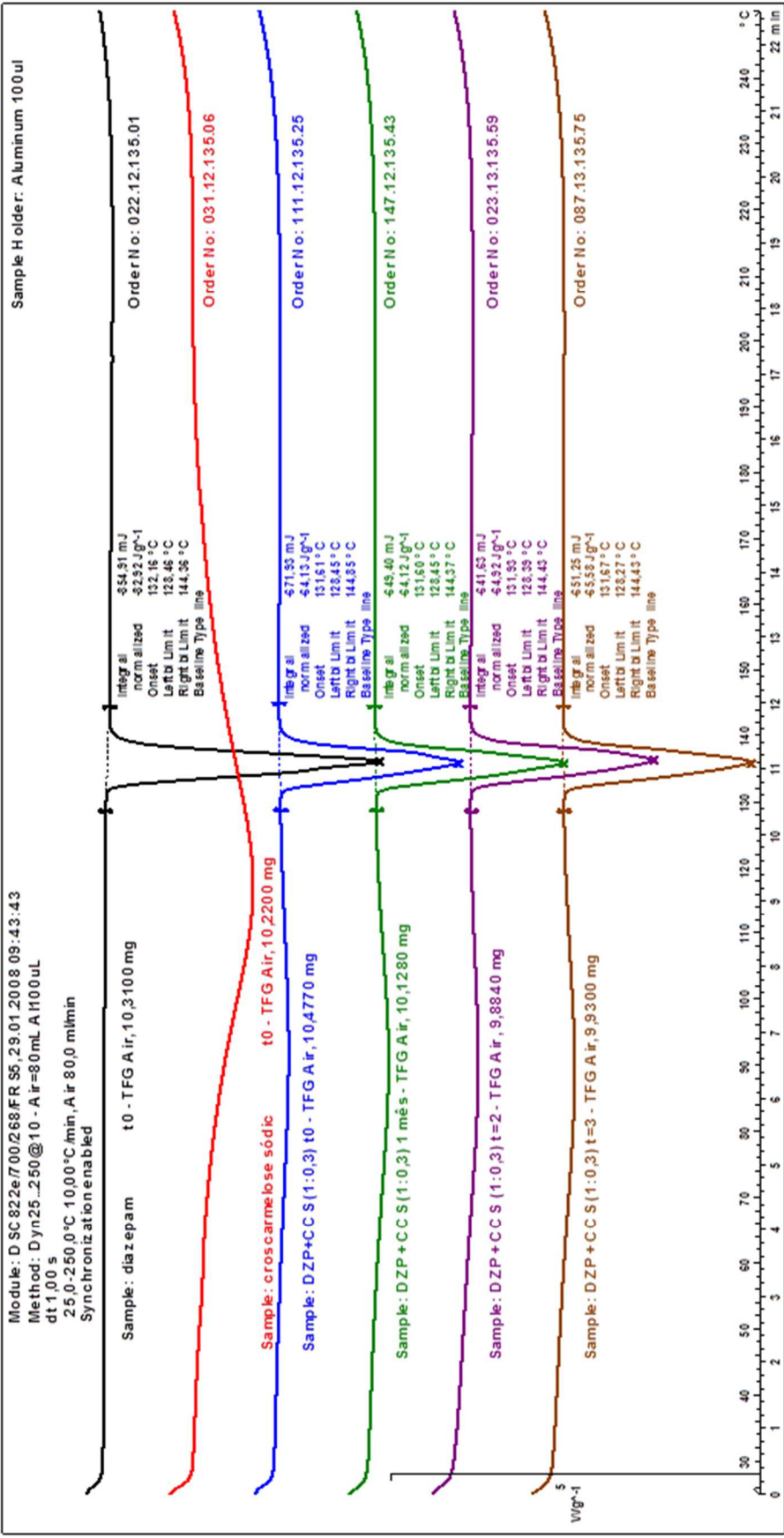
diazepam + CCS (1:0,3) - TGA@10 - Air 09.05.2013 15:03:30



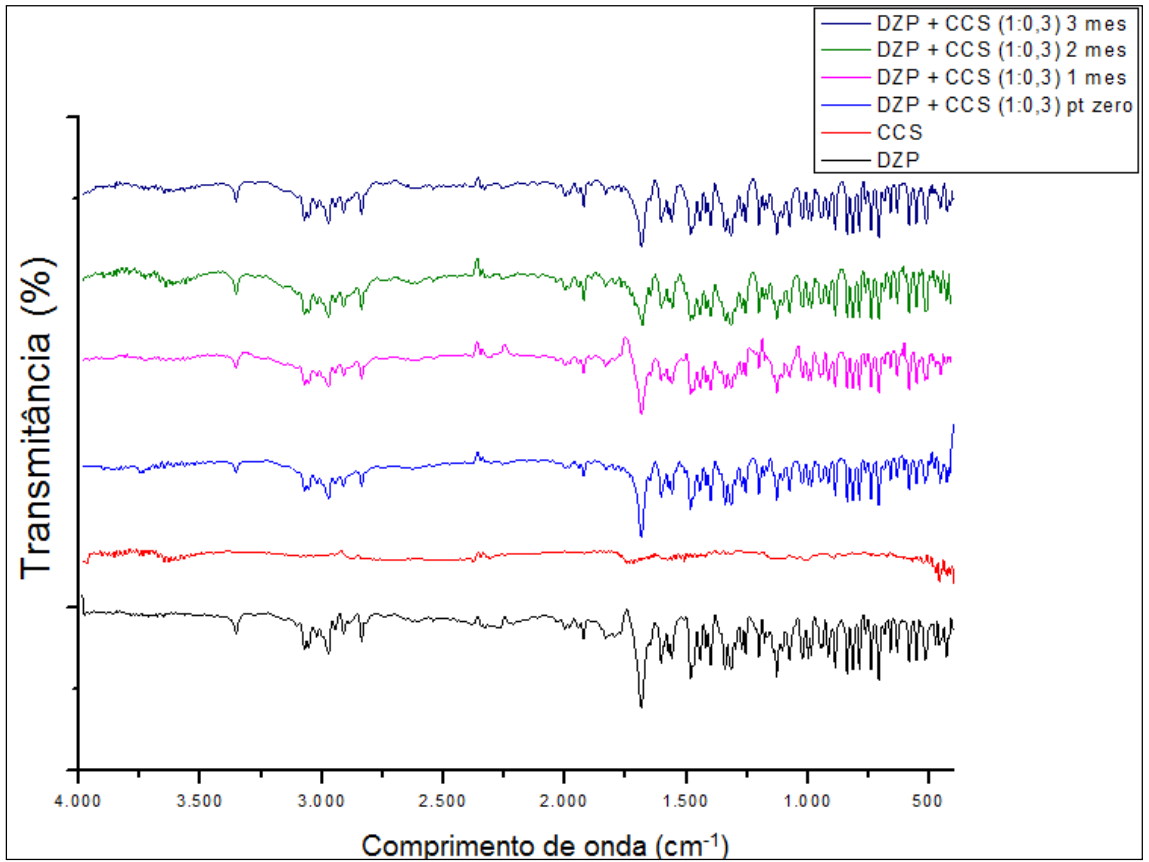
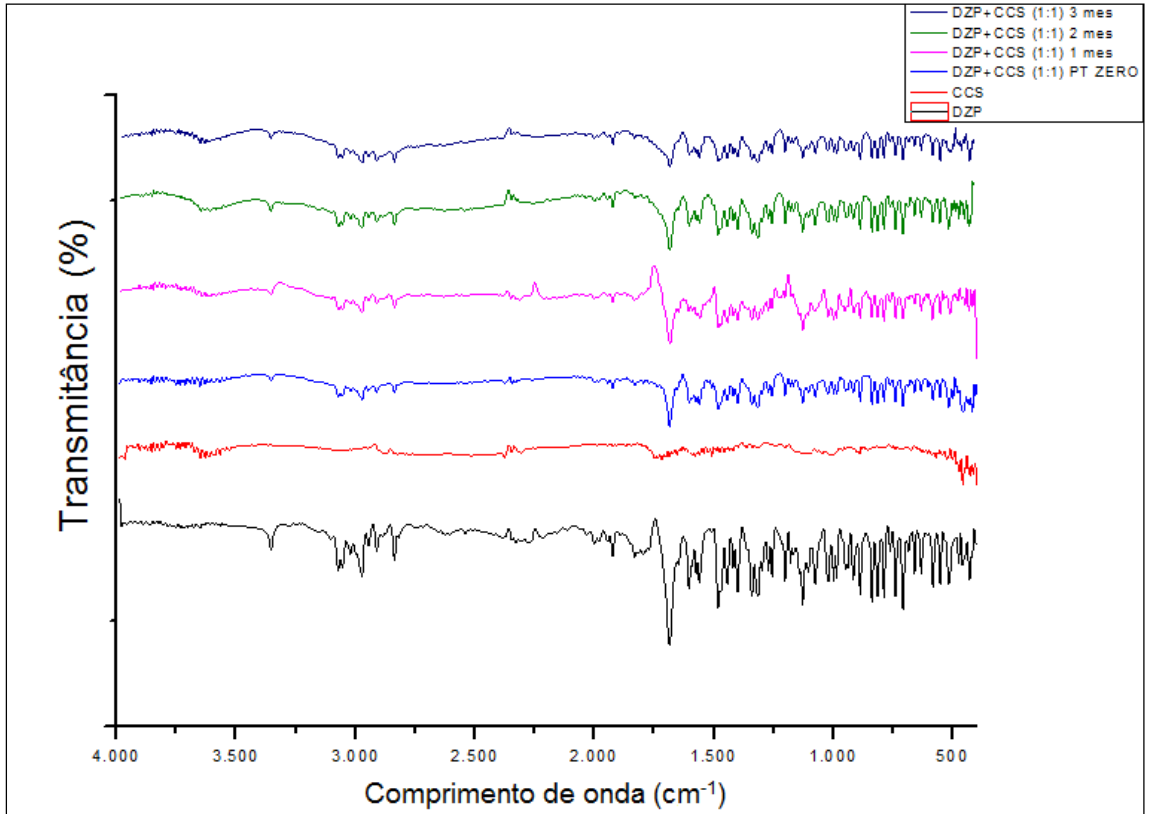
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00

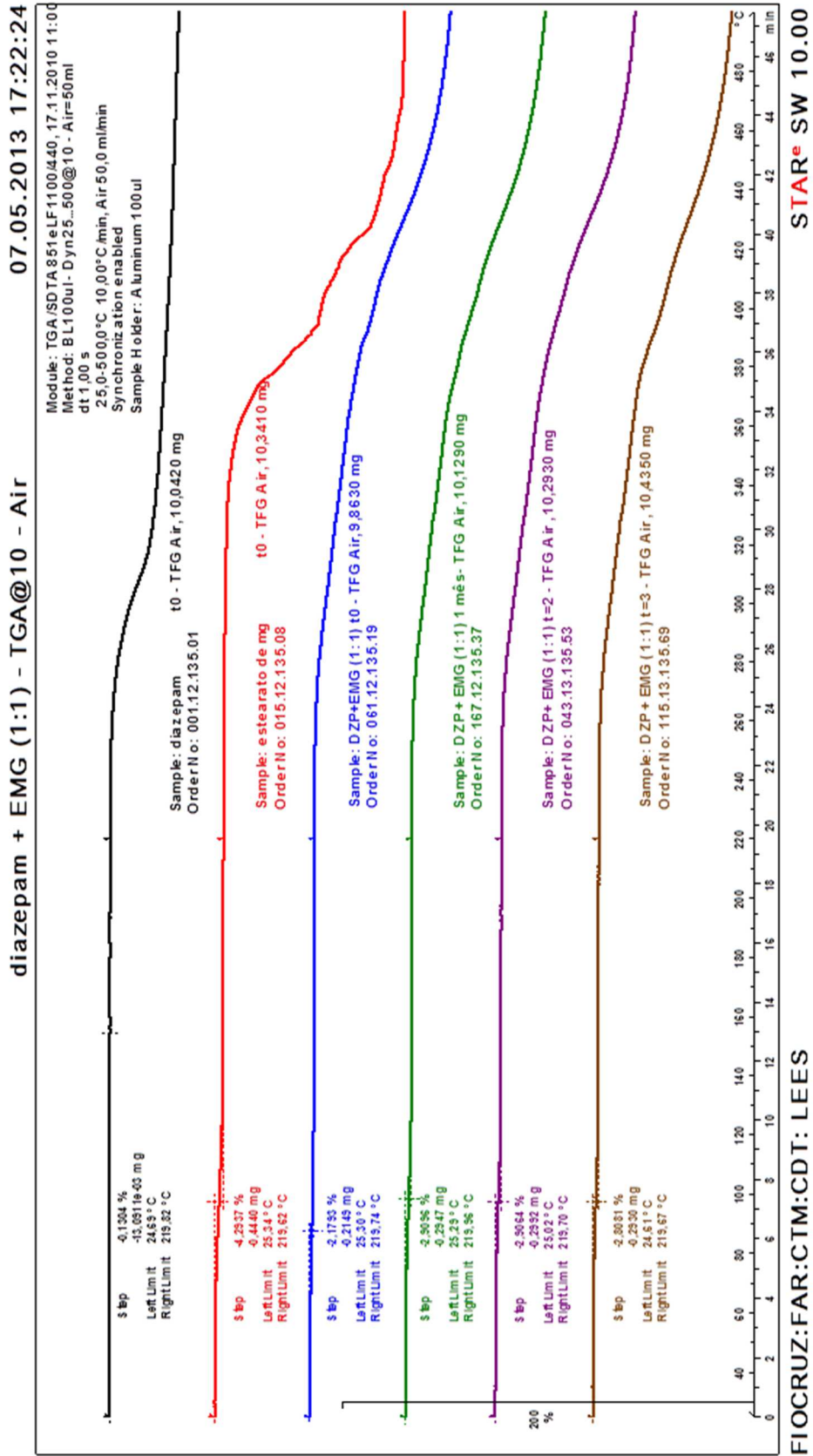
^exo diazepam + CCS (1:0,3) - DSC@10 02.05.2013 16:05:55



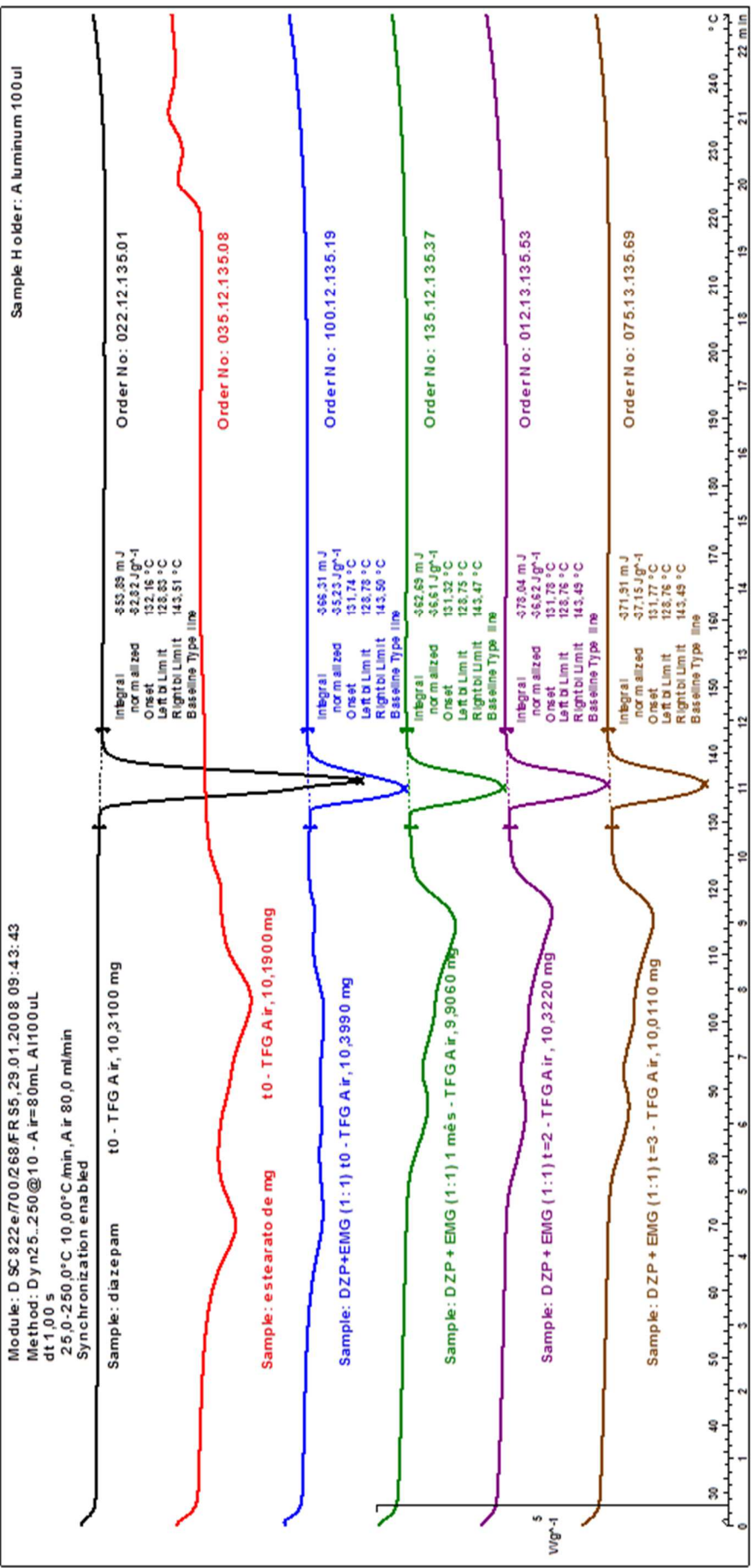
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES STAR^e SW 10.00



Mistura Diazepam + Estearato de magnésio (DZP+EMG)

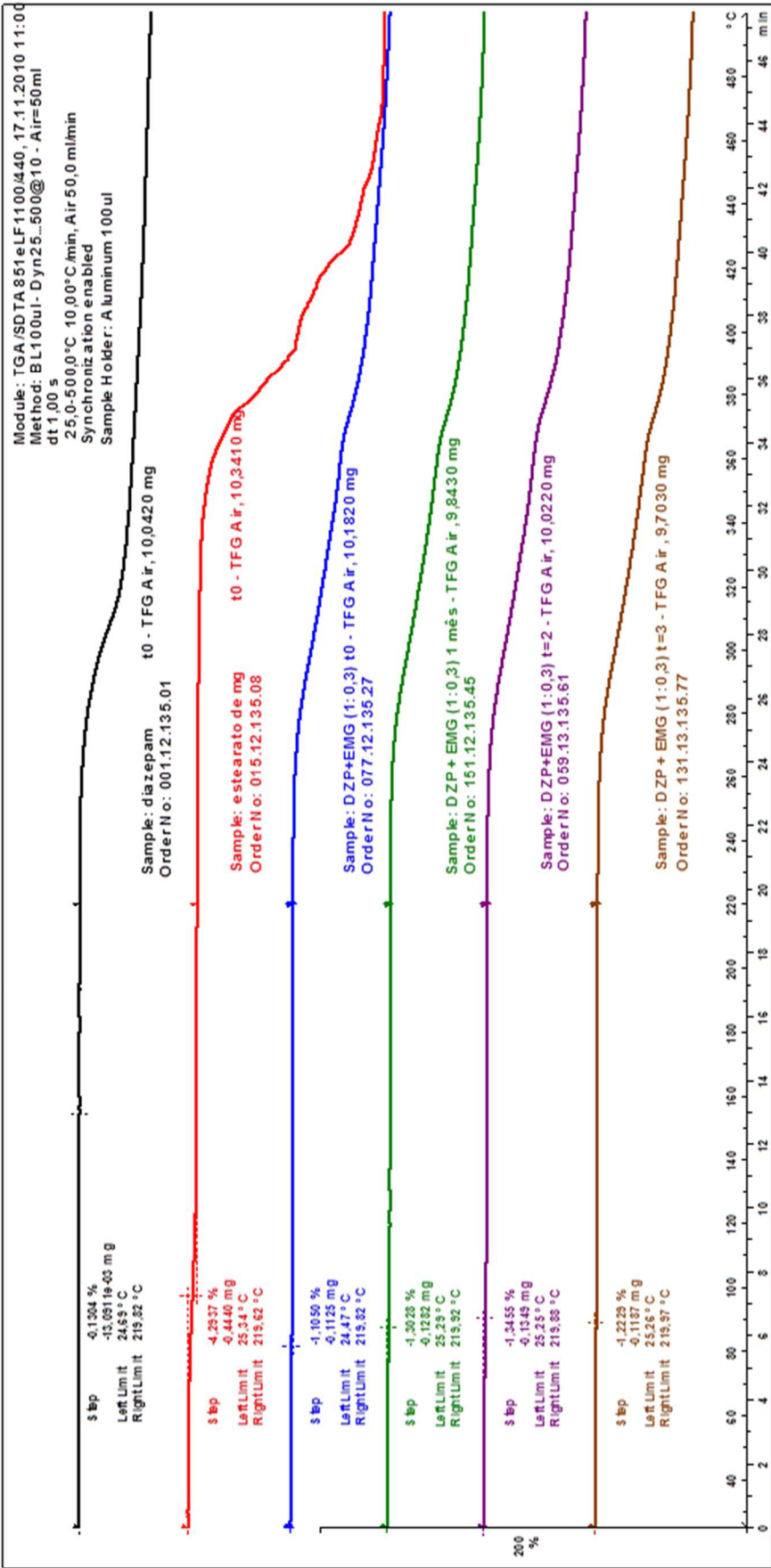


^exo diazepam + estearato magnésio - DSC@10 25.03.2013 10:48:01



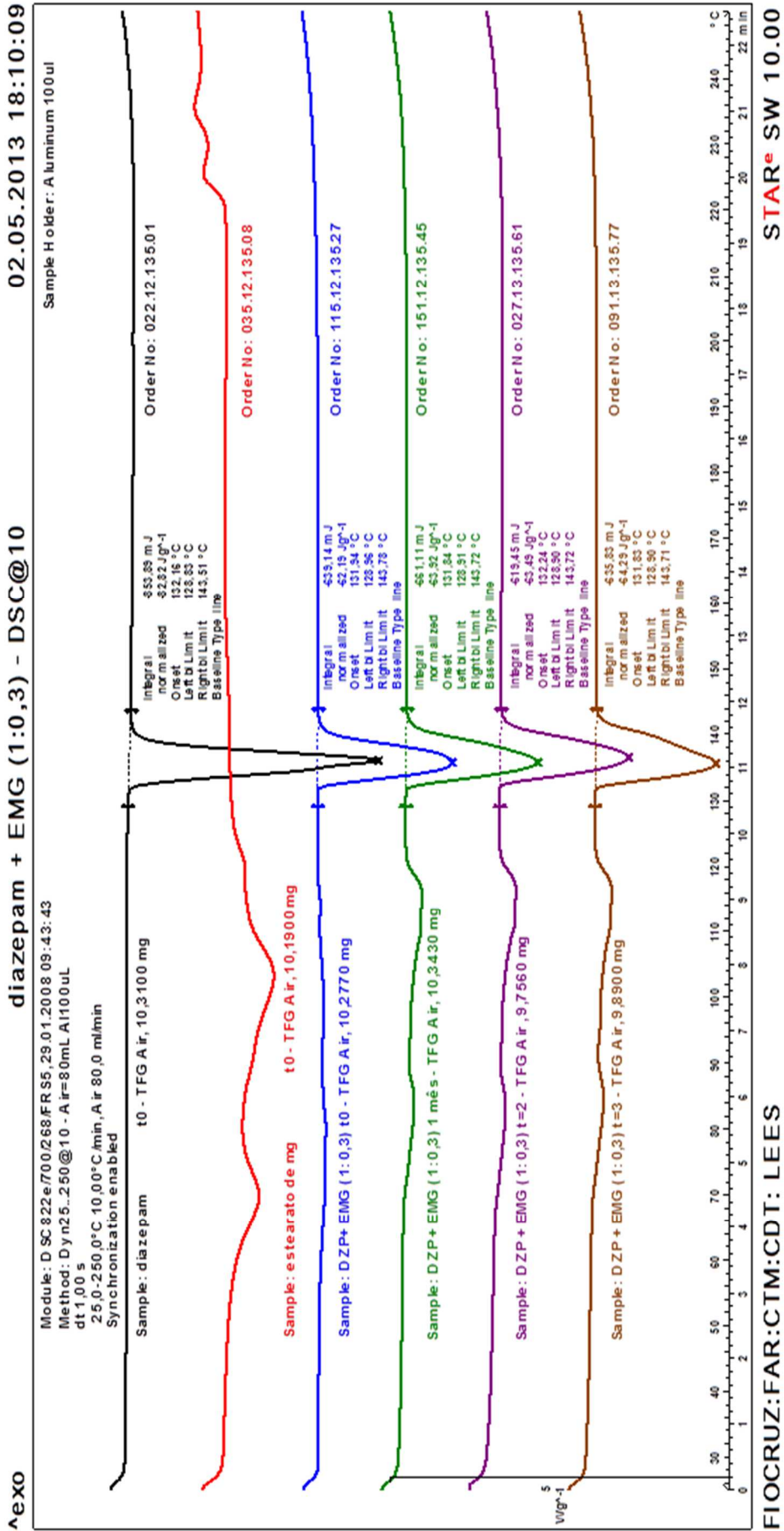
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES STAR SW 10.00

diazepam + EMG (1:0,3) - TGA@10 - Air 05.06.2013 15:37:14



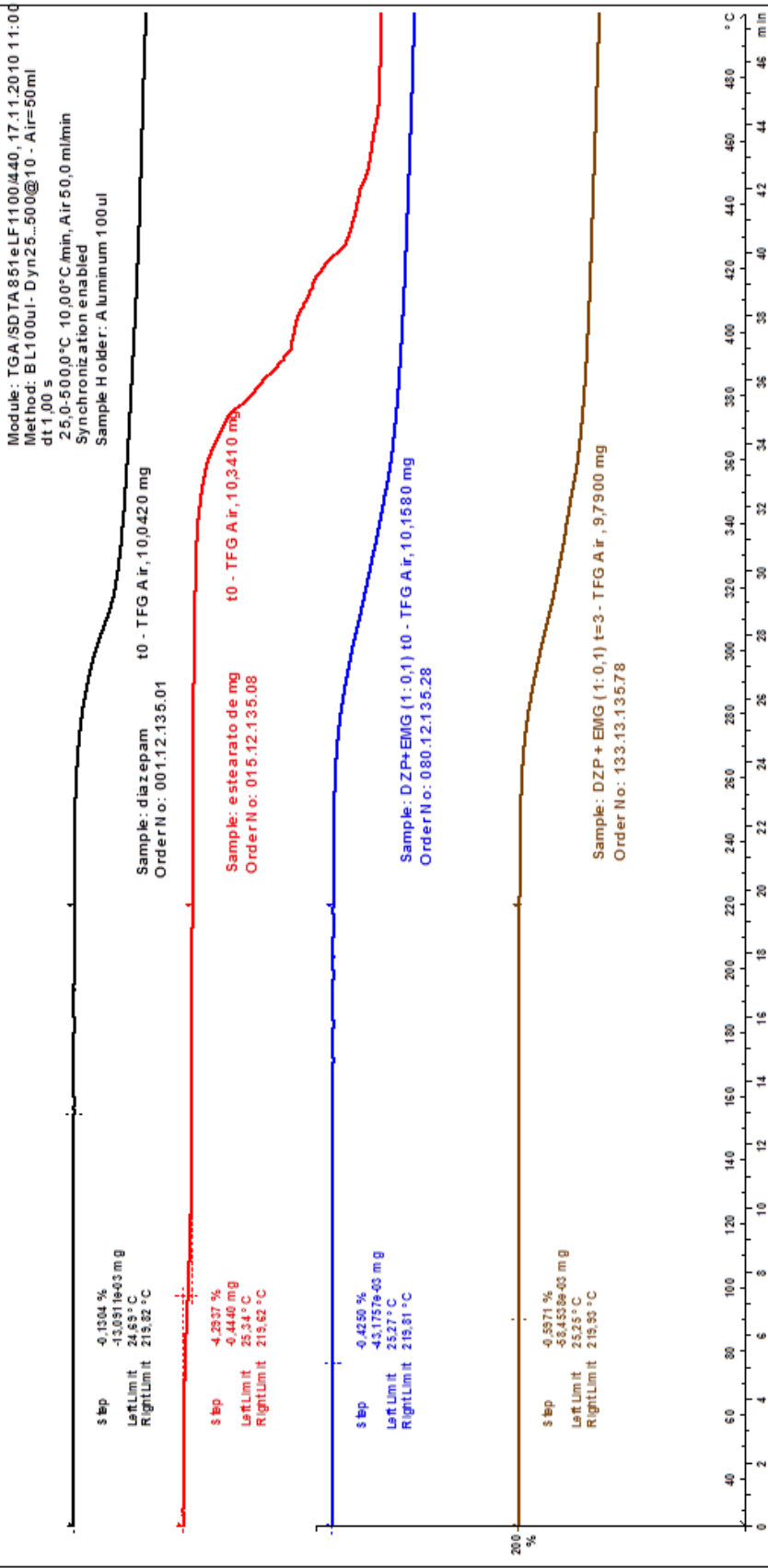
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00



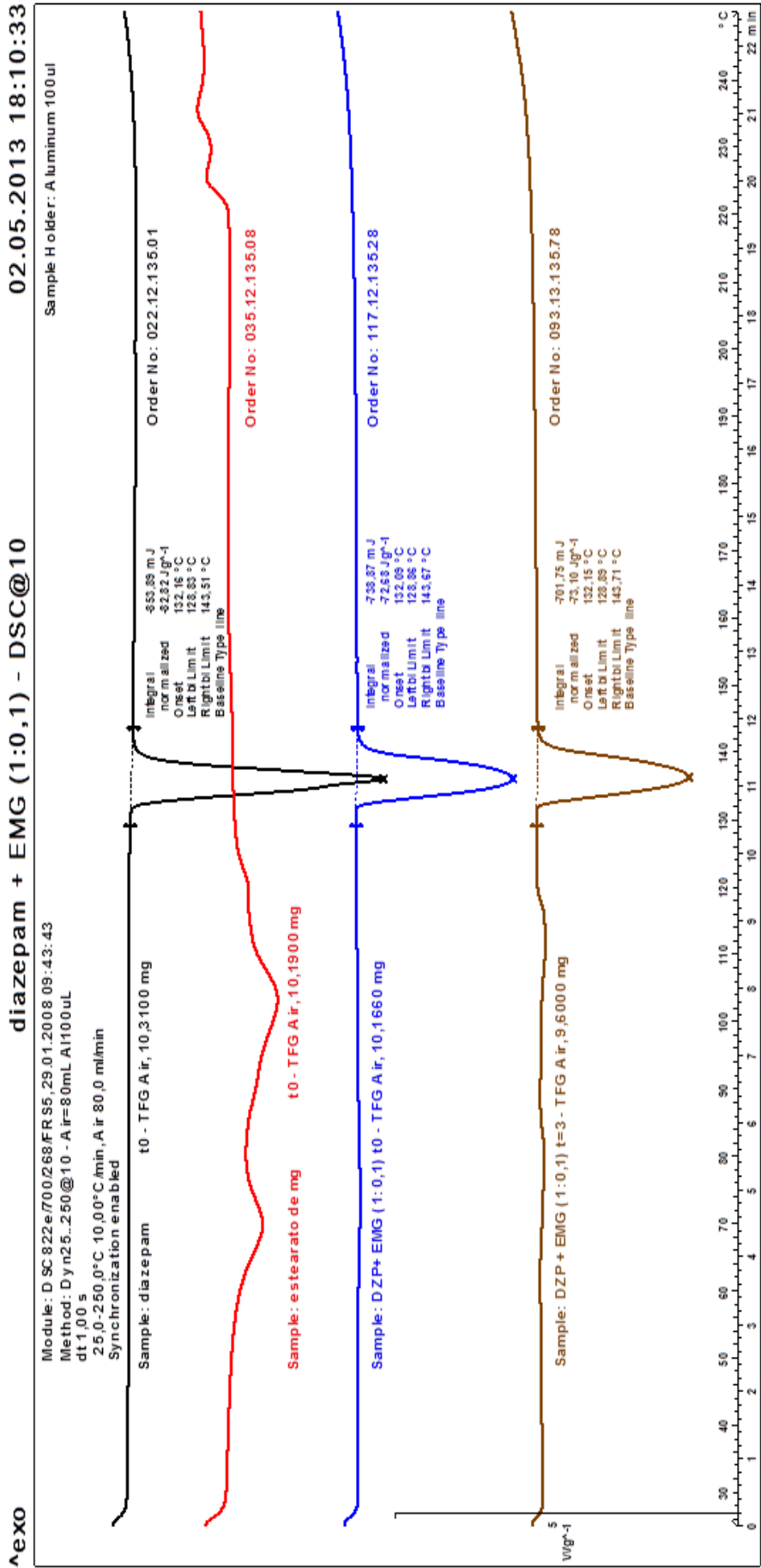
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

diazepam + EMG (1:0,1) - TGA@10 - Air 05.06.2013 16:11:56

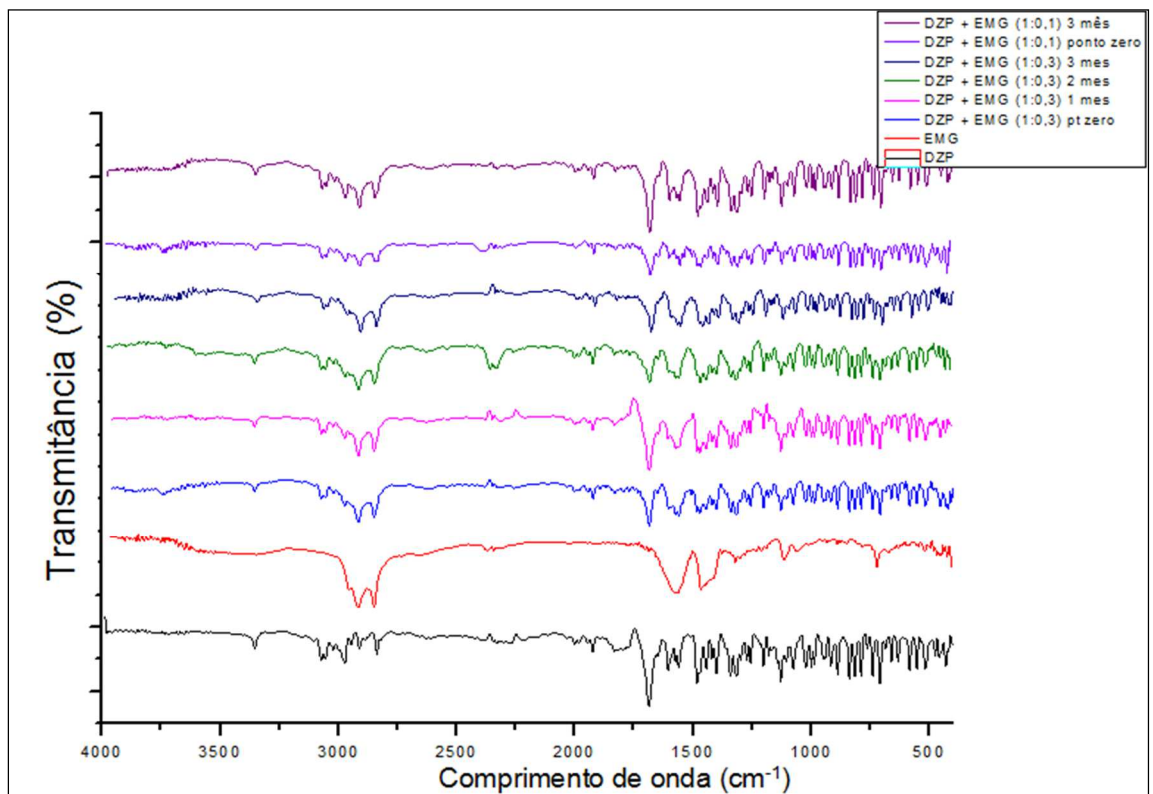
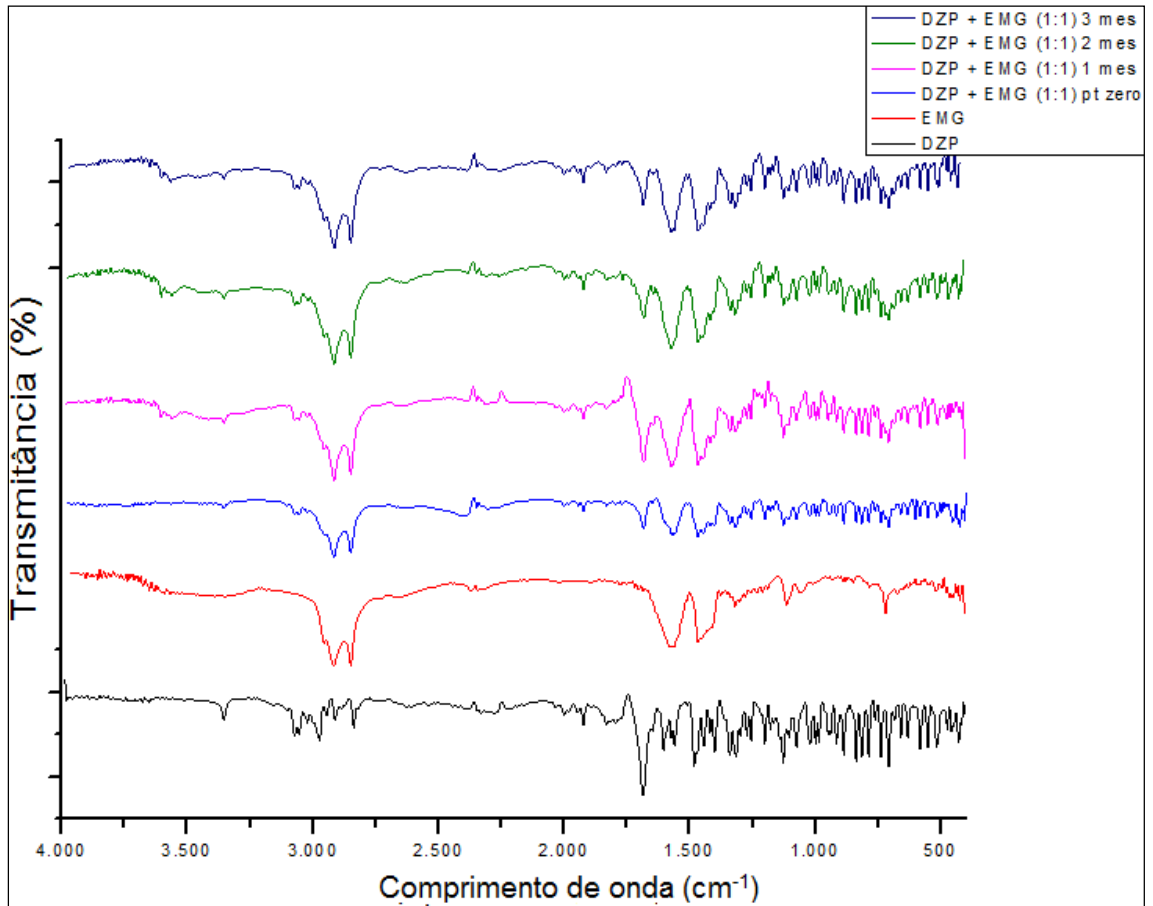


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

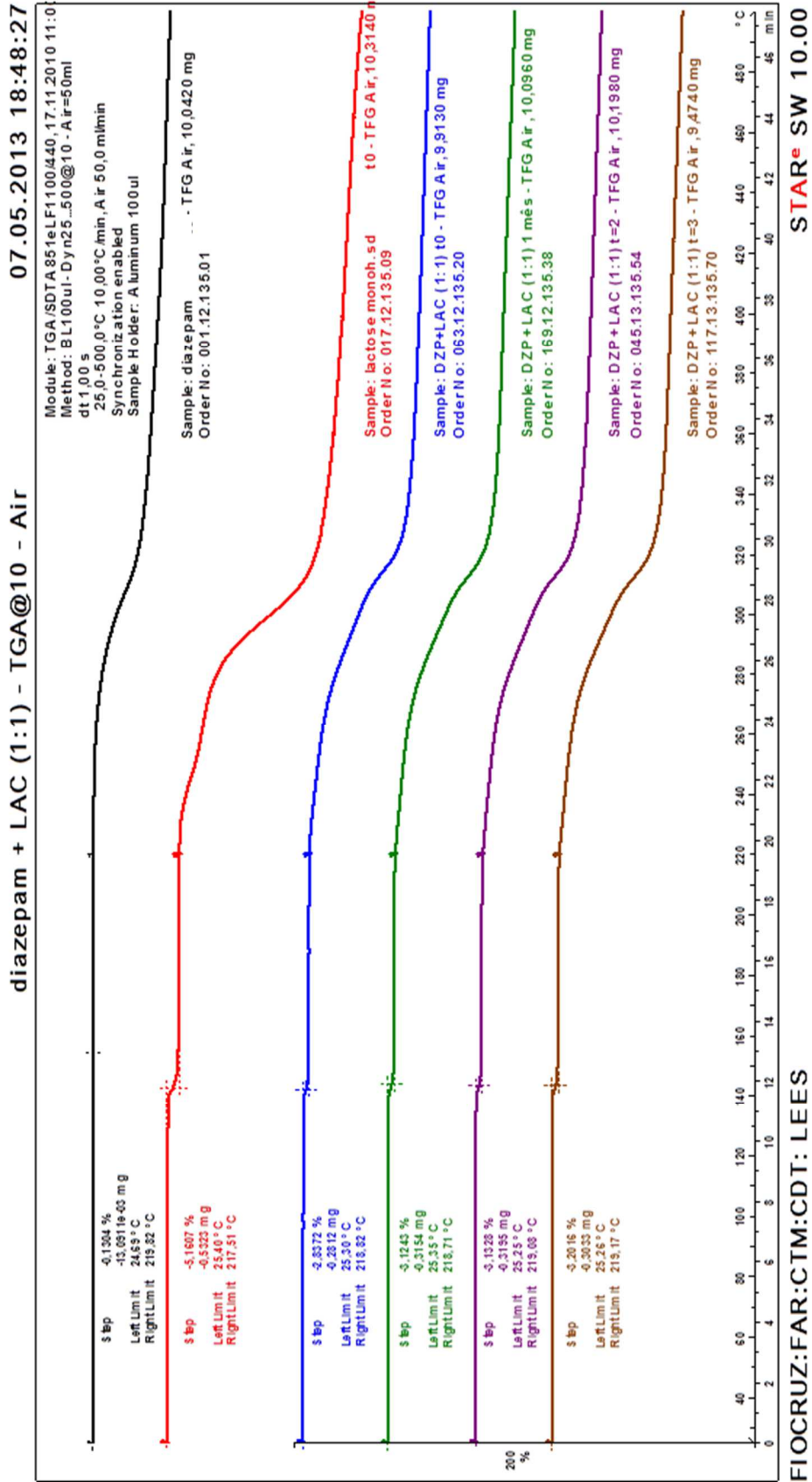
STAR^e SW 10.00



FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES **STAR^e SW 10.00**

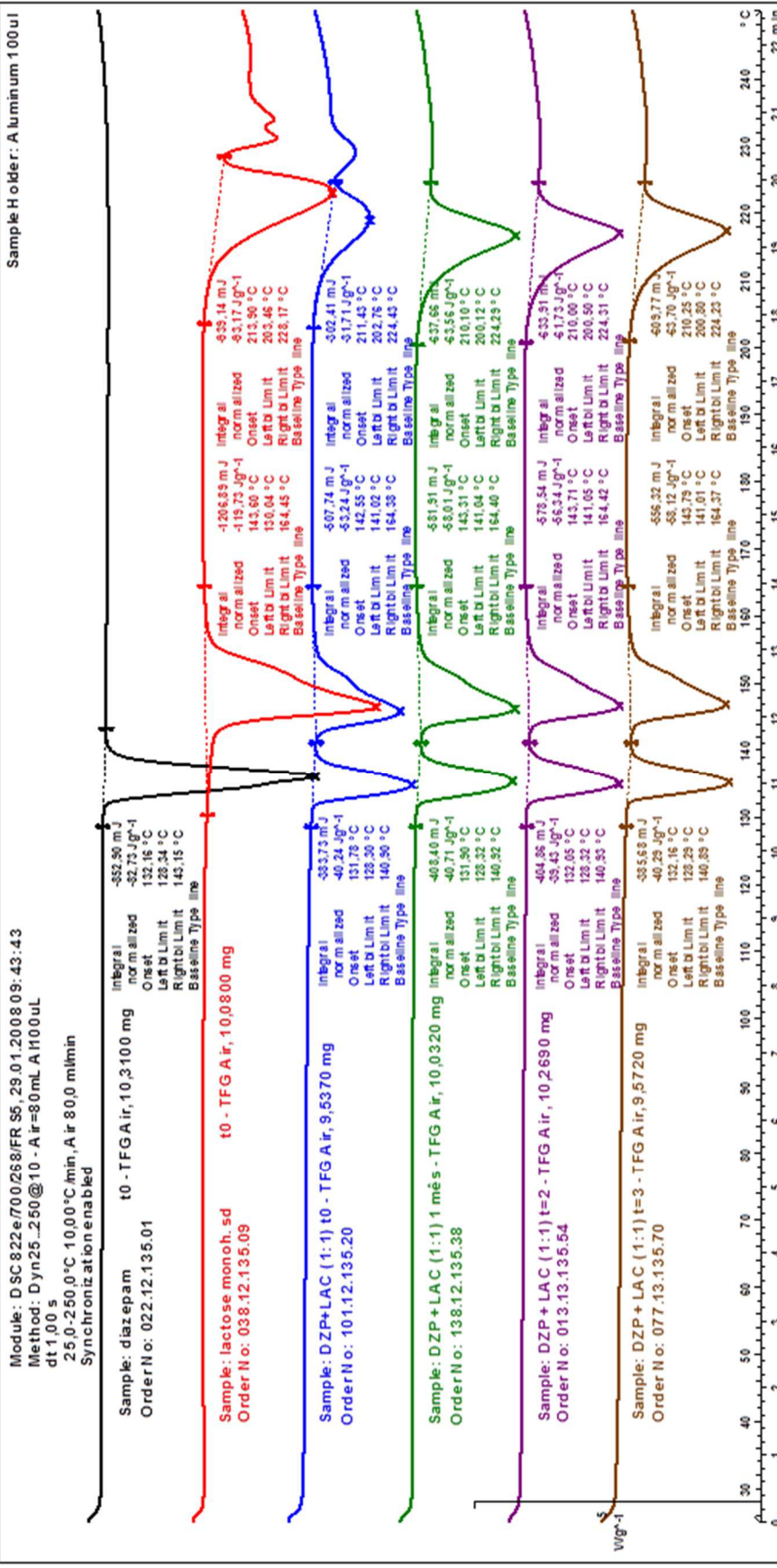


Mistura Diazepam + lactose monohidratada Spray-dried



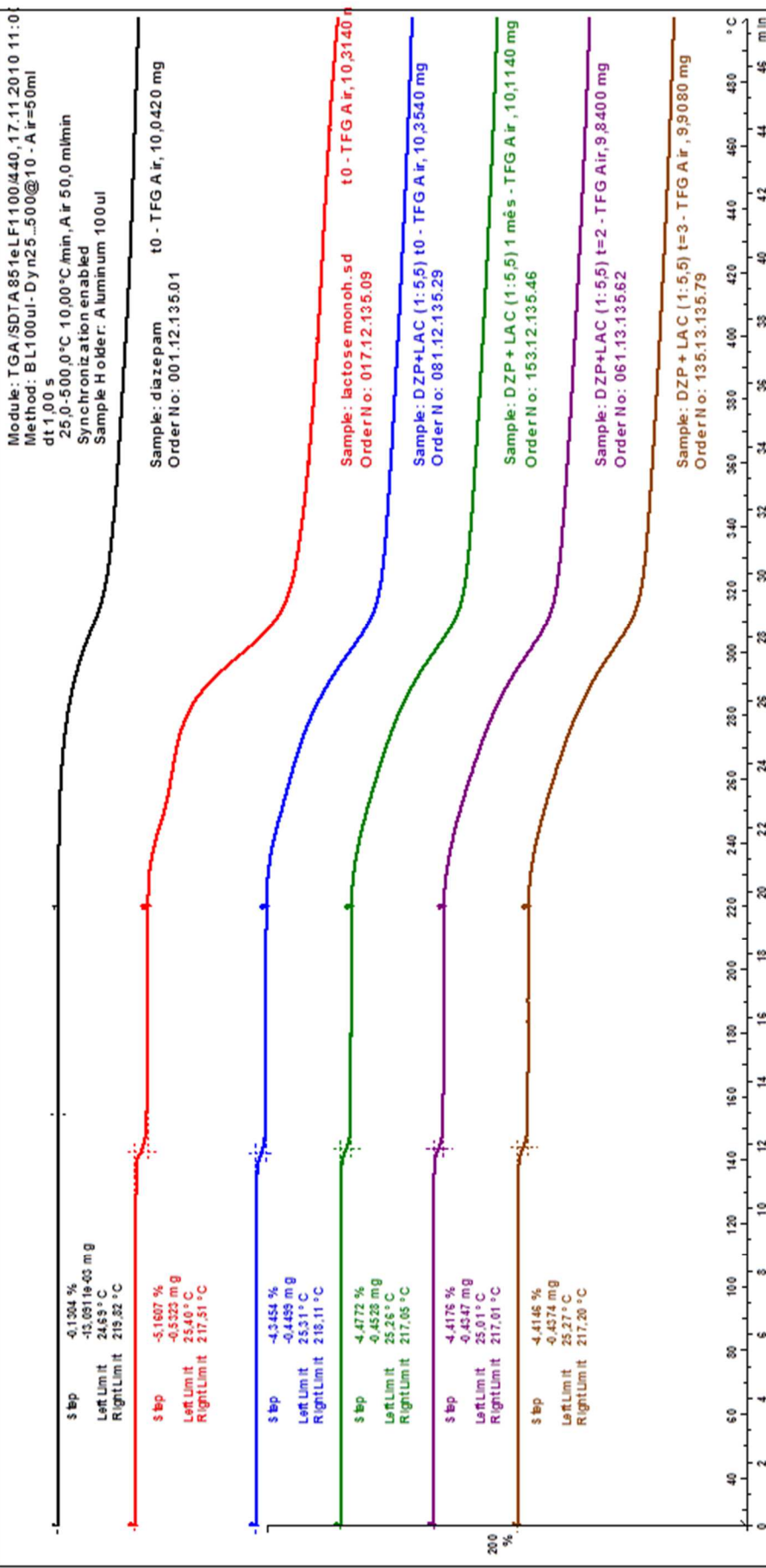
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

exo diazepam + lactose monoh. sd - DSC@10 25.03.2013 10:54:33



STAR SW 10.00

diazepam + LAC (1:5,5) - TGA@10 - Air 09.05.2013 15:35:57



FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES STAR^e SW 10.00

hexo

diazepam + LAC (1:5,5) - DSC@10

02.05.2013 18:51:13

Sample Holder: A luminum 100 ul

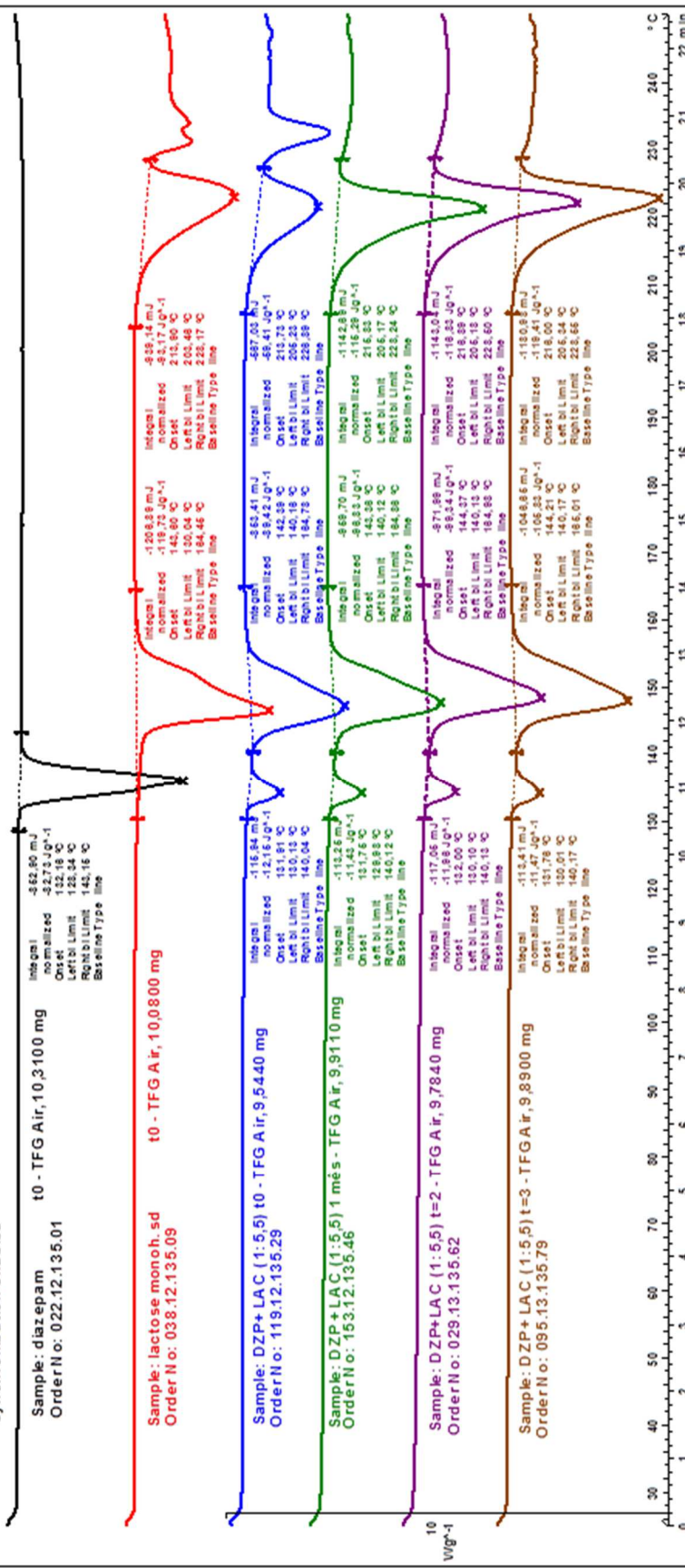
Module: D SC 822e/700/268FR S5, 29.01.2008 09:43:43

Method: Dyn25..250@10 - Air=80mL A1100uL

dt 1,00 s

25,0-250,0°C 10,00°C/min, Air 80,0 ml/min

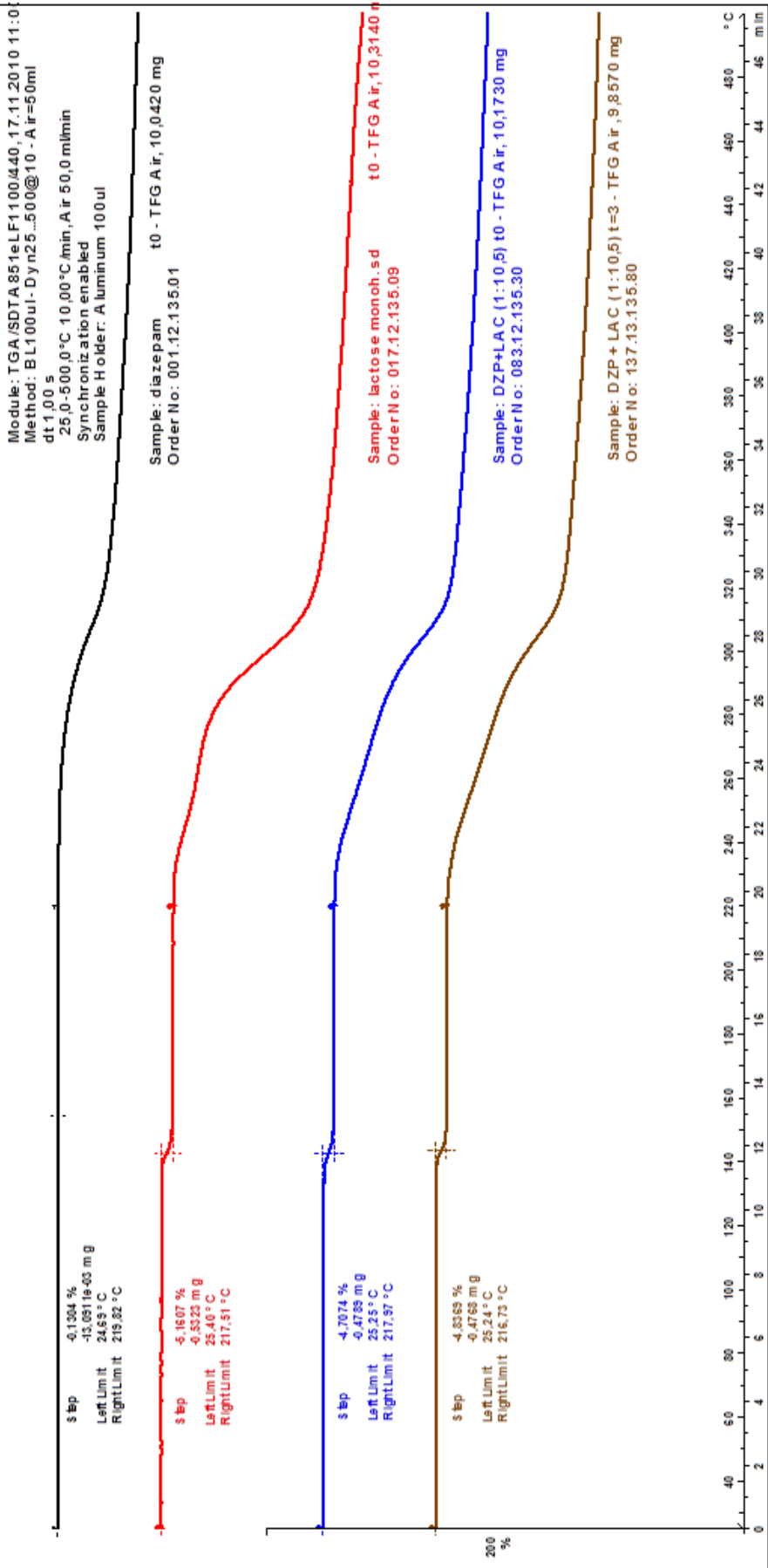
Synchronization enabled



FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR SW 10.00

09.05.2013 15:51:14
 diazepam + LAC (1:10,5) - TGA@10 - Air

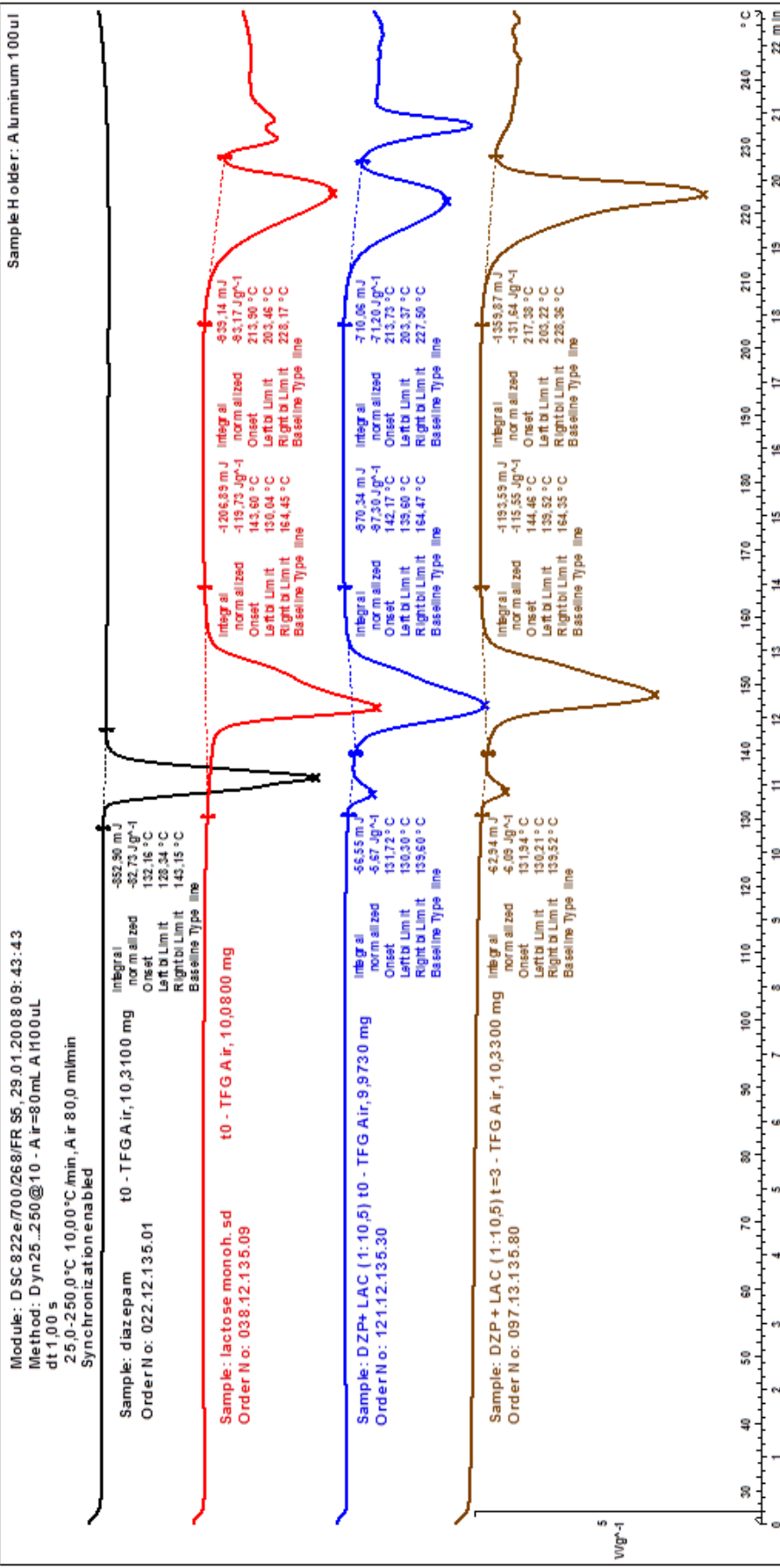


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES STAR^e SW 10.00

^exo

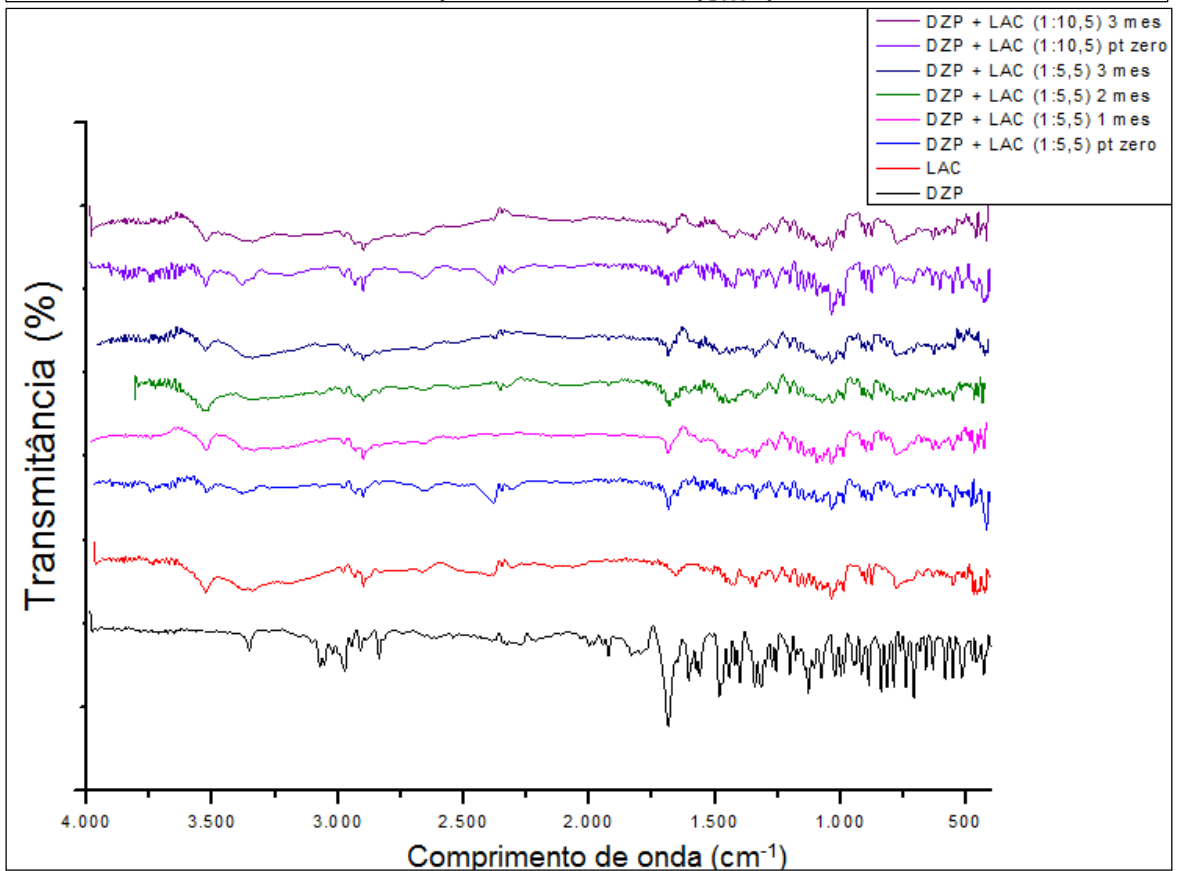
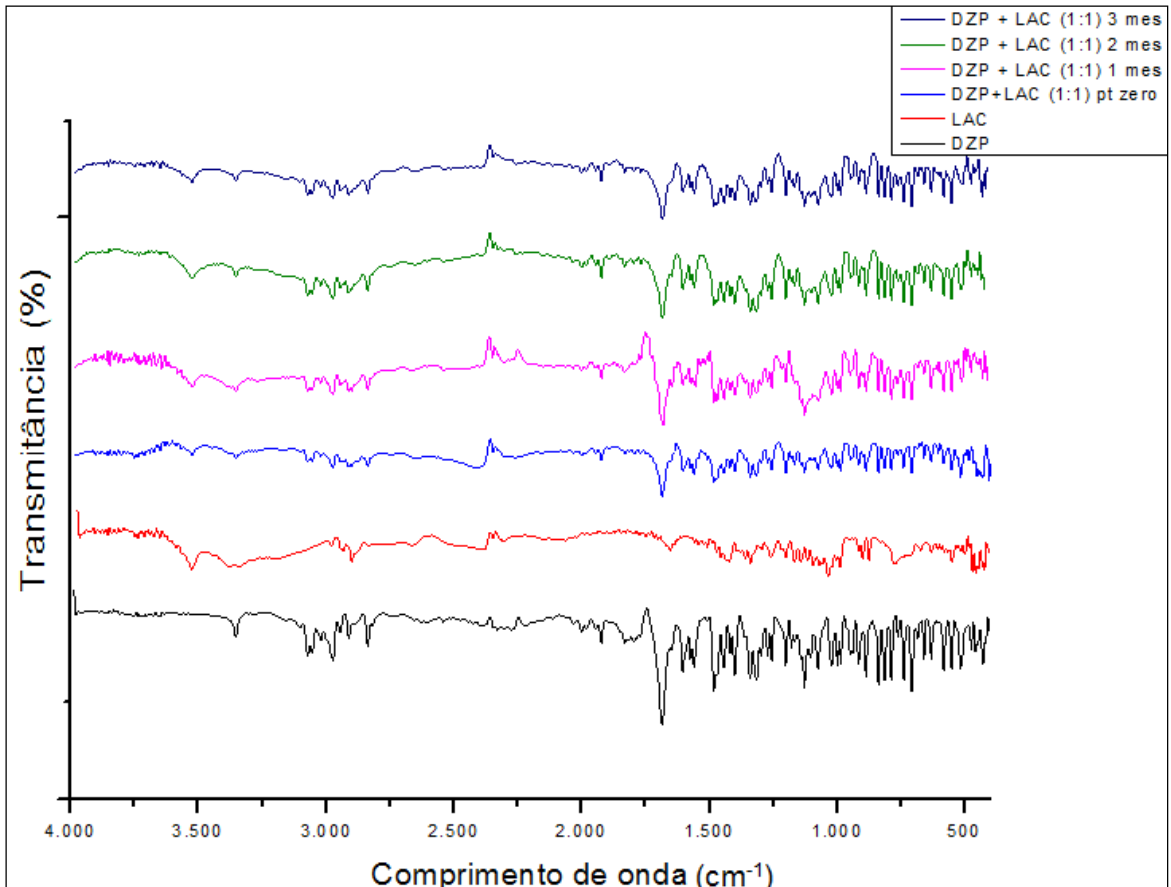
diazepam + LAC (1:10,5) - DSC@10

03.05.2013 13:54:51

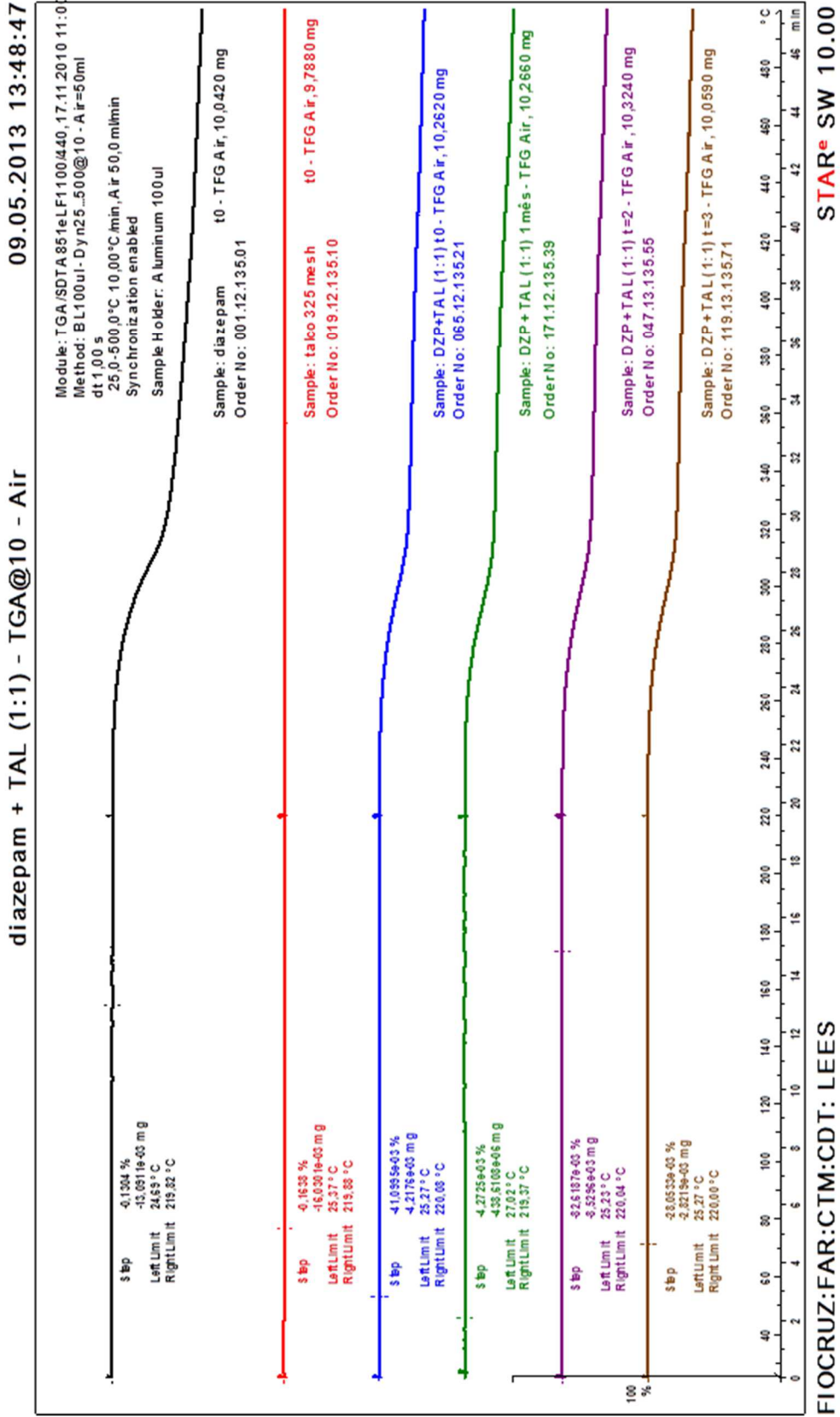


FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

STAR^e SW 10.00



Mistura Diazepam + Talco (DZP+TAL)



\$ bp -0.1304 %
 Left Limit -15.001e+03 mg
 24.53 °C
 Right Limit 219.32 °C

\$ bp -0.1633 %
 Left Limit -16.001e+03 mg
 25.37 °C
 Right Limit 219.38 °C

\$ bp -4.1095e+03 %
 Left Limit -4.2176e+03 mg
 25.27 °C
 Right Limit 220.08 °C

\$ bp -4.2725e+03 %
 Left Limit -4.3510e+03 mg
 27.02 °C
 Right Limit 219.37 °C

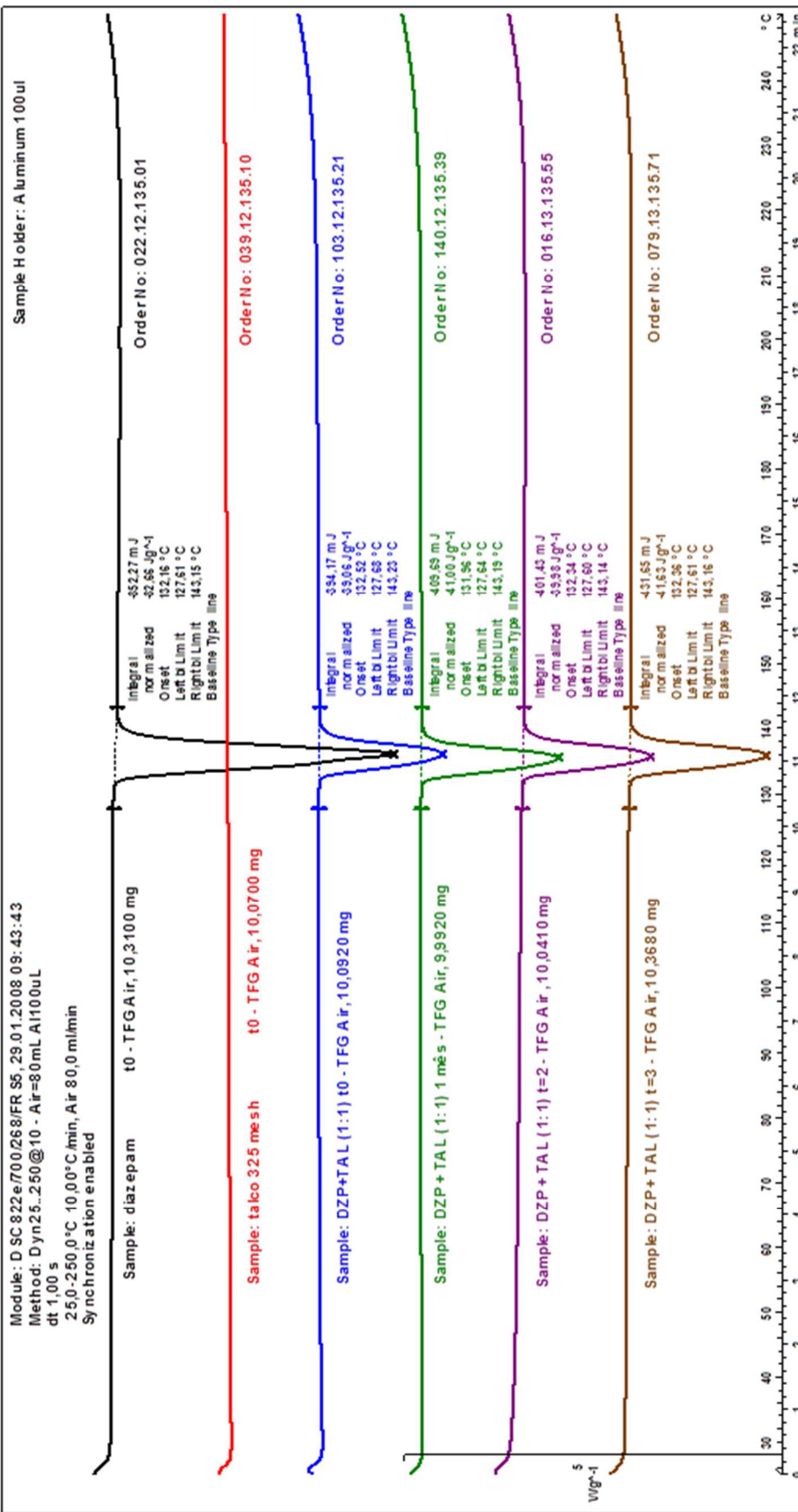
\$ bp -5.25107e+03 %
 Left Limit -5.3298e+03 mg
 25.23 °C
 Right Limit 220.04 °C

\$ bp -2.0533e+03 %
 Left Limit -2.0219e+03 mg
 25.27 °C
 Right Limit 220.00 °C

^exo

diazepam + talco 325 mesh - DSC@10

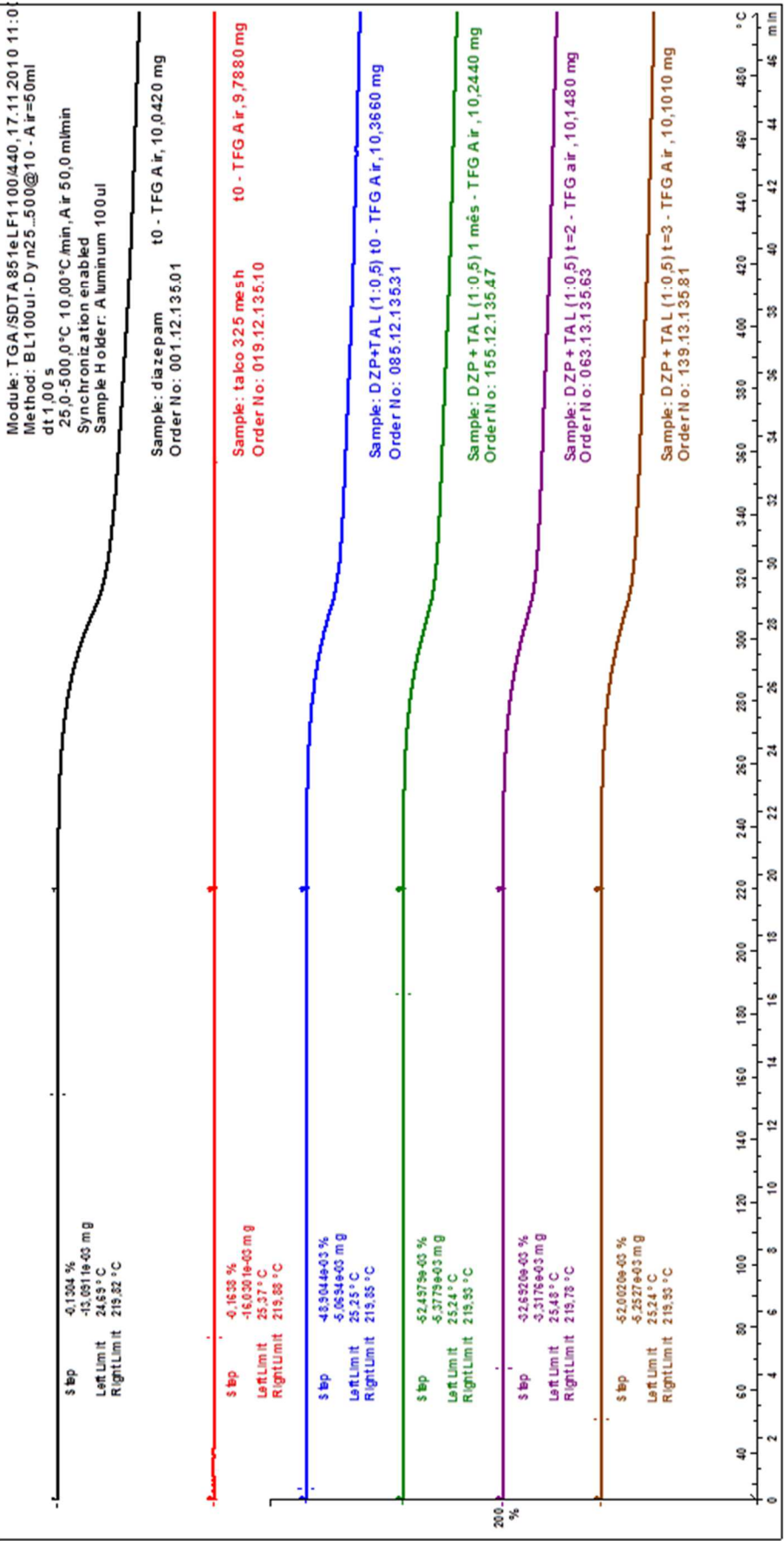
25.03.2013 11:14:34



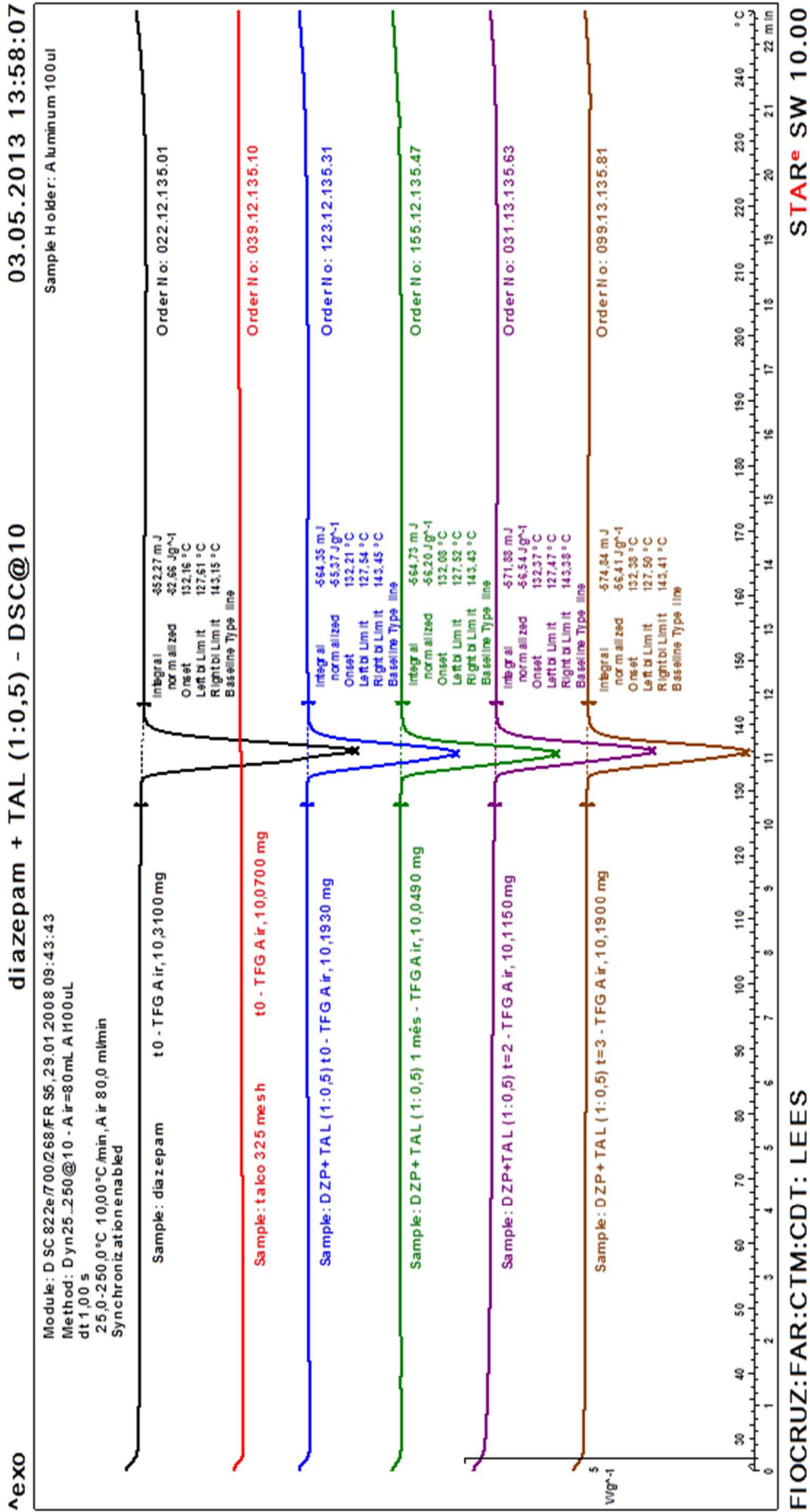
FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES

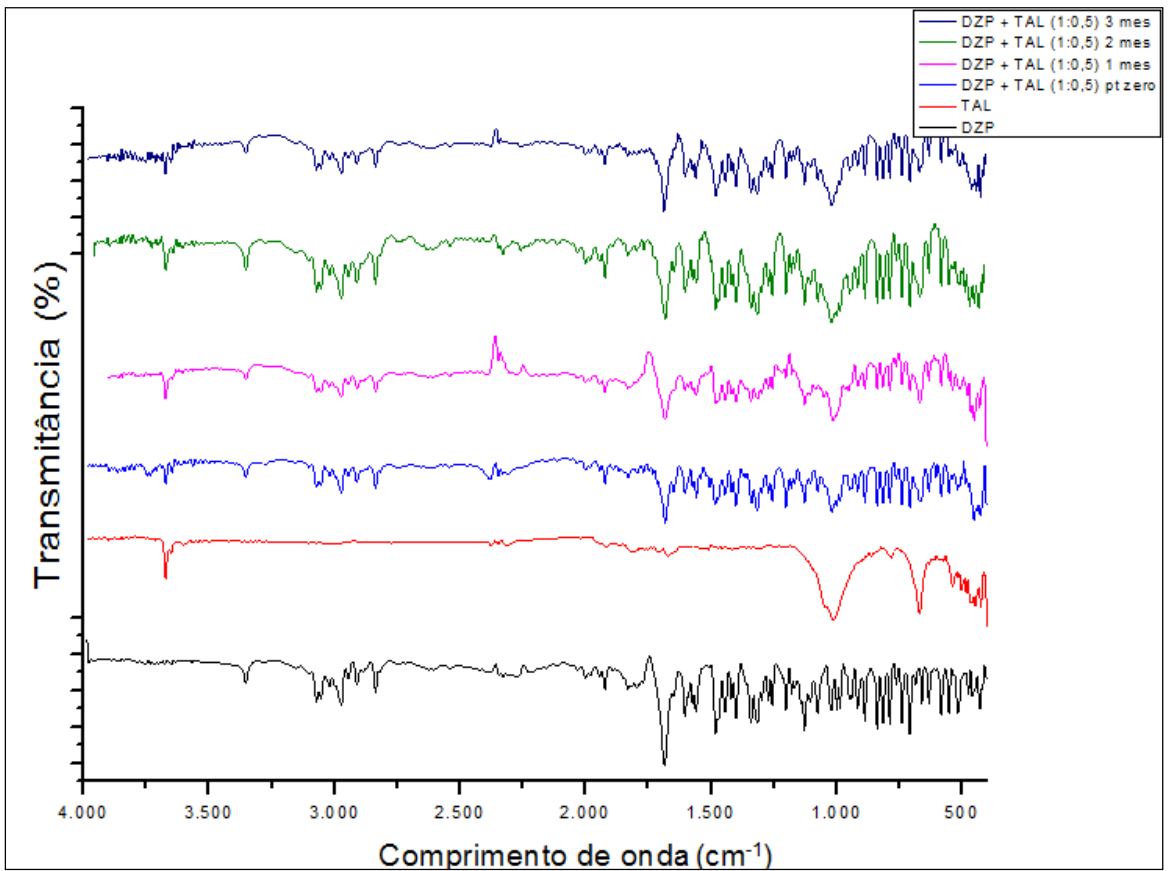
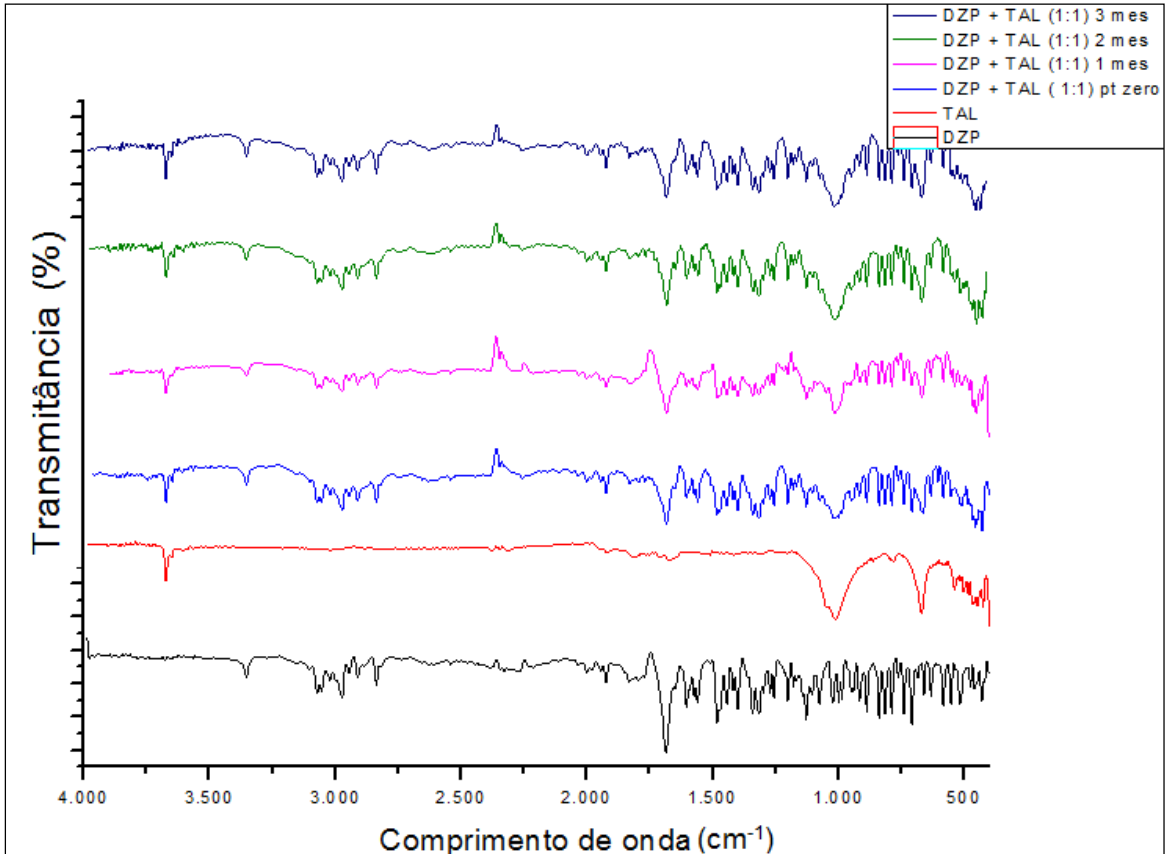
STAR[®] SW 10.00

diazepam + TAL (1:0,5) - TGA@10 - Air 09.05.2013 16:22:23



FIOCRUZ:FAR:CTM:CDT: LEES STAR^e SW 10.00





Anexo 2

Boletim de análise do cálculo do fator de semelhança (f_2) dos lotes experimentais

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 1

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr Lote: EXP 1

Data de fabricação: _____ Data de validade: _____ Data de análise: _____

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr Lote: REF 1

Data de fabricação: _____ Data de validade: _____ Data de análise: _____

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e _____

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

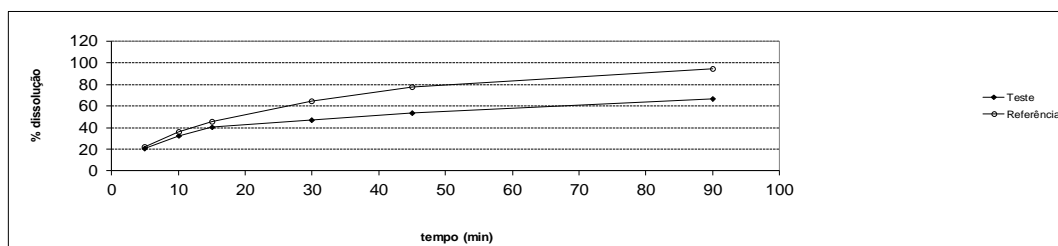
MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	20,5	0,8	4,0
10	32,6	2,5	7,6
15	40,5	2,9	7,1
30	47,1	1,3	2,7
45	53,6	1,8	3,3
90	66,3	2,1	3,2

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	20	2
10	36	33	3
15	46	41	5
30	64	47	17
45	78	54	24
90	94	66	28

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2 50*log
0	2			
1	12	15		
2	27	21	22	67
3	300	115	9	49
4	579	231	7	41
5	770	339	5	37
6		283	6	39

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 39%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO: _____

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 2

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: EXP 2

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

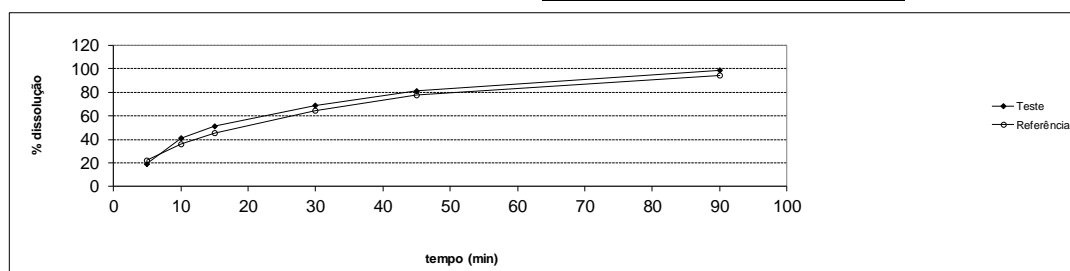
MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	19,3	2,7	14,1
10	41,4	8,1	19,5
15	51,2	8,1	15,8
30	68,8	7,9	11,4
45	81,4	8,0	9,9
90	98,7	6,1	6,1

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	19	3
10	36	41	5
15	46	51	5
30	64	69	4
45	78	81	4
90	94	99	5

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2
				50*log
0	8			
1	29	38		
2	30	34	17	62
3	19	30	18	63
4	14	26	20	65
5	22	25	20	65
6		21	22	67

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 67%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 3

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: EXP 3

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

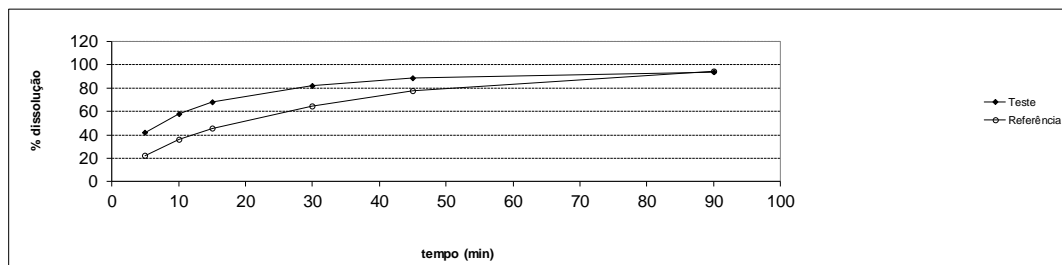
MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	42,2	2,4	5,6
10	58,1	0,7	1,2
15	67,7	1,9	2,8
30	81,9	1,9	2,3
45	88,3	2,6	3,0
90	93,4	2,9	3,1

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	42	20
10	36	58	22
15	46	68	22
30	64	82	17
45	78	88	11
90	94	93	1

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2
				50*log
0	406			
1	489	896		
2	482	690	4	29
3	304	562	4	31
4	114	450	5	34
5	0	360	5	36
6		300	6	38

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 38%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 4

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: EXP 4

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

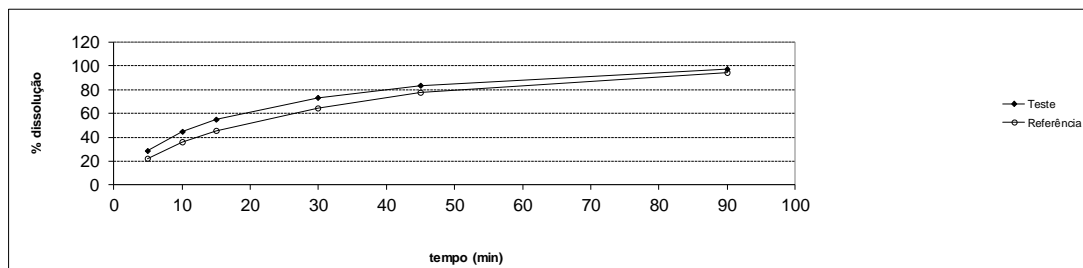
MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	28,9	1,2	4,0
10	44,6	1,0	2,3
15	55,1	1,5	2,8
30	73,5	2,4	3,2
45	83,2	2,6	3,2
90	97,2	2,6	2,7

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	29	7
10	36	45	9
15	46	55	9
30	64	74	9
45	78	83	6
90	94	97	3

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2 50*log
0	47			
1	74	122		
2	88	105	10	49
3	82	98	10	50
4	31	81	11	52
5	10	67	12	54
6		56	13	56

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 56%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 5

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: EXP 5

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

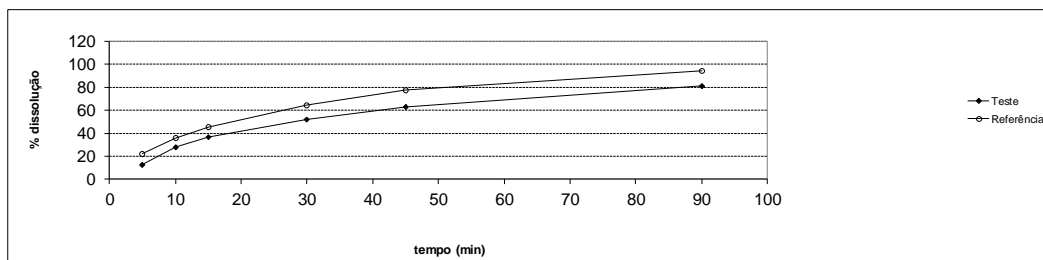
MEDICAMENTO TESTE Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	12,8	0,7	5,3
10	28,0	0,7	2,4
15	36,9	0,9	2,3
30	52,2	2,6	5,0
45	63,3	2,6	4,2
90	81,5	0,9	1,1

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	13	9
10	36	28	8
15	46	37	9
30	64	52	12
45	78	63	14
90	94	81	13

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2 50*log
0	86			
1	63	151		
2	78	115	9	48
3	151	127	9	47
4	205	147	8	46
5	159	150	8	46
6		125	9	48

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 48%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 6

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: EXP 6

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	22,1	0,3	1,2
10	36,0	2,4	6,6
15	45,7	2,5	5,5
30	64,5	1,5	2,4
45	77,6	1,3	1,7
90	94,0	1,0	1,0

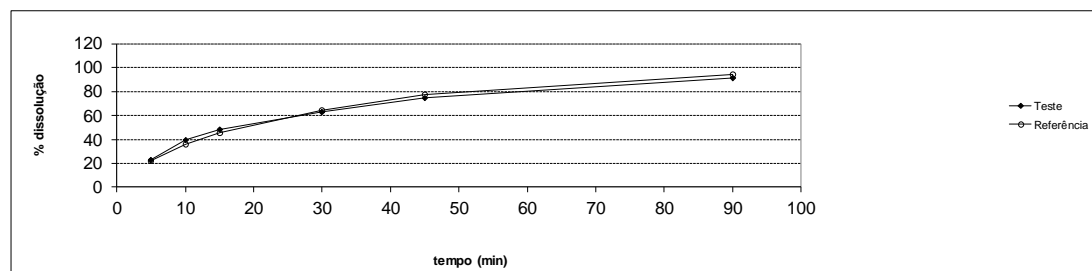
MEDICAMENTO TESTE Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	23,0	0,8	3,7
10	39,8	3,6	9,0
15	48,2	2,5	5,2
30	63,1	1,0	1,7
45	74,5	1,8	2,4
90	91,6	0,7	0,8

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	22	23	1
10	36	40	4
15	46	48	2
30	64	63	1
45	78	74	3
90	94	92	2

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2
				50*log
0	1			
1	14	16		
2	6	12	29	73
3	2	9	34	77
4	10	9	33	76
5	6	9	34	76
6		7	37	78

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 78%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

Anexo 3

Boletim de análise do cálculo do fator de semelhança (f2) dos lotes pilotos

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 7

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: PILOTO 1

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	24,0	0,3	4,7
10	39,0	2,4	4,0
15	49,0	2,5	3,1
30	62,0	1,5	2,8
45	71,0	1,3	2,9
90	85,0	1,0	3,2

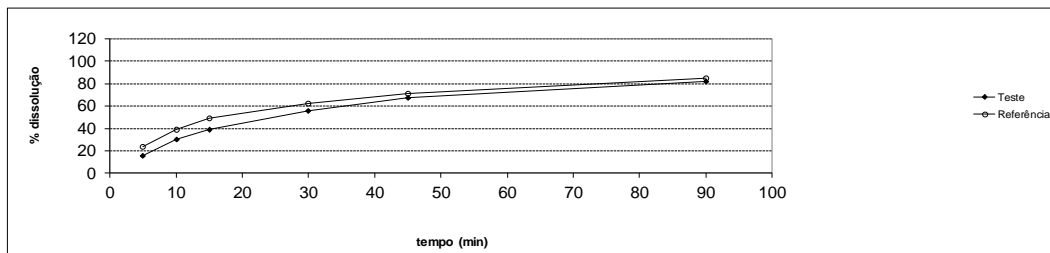
MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	16,0	2,2	3,8
10	30	1,4	6,1
15	39	2,3	3,0
30	56	2,0	3,5
45	67,0	2,2	3,0
90	82	2,0	3,2

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	24	16	8
10	39	30	9
15	49	39	10
30	62	56	6
45	71	67	4
90	85	82	3

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2 50*log
0	64			
1	81	146		
2	100	124	9	48
3	36	95	10	51
4	16	75	12	53
5	9	62	13	55
6		52	14	57

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 57%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

BOLETIM DE ANÁLISE

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 8

Nome do Ativo: Diazepam

Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr

Lote: PILOTO 2

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr

Lote: REF

Data de fabricação: Data de validade:

Data de análise:

Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e

RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	24,0	0,3	4,7
10	39,0	2,4	4,0
15	49,0	2,5	3,1
30	62,0	1,5	2,8
45	71,0	1,3	2,9
90	85,0	1,0	3,2

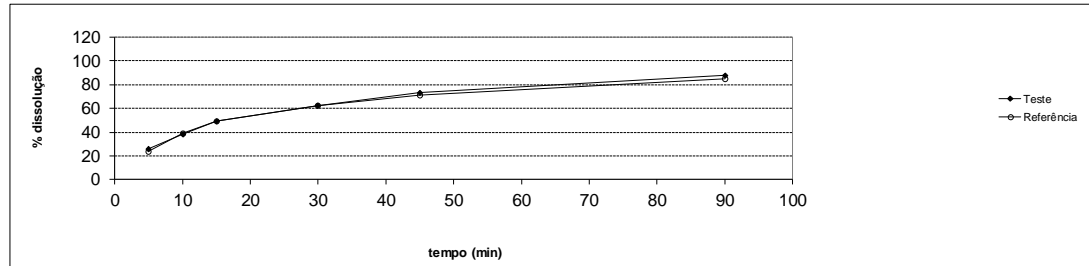
MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	26,0	2,0	11,7
10	38	1,8	6,2
15	49	2,6	5,7
30	62	3,0	4,1
45	73,0	3,8	2,1
90	88	4,3	2,6

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	24	26	2
10	39	38	1
15	49	49	0
30	62	62	0
45	71	73	2
90	85	88	3

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2
0	4			
1	1	6		
2	0	4	53	86
3	0	3	61	89
4	4	3	55	87
5	9	5	47	83
6		4	50	85

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:

Diazepam



CRITÉRIOS

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 85%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:

TESTE: PERFIL DE DISSOLUÇÃO COMPARATIVO - CÁLCULO DE F2

DOCUMENTO No.: 9

Nome do Ativo: Diazepam
 Medicamento Teste: Diazepam 10mg cpr
 Data de fabricação: _____ Data de validade: _____
 Medicamento de Referência: Valium 10mg cpr
 Data de fabricação: _____ Data de validade: _____
 Referência Analítica: RDC 31 de 11 de agosto de 2010 e _____

Lote: PILOTO 3
 Data de análise: _____
 Lote: REF
 Data de análise: _____

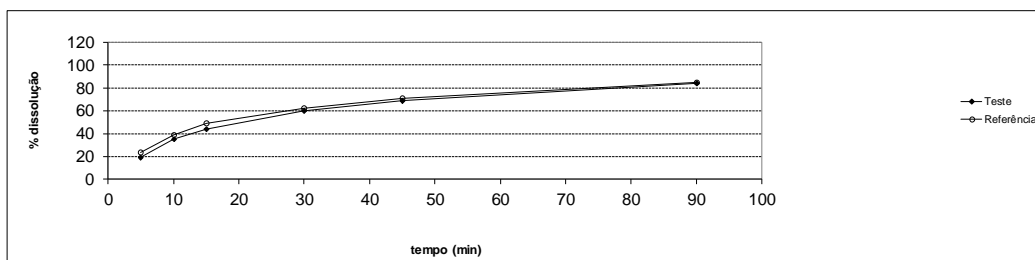
RESULTADOS

MEDICAMENTO REFERÊNCIA			
Valium 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	24,0	0,3	4,7
10	39,0	2,4	4,0
15	49,0	2,6	3,1
30	62,0	1,5	2,8
45	71,0	1,3	2,9
90	85,0	1,0	3,2

MEDICAMENTO TESTE			
Diazepam 10mg cpr			
Tempo (min)	%diss med	dp	DPR %
5	19,0	2,0	5,8
10	35	3,0	6,7
15	44	0,8	1,7
30	60	2,0	3,6
45	69,0	2,9	2,4
90	84	2,8	2,0

Tempo (min)	Curva R	Curva T	R-T
5	24	19	5
10	39	35	4
15	49	44	5
30	62	60	2
45	71	69	2
90	85	84	1

n	(R-T)^2	(soma/n)+1	(1/raiz)*100	F2
0	25			
1	16	42		
2	25	34	17	62
3	4	24	20	65
4	4	20	23	68
5	1	16	25	70
6		14	27	72

1 - Gráfico de perfil de dissolução comparativo do ativo:**Diazepam****CRITÉRIOS**

I - Se a formulação for de liberação imediata e a substância ativa apresentar alta solubilidade, avaliar no tempo de 15 minutos se o Medicamento Teste e o Medicamento Referência apresentam dissolução média de no mínimo 85%.

Caso positivo não é necessário calcular F2;

II - Para fins de cálculo F2, incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

III - O valor de F2 deve estar compreendido entre 50 a 100.

IV - Para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os dois primeiros tempos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%.

Caso o critério não seja atendido, os perfis de dissolução não são considerados semelhantes.

CONCLUSÃO

Os Medicamentos Referência e Teste apresentam dissolução média de, no mínimo, 85% em 15 minutos?

Sim Não

Se não, F2= 72%

O Medicamento Teste tem perfil de dissolução semelhante ao Medicamento Referência?

Sim Não

OBSERVAÇÃO:
