

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

Fatores relacionados à síntese de matérias-primas que podem
alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico

FERNANDA SIMIONI GASPAROTTO

PORTO ALEGRE, 2005

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

Fatores relacionados à síntese de matérias-primas que podem
alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico

Dissertação apresentada por
Fernanda Simioni Gasparotto para
obtenção do GRAU DE MESTRE em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich

Porto Alegre, 2005

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 17.03.2005, pela Comissão Examinadora Constituída por:

Profa. Dr. Ana Maria Bergold
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Istefani Carísio de Paula
Universidade Luterana do Brasil

Profa. Dr. Teresa Cristina Tavares Dalla Costa
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

G249f Gasparotto, Fernanda Simioni
Fatores relacionados à síntese de matérias-primas que podem alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico / Fernanda Simioni Gasparotto - Porto Alegre: UFRGS, 2005. – 98 p.: il., tab., gráf.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Medicamentos genéricos. 2. Mebendazol 3. Polimorfismo. 4. Biodisponibilidade. I. Fröhlich, Pedro Eduardo II. Título.

CDU: 615.2.011

Bibliotecária responsável:
Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira – CRB10/480

Dedico esse trabalho aos meus pais
que, mesmo longe, estão sempre
presentes em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Antes de qualquer gesto e palavra, agradeço a Deus.

Agradeço muito especialmente a Agência Nacional de Vigilância Sanitária pela oportunidade e condições de realização desse Mestrado.

Agradeço ao professor Pedro pelos ensinamentos, pela competência e pela tranquilidade com que conduziu a orientação desse trabalho.

Agradeço a Faculdade de Farmácia da UFRGS - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas por ter me oferecido um curso de qualidade.

Agradeço aos professores do Pós Graduação pelas informações e pela disposição em compartilhar seus conhecimentos.

Agradeço aos funcionários da Secretaria de Pós Graduação pelo auxílio nas questões burocráticas, especialmente a Dejanira.

Agradeço às pessoas que me auxiliaram na parte experimental desse trabalho, especialmente ao Alexandre.

Agradeço aos meus colegas de turma, Gabriela, Suzana, Eneida, Graça, Josélia, Silvana, Leandro e Carlos, pelo convívio e amizade.

Agradeço ao meu chefe, Geraldo Fenerich, pelo incentivo e compreensão das minhas ausências em função deste curso.

Agradeço aos meus pais, Edne e Rubens, e a minha irmã Lia, pelo apoio e incentivo, e por acreditarem na minha capacidade para realização desse trabalho.

Agradeço ao Fabiano por entender o significado deste trabalho pra mim.

Agradeço a todos os meus colegas e amigos que, de uma forma ou de outra, colaboraram para a realização desta dissertação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo Geral	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3 REVISÃO	11
3.1 Sistema LADME	13
3.1.1 Liberação/ Dissolução	13
3.1.2 Absorção	14
3.1.3 Distribuição	15
3.1.4 Metabolismo	16
3.1.5 Excreção	17
3.2 Biodisponibilidade e Bioequivalência	17
3.3 Correlação <i>In Vitro</i> e <i>In Vivo</i> (CIVIV)	23
3.4 Fatores físico-químicos que afetam a biodisponibilidade de fármacos	27
3.4.1 Tamanho de partícula	28
3.4.2 Forma cristalina ou amorfa	29
3.4.3 Higroscopicidade	30
3.4.4 Coeficiente de partição	30
3.4.5 Forma de sal	30
3.4.6 Solubilidade	31
3.4.7 Isomeria	31
3.4.8 Outros fatores	32
3.5 Síntese de fármacos	34
3.5.1 Polimorfismo.....	35

3.5.1.1 Formas polimórficas do mebendazol	41
3.5.2 Estereoquímica	45
4 MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1 Material	53
4.2 Métodos	54
4.2.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV)	54
4.2.2 Perfis de dissolução	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV)	60
5.1.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV) dos fármacos	60
5.1.2 Espectrofotometria no infravermelho (IV) dos comprimidos	63
5.2 Perfis de dissolução	71
5.3 Sugestão	73
6 CONCLUSÃO	75
7 REFERÊNCIAS	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Curva de concentração sérica vs. tempo, mostrando a elevação máxima de concentração máxima e a área sobre a curva	20
Figura 2:	Termogramas de calorimetria diferencial dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL <i>et. al.</i> , 2003b).....	44
Figura 3:	Difração de raio-x dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL <i>et. al.</i> , 2003b)	44
Figura 4:	Espectroscopia no infravermelho dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL <i>et. al.</i> , 2003b)	45
Figura 5:	Projeção do composto 2,3,4 – tri-hidroxi-butanal. Os pares I e II, III e IV são enantiômeros, e os 4 compostos são diastereoisômeros	47
Figura 6:	Molécula do mebendazol e as ligações observadas no espectrofotômetro na região do infravermelho	59
Figura 7:	Espectros de IV da amostra A	60
Figura 8:	Espectros de IV da amostra B	61
Figura 9:	Espectros de IV da amostra C	61
Figura 10:	Espectros de IV da amostra D	62
Figura 11:	Espectros de IV da amostra E.....	62
Figura 12:	Espectros de IV de medicamento (I) contendo polimorfo A	65
Figura 13:	Espectros de IV de medicamento (II) contendo polimorfo A	65
Figura 14:	Espectros de IV de medicamento (III) contendo polimorfo A	66
Figura 15:	Espectros de IV de medicamento (IV) contendo polimorfo A	66
Figura 16:	Espectros de IV de medicamento (V) contendo polimorfo A	67
Figura 17:	Espectros de IV de medicamento (VI) contendo polimorfo B	68
Figura 18:	Espectros de IV de medicamento (VII) contendo polimorfo B	68
Figura 19:	Espectros de IV de medicamento (VIII) contendo polimorfo C	69
Figura 20:	Espectros de IV de medicamento (IX) contendo polimorfo C	69
Figura 21:	Espectros de IV de medicamento (X) contendo polimorfo C	70
Figura 22:	Perfil de dissolução dos diferentes polimorfos do mebendazol pelo método USP modificado (sem adição de lauril sulfato de sódio)	72

LISTA DE ABREVIATURAS

LADME – Liberação, Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção

C_{máx} – Pico de Concentração máxima

T_{máx} – tempo no qual ocorre a concentração máxima

ASC – Área sob a curva

FDA – Food and Drug Administration

EMA – European Medicines Evaluation Agency

DCB – Denominação Comum Brasileira

DCI – Denominação Comum Internacional

CIVIV – Correlação *in vitro* e *in vivo*

SCB – Sistema de Classificação Biofarmacêutica

AS – Alta solubilidade

AP – Alta permeabilidade

BS – Baixa solubilidade

BP – Baixa permeabilidade

Fator f1 – Porcentagem de diferença entre dois perfis avaliados a cada tempo de coleta

Fator f2 – Medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis

DSC – Calorimetria diferenciada

TGA – Análise térmica gravimétrica

IV – infravermelho

NMR – Ressonância magnética nuclear

Ph. Eur. – Farmacopéia Européia

USP – United States Pharmacopeia

NIR – espectrofotometria na região de infravermelho próxima

DL50 – Dose letal capaz de matar 50% dos animais em experimentação

LSS – Lauril sulfato de sódio

XRPD – Difração de raio-X

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

CGL – Cromatografia gás-líquido

ORD – Biorrefringência circular e dispersão óptica rotatória

CD – Dicroísmo circular

KBr – Brometo de potássio

Min – Minutos

RESUMO

A eficácia terapêutica, segurança e intercambialidade dos medicamentos genéricos em relação ao medicamento de referência são comprovadas pelos ensaios de equivalência farmacêutica e bioequivalência. No entanto, alguns fatores que podem interferir na biodisponibilidade do princípio ativo, como o polimorfismo e a quiralidade, não são avaliados adequadamente. O presente trabalho teve como objetivo demonstrar, por meio de uma revisão da literatura, como alterações na rota de síntese de um fármaco podem afetar a biodisponibilidade/bioequivalência do medicamento genérico. Uma parte experimental foi realizada para a identificação de polimorfos em matérias-primas e medicamentos (genéricos e referência) do mebendazol, que apresenta 3 polimorfos distintos, com diferentes propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas e, inclusive, diferentes comportamentos *in vivo*. Através de testes simples e rápidos, como a espectroscopia de infravermelho e ensaio de perfil de dissolução, foi possível caracterizar a presença dos diferentes polimorfos do mebendazol em matérias-primas e medicamentos disponíveis no mercado. Para o perfil de dissolução utilizou-se método modificado (sem lauril sulfato de sódio) da Farmacopéia Americana (USP 27), uma vez que o meio de dissolução preconizado impediu a diferenciação de polimorfos, deixando evidente que as monografias farmacopéicas não apresentam, normalmente, ensaios para a identificação das possíveis formas polimórficas de um mesmo fármaco. Os resultados obtidos demonstram que as 3 formas polimórficas do mebendazol estão presentes nos medicamentos e duas delas em matérias-primas, sugerindo que um maior controle deveria ser utilizado para a seleção de matérias-primas que apresentam polimorfismo, assegurando a qualidade de medicamentos genéricos.

Palavras-chave: medicamento genérico, rota de síntese, polimorfismo, estereoisômeros, biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução.

ABSTRACT

The safety, performance, and interchangeability of generic drugs are established comparing them with a reference product evaluating their pharmaceutical equivalence and bioequivalence. However, factors like stereochemistry and polymorphism, for instance, are not adequately considered. The objective of the present work was to review the most important factors in the synthetic route of a drug that can affect the bioavailability/bioequivalence of generic formulations. In order to demonstrate the importance of this issue, some samples of mebendazol bulk substance and tablets (generics and reference) were analyzed to identify polymorphism, using infrared spectroscopy (FTIR) and dissolution tests, and it was possible to identify all three polymorphic forms of mebendazol. To obtain the dissolution profile of the tablets, a USP modified method was used, without the addition of sodium lauril sulphate, once it was noticed that this addition do not allow the differentiation among the three polimorphs. This fact suggests that the pharmacopeias should pay special attention to include adequate tests to characterize polymorphism. According to the results, all three polymorphic forms of mebendazol were found among the tablets and two of them in the bulk substances, indicating that more rigorous quality control tests should be used to guarantee the quality of generic drugs.

Keywords: generic drug, synthetic route, polymorphism, stereoisomer, bioavailability, bioequivalence, dissolution.

A confiabilidade dos medicamentos genéricos é assegurada através da definição de rígidos critérios de qualidade adequados para análise e concessão de registros desses medicamentos, previstos na legislação, sendo que a comprovação da eficácia terapêutica, segurança e intercambialidade dos genéricos em relação ao medicamento de referência, através da realização dos ensaios de equivalência farmacêutica e bioequivalência, é fundamental para o deferimento do registro (ANVISA, 2004).

No entanto, deve-se levar em conta que medicamentos contendo a mesma quantidade de princípio ativo e excipientes não necessariamente apresentam o efeito terapêutico na mesma intensidade, uma vez que alterações na rota de síntese do fármaco podem provocar alterações nas características físico-químicas do fármaco e das substâncias empregadas na formulação e na tecnologia de fabricação, podendo ter influência significativa na biodisponibilidade do princípio ativo, comprometendo a eficácia clínica do produto (ZHANG *et al.*, 2004).

Muitas vezes, os fatores que poderiam provocar alguma alteração na molécula do fármaco não são avaliados adequadamente na etapa de síntese. Porém, é nesta etapa que podem ocorrer modificações na molécula, provocando alterações na biodisponibilidade e eficácia do medicamento. Por isso, é essencial que as reações de uma rota sintética possam ser controladas e planejadas adequadamente para a obtenção da molécula desejada.

Considerando estes aspectos, é importante verificar a existência de polimorfos que possam ser formados durante o último estágio do desenvolvimento de um composto (STRENG, 1997).

A presença de polimorfos é uma das principais fontes de variação no comportamento de dissolução dos fármacos, sendo que a influência sobre a velocidade de dissolução é determinada por mudanças na solubilidade dos distintos polimorfos (MARTÍN & VILADROSA, 2000). Qualquer alteração na forma de cristalização pode, assim, alterar também a biodisponibilidade, a estabilidade química e física e ter implicações na elaboração da forma farmacêutica (ANSEL *et al.*, 2000; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

Fatores tecnológicos como a utilização de solventes de cristalização, precipitação, processos de compressão e redução do tamanho de partículas são de grande importância na transição polimórfica de fármacos. Caso no momento da formulação não se verifique qual será o polimorfo utilizado pode-se obter um produto ineficaz devido ao comprometimento da dissolução do princípio ativo e, conseqüentemente, de sua biodisponibilidade.

Outro aspecto a ser considerado e que enfatiza a importância do controle da rota de síntese é o comportamento estereoquímico das moléculas (ANSEL *et al.*, 2000). Grande parte das moléculas biológicas é quiral, sendo isoladas normalmente como um único estereoisômero. Moléculas quirais são aquelas que apresentam na sua estrutura química carbono assimétrico e composição química idêntica. A maior parte das rotas de síntese leva à produção de racematos, ou seja, de uma mistura equimolar de estereoisômeros (RENTSCH, 2002).

Aparentemente, é irrelevante essa diferença espacial entre os enantiômeros (moléculas que são imagem uma da outra e não são sobreponíveis), mas estes compostos podem apresentar atividades biológicas distintas (LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

Portanto, são inúmeros os efeitos oriundos da quiralidade de uma molécula, o que pode ocasionar sérias conseqüências se esta molécula for de interesse farmacológico, pois, se existem enantiômeros que possuam a mesma atividade biológica, há também aqueles que diferem em relação à intensidade da ação ou mesmo aqueles que possuem atividades completamente diferentes (LIMA, 1997;

RENTSCH, 2002). O que se sabe, enfim, é que estereoisômeros demonstram interesses terapêuticos diferentes por apresentarem, na grande maioria das vezes, perfis terapêuticos diferentes (LIMA, 1997).

Embora seja conhecido o fato que podem ocorrer alterações durante a rota de síntese do fármaco que venham a influenciar o desempenho do medicamento, não é dada a devida importância para esse aspecto.

A legislação em vigor que regulamenta o registro do medicamento genérico no Brasil, a Resolução RDC nº 135, de 29 de maio de 2003, permite no máximo três fabricantes para o fármaco, sendo solicitado a estes informações sobre prováveis polimorfos e dados sobre os teores dos estereoisômeros, no caso de fármacos que apresentam quiralidade (BRASIL, 2003a). No entanto, os estudos de bioequivalência e equivalência farmacêutica apresentados referem-se apenas a uma formulação, que é fabricada com o princípio ativo de um fabricante. Caso a empresa utilize mais de um fabricante, para os demais lotes do medicamento produzido com o princípio ativo dos outros fabricantes não é necessário realizar um outro estudo de bioequivalência nem equivalência farmacêutica. Deste modo, diferentes lotes do mesmo medicamento podem ser produzidos a partir de diferentes formas polimórficas e/ou diferentes isômeros, comprometendo a biodisponibilidade/bioequivalência e, conseqüentemente, sua eficácia e segurança.

Baseado no exposto, o presente trabalho pretende abordar como alterações na rota de síntese de um fármaco, especificamente a formação de diferentes polimorfos e a presença de isômeros diferentes, podem influenciar a biodisponibilidade/bioequivalência de um medicamento genérico, afetando o desempenho do produto final.

2.1 Objetivo geral

Demonstrar, através de uma revisão da literatura, a importância da rota de síntese na biodisponibilidade/bioequivalência do medicamento genérico.

2.2 Objetivos específicos

- Discutir como diferentes formas polimórficas de um mesmo fármaco afetam a dissolução e, conseqüentemente, a biodisponibilidade;
- Discutir como diferentes isômeros formados afetam significativamente o desempenho do produto final;
- Verificar experimentalmente a existência de diferentes polimorfos em medicamentos genéricos e matérias-primas, utilizando como exemplo o mebendazol.

3.1 Sistema LADME

A resposta biológica a um fármaco é resultado de sua interação com os receptores celulares ou sistemas enzimáticos importantes. No entanto, o fármaco precisa estar em concentrações adequadas no local de ação para produzir seus efeitos característicos, sendo que essa concentração depende da dose administrada, da quantidade absorvida, da distribuição no local de ação e da velocidade e quantidade eliminada do organismo (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999; VIDAL & BERROZPE, 2000).

Os processos distribuição, biotransformação (metabolismo) e eliminação do organismo são processos dinâmicos e duram desde o momento em que o fármaco é administrado até que toda sua totalidade seja eliminada (ANSEL *et al.*, 2000).

3.1.1 Liberação/ Dissolução

Para que um fármaco seja absorvido, ele precisa antes ser dissolvido no líquido do local de absorção (ANSEL *et al.*, 2000; MARTÍN & CODINA, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

Conforme uma partícula sofre dissolução, as moléculas do fármaco da superfície são as primeiras a entrar em solução, criando uma camada sólida do fármaco-solução que envolve a superfície da partícula sólida. A partir dessa camada, as moléculas do fármaco passam através do líquido solvente e fazem contato com as membranas biológicas, ocorrendo a absorção (ANSEL *et al.*, 2000; MARTÍN & VILADROSA, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

A velocidade pela qual o fármaco pouco solúvel se dissolve ou se desintegra de uma forma sólida no trato gastrointestinal freqüentemente controla a taxa de absorção do fármaco. Portanto, os testes de dissolução permitem verificar diferentes fatores na formulação que possam afetar a biodisponibilidade do fármaco (RITSCHER & KEARNS, 1999; SHARGEL & YU, 1999).

3.1.2 Absorção

Para que os fármacos possam exercer seu efeito terapêutico, eles devem inicialmente alcançar a circulação sistêmica. A rota a percorrer até chegar a corrente circulatória vai depender da via de administração utilizada (SHARGEL & YU, 1999; VENGUT & MACIÁ, 2000). No entanto, os fármacos administrados por via intravenosa entram diretamente no sistema circulatório, evitando assim, o processo de absorção que ocorre quando são utilizadas as outras vias de administração (ANSEL *et al.*, 2000; VENGUT & MACIÁ, 2000).

O fármaco precisa ultrapassar várias barreiras antes que possa atingir seu local de ação nas concentrações efetivas. Embora a química das membranas corporais seja diferente, elas podem ser consideradas como uma camada lipídica bimolecular ligada de ambos os lados a uma camada de proteína. Acredita-se que os fármacos penetrem nessas membranas biológicas de dois modos: por difusão passiva e por mecanismos de transporte especializado (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999; VENGUT & MACIÁ, 2000)

- Difusão passiva: a maioria dos fármacos é absorvida por difusão através da bicamada lipídica e a favor do gradiente de concentração; diz-se que os fármacos absorvidos por esse método são absorvidos passivamente, pois não há consumo de energia (ANSEL *et al.*, 2000; VENGUT & MACIÁ, 2000).

- Mecanismo de transporte especializado: este processo implica em três passos; união de um fármaco ao carreador, alteração conformacional no carreador e dissociação do fármaco do complexo fármaco-carreador. O fármaco absorvido

por este tipo de transporte se une, em primeiro lugar, a uma porção específica da molécula do carreador, formando um complexo fármaco-carreador (VENGUT & MACIÁ, 2000). Posteriormente, como consequência de uma alteração conformacional da proteína, o complexo move-se através da membrana, liberando o fármaco do outro lado e o carreador retorna para a superfície original (ANSEL *et al.*, 2000; VENGUT & MACIÁ, 2000).

Este transporte se caracteriza por sua seletividade e saturabilidade. Trata-se de um processo seletivo uma vez que o carreador tem afinidade somente para certos compostos, de modo que se duas substâncias forem transportadas pelo mesmo mecanismo uma poderá inibir de modo competitivo o transporte da outra. Por outro lado, o número de moléculas que são absorvidas depende do número de carreadores existentes na membrana absorvente. Visto que este número é limitado, o transporte pode saturar se a concentração do fármaco for muito elevada, resultando em atraso no processo de “travessia” ou de transporte (ANSEL *et al.*, 2000; VENGUT & MACIÁ, 2000).

3.1.3 Distribuição

Uma vez administrado e iniciada sua absorção, o fármaco não permanece em um só local, mas é distribuído por todo o organismo, até a eliminação (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

Os vários locais do organismo para os quais o fármaco se dirige podem ser considerados como compartimentos isolados, cada um contendo uma fração da dose administrada (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

A transferência dessas substâncias do sangue para outros locais, em geral, é um processo rápido e reversível, o que faz com que sua concentração sangüínea possa ser bem diferente da concentração nos outros compartimentos. Isso se deve grandemente às propriedades físico-químicas do fármaco e à sua

capacidade de deixar o sangue e atravessar as membranas biológicas (ANSEL *et al.*, 2000; BENET *et al.*, 1996; SHARGEL & YU, 1999).

3.1.4 Metabolismo

A transformação bioquímica ou o metabolismo das substâncias farmacêuticas é o meio utilizado pelo organismo para transformar moléculas não polares do fármaco em compostos polares, que são prontamente eliminados. Enzimas específicas e não específicas participam do metabolismo do fármaco, principalmente no fígado. Os fármacos que entram na circulação hepática depois da absorção no intestino e antes de atingir pela primeira vez a circulação sistêmica, como ocorre na administração por via oral, ficam particularmente expostos à rápida metabolização. Essa metabolização pré-sistêmica que o fármaco pode sofrer antes de atingir pela primeira vez a circulação sistêmica é denominada efeito de primeira passagem (ANSEL *et al.*, 2000; RITSCHER & KEARNS, 1999; SHARGEL & YU, 1999).

No processo de metabolismo, o fármaco pode ser biotransformado em metabólitos ativos ou inativos, sendo que, com frequência, o fármaco e seu(s) metabólito(s) são ativos e têm efeitos farmacológicos. Em alguns casos, um fármaco inativo (denominado pró-fármaco) pode ser administrado visando aos efeitos conhecidos de seus metabólitos. Já o metabolismo de um fármaco em produtos inativos é, na maioria dos casos, um processo irreversível que termina na excreção do organismo (ANSEL *et al.*, 2000; RITSCHER & KEARNS, 1999; SHARGEL & YU, 1999).

As reações de biotransformação de um fármaco são classificadas como reações de funcionalização, ou fase I, e reações biossintéticas, ou fase II. As reações de fase I, em geral, resultam na perda da atividade farmacológica, enquanto os conjugados formados pelas reações de fase II são altamente polares

e costumam ser inativos, sendo excretados com rapidez na urina e nas fezes (BENET *et al.*, 1996; RITSCHER & KEARNS, 1999; SHARGEL & YU, 1999).

3.1.5 Excreção

Os fármacos são eliminados do organismo inalterados ou na forma de metabólitos. Com exceção dos pulmões, os órgãos excretores eliminam de forma mais eficiente os compostos polares do que as substâncias com baixa solubilidade. Desta forma, os fármacos lipossolúveis não são totalmente eliminados até serem metabolizados em compostos mais polares (BENET *et al.*, 1996).

Os rins são os órgãos mais importantes de eliminação de fármacos e seus metabólitos, enquanto que as substâncias excretadas nas fezes são fármacos ingeridos por via oral e que não foram absorvidos ou são os metabólitos excretados pela bile e que não foram reabsorvidos pelo trato gastrointestinal (BENET *et al.*, 1996).

3.2 Biodisponibilidade e Bioequivalência

Após a administração oral de um medicamento, os dados resultantes da coleta e análise do conteúdo do fármaco em amostras sanguíneas em intervalos determinados compõem um gráfico que produz o tipo de curva de concentração do fármaco. O eixo vertical mostra a concentração sanguínea (ou sérica ou plasmática) e o eixo horizontal representa o tempo em que as amostras foram obtidas depois da administração (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

No momento que o fármaco é administrado por uma via não sistêmica (tempo zero), a concentração sanguínea também deve ser zero. Quando passa para o estômago e/ou o intestino, no caso da via oral, é liberado da forma farmacêutica e finalmente se dissolve e é absorvido. Conforme a amostragem e a

análise prosseguem, as amostras sangüíneas revelam concentrações crescentes do fármaco até que a concentração máxima ($C_{m\acute{a}x}$) seja atingida. A seguir, a concentração do fármaco no sangue diminui progressivamente e, se não forem administradas outras doses, no final cai para zero. Esta diminuição indica que a velocidade de eliminação do fármaco da corrente sangüínea é maior que a de absorção para o sistema circulatório. No entanto, a absorção não termina depois da concentração máxima ser atingida, podendo continuar por um certo período. De modo similar, o processo de eliminação é contínuo (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

A análise do fármaco ou de seus metabólitos na urina pode ser usada para indicar a extensão de absorção e/ou sua velocidade de eliminação do organismo (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

Na avaliação das curvas da concentração sangüínea depois da administração de doses simples de duas formulações da mesma entidade farmacêutica, alguns parâmetros importantes devem ser considerados: o pico de concentração máxima ($C_{m\acute{a}x}$), o tempo no qual ocorre o pico de concentração máxima ($T_{m\acute{a}x}$) e a área sob a curva de concentração sangüínea (ou sérica ou plasmática) (ASC).

O pico de concentração máxima ($C_{m\acute{a}x}$) é a concentração máxima do fármaco observada no plasma ou soro sangüíneo, depois da administração de uma dose. Para as formas farmacêuticas convencionais, como comprimidos ou cápsulas, a $C_{m\acute{a}x}$ normalmente ocorre em apenas um ponto no tempo denominado $T_{m\acute{a}x}$. A quantidade de fármaco normalmente é expressa em termos de sua concentração relativa a um volume específico de sangue, soro ou plasma. A dose administrada influencia a concentração sangüínea e a $C_{m\acute{a}x}$ do fármaco (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

O tempo no qual ocorre o pico de concentração máxima ($T_{m\acute{a}x}$) é o tempo necessário para atingir o pico de fármaco no sangue. Esse parâmetro reflete a velocidade de absorção do fármaco em uma determinada forma farmacêutica. É

sua velocidade de absorção que determina o tempo necessário para que a concentração mínima efetiva seja atingida e assim, tenha início o efeito farmacológico desejado (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

A área sob a curva de concentração sangüínea (ou sérica ou plasmática) (ASC) é a área sob a curva de um gráfico de concentração-tempo que representa a quantidade total de fármaco absorvida na circulação depois da administração de uma dose. As doses equivalentes, quando totalmente absorvidas, produzem a mesma ASC. Assim, duas curvas muito diferentes em termos de altura máxima e de tempo máximo podem ser bastante semelhantes em termos de ASC e, portanto, na quantidade de fármaco absorvido. A ASC pode ser medida matematicamente por uma técnica conhecida como regra dos trapezóides, e é expressa em quantidade de fármaco/volume de líquido x tempo. De acordo com esta regra, a área sob a curva de concentração-tempo pode ser estimada supondo-se que a ASC pode ser representada por uma série de trapézios. A ASC total seria a soma das áreas de cada trapézio (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999).

A Figura 1 mostra o gráfico da curva de concentração do fármaco a partir dos dados resultantes da coleta e análise do conteúdo do fármaco em amostras sangüíneas em intervalos determinados, após administração oral de um medicamento.

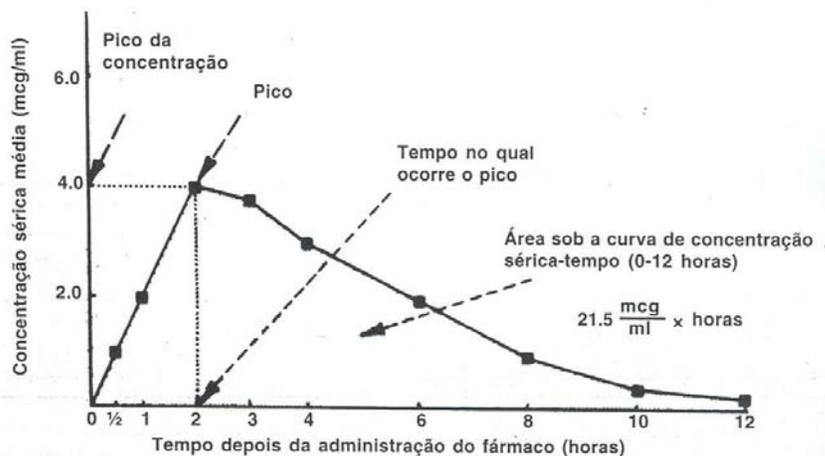


FIGURA 1: Curva de concentração sérica vs. tempo, mostrando a elevação máxima de concentração e a área sob a curva (ANSEL *et al.*, 2000).

O termo “biodisponibilidade” foi introduzido na literatura científica em 1970. Em 1971, LINDENBAUM e colaboradores (1971) observaram que quatro formulações diferentes de digoxina 0,25 mg administradas para 4 pacientes de acordo com o desenho cruzado (*cross-over*) conduziram a perfis da concentração-tempo de plasma muito diferentes (MARZO, 1997). Em 1977, o FDA (Food and Drugs Administration) publicou o Registro Federal das Normas para a realização dos Estudos de Biodisponibilidade e de Bioequivalência e emitiu normas e guias para fármacos específicos. Com isso, as companhias melhoraram as formulações e em poucos anos o termo e o conceito de “biodisponibilidade” se expandiu rapidamente na literatura específica (CARRIZO, 2000).

Para o FDA, biodisponibilidade significa a velocidade e extensão pela qual uma substância ou porção terapêutica é absorvida da forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação do fármaco. (LOBENBERG & AMIDON, 2000; MARZO, 1997).

O EMEA (European Medicines Evaluation Agency) define biodisponibilidade como sendo a extensão e a velocidade pela qual a substância ou porção

terapêutica é liberada da forma farmacêutica para a circulação sistêmica (LOBENBERG & AMIDON, 2000; MARZO, 1997).

No Brasil, segundo a Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, que estabeleceu as bases legais para a instituição do medicamento genérico no País, e a Regulamentação para Medicamentos Genéricos, após processo contínuo de atualização e revisão através da RDC nº 135, de 29 de maio de 2003, o termo biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina (BRASIL, 1999; BRASIL, 2003a).

A velocidade e a extensão que um fármaco é absorvido a partir de uma forma farmacêutica dependem, em grande parte, das matérias-primas utilizadas e do método de fabricação. Assim, quando o mesmo fármaco é formulado em formas farmacêuticas diferentes, pode ter características distintas de biodisponibilidade e, portanto, apresentar eficácia clínica diferente (ANSEL *et al.*, 2000; VIDAL & BERROZPE, 2000).

Sendo assim, os estudos de biodisponibilidade são utilizados para comparar diferentes formulações.

De acordo com a Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, “bioequivalência consiste na demonstração de equivalência farmacêutica entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio(s) ativo(s), e que tenham comparável biodisponibilidade, quando estudados sob um mesmo desenho experimental” (BRASIL, 1999).

É neste enfoque que está inserido o medicamento genérico. Para ser considerado como genérico, deve ser equivalente farmacêutico e bioequivalente ao medicamento de referência. Segundo a Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, medicamento genérico é definido como um medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável,

geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada eficácia, segurança e qualidade, e designada pela DCB (Denominação Comum Brasileira) ou, na sua ausência, pela DCI (Denominação Comum Internacional) (BRASIL, 1999).

Com relação à rota de síntese do medicamento genérico, a legislação em vigor que regulamenta o registro, a RDC nº 135/2003, preconiza que a empresa solicitante do registro de medicamento genérico deve apresentar documentação do fabricante do fármaco, contendo as seguintes informações: rota de síntese, com a descrição das moléculas intermediárias e seus nomes químicos; descrição das especificações do fabricante; identificação e métodos analíticos utilizados pelo fabricante; quantificação e limites dos principais contaminantes, de acordo com a rota de síntese do fármaco; relação dos solventes utilizados no processo, de acordo com a rota de síntese do fármaco; dados sobre os teores dos estereoisômeros, no caso de fármacos que apresentem quiralidade, cuja proporção de estereoisômeros possa comprometer a eficácia e a segurança do medicamento; informações e determinação dos prováveis polimorfos e a metodologia analítica para fármacos que apresentem polimorfismo; validação do método analítico, no caso de fármacos não descritos em compêndios oficiais (BRASIL, 2003a).

Levando em conta que os estudos de bioequivalência e equivalência farmacêutica entre o medicamento genérico e o medicamento de referência são realizados para apenas um lote do medicamento, esta mesma regulamentação prevê que, caso a empresa tenha mais de um fabricante do fármaco, para os medicamentos cujos lotes não foram submetidos aos estudos de bioequivalência e equivalência farmacêutica, ou seja, medicamentos fabricados com o fármaco dos outros fabricantes, a empresa deve apresentar, além dos itens citados acima: dossiê de produção e controle de qualidade de um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado; resultados e avaliação do estudo de estabilidade acelerada de um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado; perfil de

dissolução comparativo com o medicamento que foi submetido aos estudos de bioequivalência e de equivalência farmacêutica para formas farmacêuticas sólidas; resultado de teste, no caso de suspensões, de verificação do tamanho das partículas entre um lote do medicamento submetido aos estudos de bioequivalência e de equivalência farmacêutica e um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado, para a maior e a menor concentração do produto, quando aplicável (BRASIL, 2003a).

3.3 Correlação *in vitro* e *in vivo* (CIVIV)

A correlação *in vitro-in vivo* refere-se ao estabelecimento de uma relação racional entre as propriedades biológicas, ou parâmetros derivados destas, produzidas por uma forma farmacêutica e suas propriedades ou características físico-químicas (BRASIL, 2002).

As propriedades biológicas mais utilizadas são um ou mais parâmetros farmacocinéticos, tais como ASC ou C_{máx}, obtidos após a administração da forma farmacêutica. A característica físico-química mais empregada é o comportamento de dissolução *in vitro* (isto é, porcentagem do fármaco dissolvido sob condições experimentais determinadas). A relação entre as propriedades biológicas e físico-químicas é, então, expressa quantitativamente (BRASIL, 2002).

O conceito de correlação é baseado na habilidade desta em refletir o perfil completo de concentração plasmática *versus* tempo, obtido após a administração da forma farmacêutica. É a relação entre o perfil de dissolução completo *in vitro* com a curva completa de níveis plasmáticos do fármaco que define a correlação (BRASIL, 2002).

As características biofarmacêuticas são baseadas nas propriedades físicas e químicas do fármaco. Hoje, muitas moléculas são classificadas pelos critérios de classificação biofarmacêuticas e são candidatas promissoras para favorecer os testes *in vitro* e *in vivo* (LOBENBERG & AMIDON, 2000).

A CIVIV pode conduzir o desenvolvimento de formulação, especialmente para controlar a liberação da forma de dosagem quando a velocidade de liberação precisa ser otimizada. A CIVIV também permite avaliar o impacto de alterações no processo e na formulação, na biodisponibilidade do medicamento. Se os perfis de dissolução são similares depois de tais alterações, é garantido que a biodisponibilidade não será afetada. Se os perfis são diferentes, pode-se avaliar o risco de bioinequivalência (ROHRS, 2003).

Três níveis de correlação podem ser definidos e classificados em ordem decrescente de importância:

- Correlação de nível A: é o nível mais alto que pode ser obtido. Representa uma relação ponto a ponto entre a dissolução *in vitro* do fármaco, a partir da forma farmacêutica, e a velocidade de entrada do mesmo no organismo *in vivo*. Neste nível de correlação, as curvas de dissolução *in vitro* e *in vivo* são diretamente sobreponíveis, ou podem ser sobrepostas utilizando-se uma constante (fator de escala). Esta relação é mais facilmente obtida para formas farmacêuticas de liberação modificada, que possuem liberação *in vitro* essencialmente independente do meio de dissolução comumente utilizado nos testes. Entretanto, isto não é requisito para uma correlação de nível A. Essa correlação é, geralmente, obtida por um procedimento que envolve duas etapas: deconvolução da curva de concentração plasmática *versus* tempo para obtenção da curva da fração de fármaco absorvida *versus* tempo (curva de velocidade de absorção), seguida da comparação entre a fração do fármaco absorvida e a dissolvida *in vitro*, para os mesmos tempos (BRASIL, 2002).

- Correlação de nível B: utiliza os princípios da análise de momento estatístico. A média do tempo de dissolução *in vitro* é comparada ao tempo de residência médio (TRM) ou ao tempo de dissolução médio (TDM) *in vivo*. Da mesma forma que o nível A, o nível B utiliza todos os dados *in vitro* e *in vivo*, mas não é considerada uma correlação ponto a ponto, porque não reflete inteiramente a curva de nível plasmático. Por esta razão, não se pode considerar somente a correlação de nível B para avaliar modificações de formulação, alteração do local

de fabricação, alteração do fornecedor, dos excipientes, entre outros (BRASIL, 2002).

- Correlação de nível C: esta categoria relaciona um ponto de dissolução (t50%, t90%, etc.) a um parâmetro farmacocinético tal como ASC, C_{máx} ou T_{máx}. Representa uma correlação de um único ponto. Não reflete o formato completo da curva de concentração plasmática versus tempo, um fator crítico para definir o desempenho dos produtos de liberação modificada. Não permite prever o real desempenho do produto *in vivo* e está sujeita às mesmas restrições que a correlação de nível B em relação à sua capacidade de avaliar alterações do produto e do local de fabricação, bem como de fornecer os extremos do padrão do controle de qualidade (BRASIL, 2002).

Devido à natureza crítica de alguns fármacos em termos de liberação e solubilização em condições fisiológicas, a dissolução *in vitro* pode ser relevante para prever o desempenho *in vivo*. Com base nestas considerações gerais, os ensaios de dissolução *in vitro* para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata são utilizados para garantir a qualidade lote-a-lote, orientar o desenvolvimento de novas formulações, indicar problemas potenciais de biodisponibilidade e assegurar a uniformidade da qualidade e do desempenho do medicamento depois de determinadas alterações (BRASIL, 2003b).

Tendo como base a solubilidade e a permeabilidade dos fármacos, o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), recomendado na literatura, classifica os fármacos em 4 categorias:

- caso I: alta solubilidade (AS) e alta permeabilidade (AP);
- caso II: baixa solubilidade (BS) e alta permeabilidade (AP);
- caso III: alta solubilidade (AS) e baixa permeabilidade (BP);
- caso IV: baixa solubilidade (BS) e baixa permeabilidade (BP).

O SCB é usado para estabelecer critérios de dissolução de produtos para reduzir exigências da bioequivalência *in vivo*. Isto permite uma determinação do potencial para correlação *in vitro* e *in vivo* e pode reduzir significativamente estudos *in vivo* (LOBENBERG & AMIDON, 2000).

Essa classificação pode ser usada para determinar especificações de dissolução *in vitro* e também pode fornecer as bases para prever quando a CIVIV pode ser obtida com sucesso. A solubilidade de um fármaco é determinada pela dissolução da dosagem mais alta de um medicamento em 250 mL de uma solução tampão de pH entre 1,0 e 8,0. Um fármaco é considerado altamente solúvel quando o resultado, em volume, da relação dose/solubilidade é menor ou igual a 250 mL. Um fármaco de alta permeabilidade é, geralmente, aquele cuja biodisponibilidade absoluta é maior que 90% na ausência de instabilidade no trato gastrointestinal ou quando este parâmetro é determinado experimentalmente (BRASIL, 2003b). Para fármacos que são altamente solúveis, o efeito do polimorfismo sobre a biodisponibilidade não é previsto, e, desta forma, o controle do polimorfismo na fabricação do produto deve ser feito (SNIDER *et al.*, 2004). Desta forma, o SCB sugere que, para fármaco de AS e AP (caso I) e para alguns fármacos de AS e BP (caso III), a obtenção de 85% de dissolução em HCl 0,1 M, em até 15 minutos, pode garantir que a biodisponibilidade do fármaco não é limitada pela dissolução (BRASIL, 2003b).

Três categorias de especificações de dissolução para medicamentos de liberação imediata podem ser descritas: especificações de um único ponto, especificações de dois pontos e comparação de perfis de dissolução (BRASIL, 2003b).

A comparação de perfis de dissolução pode ser utilizada nos casos em que se deseja conhecer o comportamento de dois produtos antes de submetê-los a ensaios de biodisponibilidade relativa/ bioequivalência, para isentar as menores dosagens desses estudos e nos casos de alterações pós-registro (BRASIL, 2004). Nesta comparação avalia-se a curva como um todo, além de cada ponto da coleta

do meio de dissolução empregando-se métodos de modelo independentes (BRASIL, 2004; SHAH *et al.*, 1998).

Vários métodos para comparação de perfis de dissolução foram propostos na literatura. Entretanto, o maior problema tem sido a quantificação da comparação dos perfis de dissolução. MOORE e FLANNER (1996) propuseram um modelo independente simples e acessível usando índices matemáticos para definir fator de diferença, f_1 , e fator de similaridade, f_2 , para comparar os perfis de dissolução (SHAH *et al.*, 1998). O fator f_1 calcula a porcentagem de diferença entre dois perfis avaliados a cada tempo de coleta e corresponde a uma medida do erro relativo entre perfis. O fator f_2 corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis. De acordo com o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos, o critério para que dois perfis sejam considerados semelhantes é: $f_1 = 0$ a 15 e $f_2 = 50$ a 100 (BRASIL, 2004).

3.4 Fatores físico-químicos que afetam a biodisponibilidade de fármacos

A dissolução pode ser definida de forma simplificada como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (CHOWDARY & RAJYALAKSHMI, 1987). Assim sendo, é um pré-requisito para a bioequivalência, uma vez que o fármaco deve se dissolver primeiro para que seja absorvido pelo trato gastrintestinal (ABDOU *apud* SNIDER *et al.*, 2004).

ABDOU, H. Dissolution Bioavailability and Bioequivalence, Mack Publishing Company, 1989 *apud* SNIDER, D.A.; ADDICKS W.; OWENS W. Polymorphism in generic drug product development. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 391-395, 2004.

As características químicas e físicas de uma substância farmacêutica podem afetar não somente a dissolução, mas a segurança do produto, sua eficácia e sua estabilidade, e, portanto, devem ser consideradas na fabricação do produto.

Entre os fatores que podem alterar a desagregação da forma farmacêutica e a dissolução do fármaco e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade, destacam-se:

3.4.1 Tamanho de partícula

A velocidade de dissolução de um sólido é diretamente proporcional à área superficial exposta ao líquido solvente. Logo, essa propriedade pode influenciar a desintegração de comprimidos, a velocidade de dissolução *in vivo* e, conseqüentemente, a absorção do princípio ativo (NOYES & WHITNEY *apud* STORPIRTIS *et al.*, 1999).

Um fármaco se dissolverá mais rapidamente quanto maior for a sua área de superfície, ou seja, quanto menor for o tamanho de suas partículas (ANSEL *et al.*, 2000; HORTER & DRESSMAN, 2001; MARTÍN & VILADROSA, 2000; SNIDER *et al.*, 2004). A área de superfície específica da partícula pode ter impacto direto na velocidade de dissolução, e, conseqüentemente, na biodisponibilidade do composto (BALBACH & KORN, 2004).

NOYES, A.; WHITNEY, W.J. Am. Chem. Soc., v.19, p. 930-934, 1897 *apud* STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 35, n. 1, jan/jun, 1999.

3.4.2 Forma cristalina ou amorfa

A estrutura cristalina dos fármacos pode ser alterada durante sua síntese através de etapas específicas como precipitação e cristalização ou durante as operações para a obtenção da forma farmacêutica (MARTÍN & VILADROSA, 2000).

Por este motivo, o controle da forma cristalina do fármaco durante os vários estágios do desenvolvimento deve ser feito, pois qualquer alteração na forma dos cristais pode alterar a biodisponibilidade do medicamento (VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

As formas cristalinas comuns encontradas são os polimorfos e os solvatos. Os polimorfos têm a mesma composição química, mas diferente estrutura interna, e, conseqüentemente, possuem propriedades físico-químicas diferentes. Os solvatos, conhecidos também como pseudopolimorfos, são sólidos cristalinos que contêm moléculas de solventes dentro da estrutura cristalina. Se o solvente incorporado é a água, o solvato é chamado de hidrato (VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

A energia cinética decorrente das diferentes formas de cristalização (amorfos, polimorfos ou solvatos) é responsável pelas diferenças na solubilidade e velocidade de dissolução (HUANG & TONG, 2004).

Devido à importância do polimorfismo, sendo ele um dos principais fatores relacionados à síntese de fármacos que podem interferir na biodisponibilidade de medicamentos, esse assunto será abordado em item à parte.

3.4.3 Higroscopicidade

Higroscopicidade é a capacidade do composto em ganhar ou perder água quando exposto a grande umidade (STRENG,1997).

O grau de hidratação de uma molécula de fármaco pode afetar tanto a sua solubilidade quanto seu padrão de absorção (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999). As formas anidras dos fármacos apresentam atividade termodinâmica maior que os hidratos correspondentes e, conseqüentemente, têm maior solubilidade e maior velocidade de dissolução que as formas hidratadas (ANSEL *et al.*, 2000; MARTÍN & VILADROSA, 2000).

3.4.4 Coeficiente de partição

A capacidade do composto em ser absorvido ou transportado através da membrana está relacionada ao coeficiente de partição, que representa a proporção da distribuição do fármaco em um sistema de duas fases, uma de solvente orgânico e outra, aquosa (BALBACH & KORN, 2004; STRENG,1997).

É uma medida do caráter lipofílico da molécula, isto é, de sua preferência pela fase hidrofílica ou lipofílica (ANSEL *et al.*, 2000; SHARGEL & YU, 1999). O fármaco que tem maior afinidade para óleo pode ter pequena liberação e dissolução da base (SHARGEL & YU, 1999).

3.4.5 Forma de sal

A velocidade de dissolução de um fármaco em forma de sal, via de regra, é muito diferente do composto original (ANSEL *et al.*, 2000). A formação de sais é um dos métodos mais empregados para modificar a solubilidade dos fármacos,

alterando, portanto, a velocidade de dissolução e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade (HUANG & TONG, 2004; MARTÍN & VILADROSA, 2000;).

Para se ter um potencial máximo de biodisponibilidade, a formação de sal é considerada a prática mais acessível, de acordo com HUANG & TONG, 2004 (HUANG & TONG, 2004).

3.4.6 Solubilidade

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico que representa a concentração da solução de um fármaco em equilíbrio com o soluto e pode ser considerada como um indicador da probabilidade de que se apresentem problemas na biodisponibilidade dos fármacos (CARCANO, 1981; CID, 1987 *apud* STOPIRTIS *et al.*, 1999; HUANG & TONG, 2004; MARTÍN & VILADROSA, 2000; SNIDER *et al.*, 2004).

O fármaco deve possuir certa solubilidade aquosa para que tenha eficácia e é preciso estar em forma de solução para que exerça efeito terapêutico. Os compostos relativamente insolúveis têm absorção incompleta ou irregular (ANSEL *et al.*, 2000).

3.4.7 Isomeria

Isômeros são compostos que possuem os mesmos constituintes atômicos, porém suas disposições na molécula são diferentes, conferindo conseqüentemente características químicas diversas (LIMA, 1997).

CID, E. Conceptos básicos sobre biodisponibilidad en medicamentos. Saybi, Buenos Aires, v.27, n.72, p. 2361-2366, 1987 *apud* STOPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 35, n. 1, jan/jun, 1999.

Esses isômeros podem apresentar atividades biológicas distintas, comprometendo o desempenho do produto final (LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

Por ser a isomeria um dos fatores relacionados à síntese de fármacos que pode interferir na eficácia do medicamento, o comportamento estereoquímico de fármacos será abordado de forma mais detalhada em item à parte.

3.4.8 Outros fatores

Outros fatores, além das propriedades físico-químicas, podem influenciar a farmacocinética e, conseqüentemente, a biodisponibilidade dos fármacos:

- Interação com excipientes: os excipientes presentes em uma forma farmacêutica podem afetar a dissolução do fármaco e, conseqüentemente, a velocidade e a quantidade pelas quais o mesmo estará disponível para ser absorvido. Alguns componentes das formulações, como amido e outros desintegrantes tendem a favorecer a dissolução. Outros como o talco e o estearato de magnésio, que atuam como lubrificantes e deslizantes, respectivamente, dificultam a dissolução. (GIBALDI, 1991). A compatibilidade dos excipientes com o fármaco e alguns traços de elementos nos excipientes também podem afetar a estabilidade do produto (SHARGEL & YU, 1999).

- Tecnologia de fabricação: os processos envolvidos na fabricação de medicamentos podem influenciar na dissolução e biodisponibilidade. Aspectos como forma e condições de secagem do granulado, tempo de mistura ou agitação, velocidade e força de compressão também podem alterar significativamente o desempenho da forma farmacêutica no organismo (MANADAS, 2002).

- Fatores fisiológicos e características do paciente: idade, tempo de esvaziamento gástrico, tempo de trânsito intestinal, ingestão de alimentos, anormalidade ou patologia gastrintestinal (ANSEL *et al.*, 2000; MOURA & REYES, 2002).

- pH gastrintestinal: a estabilidade em solução é muitas vezes afetada pelo pH do veículo; devido ao pH do estômago, conhecer o perfil de estabilidade ajuda a evitar ou prevenir a degradação do produto durante a conservação e depois da administração (SHARGEL & YU, 1999). O pH gastrintestinal também interfere na estabilidade, assim como na ionização dos fármacos, promovendo uma alteração na velocidade e extensão de absorção (MOURA & REYES, 2002).

- Metabolismo do fármaco (no intestino e na primeira passagem pelo fígado) (ANSEL *et al.*, 2000). O alimento ingerido junto com o fármaco também pode influenciar na biodisponibilidade do fármaco através da modificação do pH do conteúdo gastrintestinal, esvaziamento gástrico, aumento de trânsito intestinal e ligação direta do fármaco com componentes dos alimentos. Assim, a composição da dieta influencia o tempo de permanência dos fármacos no trato digestivo e, conseqüentemente, aumenta ou diminui a absorção dos mesmos (MOURA & REYES, 2002).

3.5 Síntese de fármacos

O processo de descoberta de novos fármacos caracteriza-se por sua complexidade, fruto da multiplicidade de fatores que envolvem o planejamento molecular de novas estruturas capazes de apresentarem os efeitos farmacológicos desejados, com biodisponibilidade adequada ao seu emprego terapêutico e seguro (BARREIRO, 2002).

Uma das maiores complicações numa rota de síntese é que ocorra uma alteração no seu desenvolvimento e com isso uma provável alteração no perfil de impurezas (BAUER *et al.*, 1998). Portanto, é necessário desenvolver métodos analíticos para a determinação de produtos de degradação na substância ativa (BERGLUND *et al.*, 1990).

Para o desenvolvimento de métodos racionais é preciso conhecer sobre a identidade dos atuais ou possíveis produtos de degradação (BERGLUND *et al.*, 1990). Por outro lado, a natureza e a quantidade de impurezas que precisam ser removidas, assim como o custo e a segurança, provavelmente influenciam na escolha do solvente na síntese do fármaco (CAMP, 1999).

A composição do solvente pode influenciar tanto na taxa de nucleação quanto na taxa de crescimento relativo de cada cristal, podendo afetar a forma e a distribuição do tamanho dos cristais no produto, além das propriedades de agregação/ aglomeração e a pureza dos cristais (GRANBERG *et al.*, 1999).

Baseado no exposto e levando em conta a complexidade e a extensão de síntese de uma molécula até a obtenção de um novo fármaco, torna-se necessária uma análise de todos os fatores que possam afetar cada uma das possíveis rotas (BAUER *et al.*, 1998; SMIT *et al.*, 1998).

E entre os fatores mais importantes relacionados à síntese de fármacos que podem ser modificados durante sua obtenção, acarretando uma provável alteração na eficácia do produto final, estão o polimorfismo e a presença de estereoisômeros.

3.5.1 Polimorfismo

Muitos compostos orgânicos são capazes de adotar uma ou mais formas cristalinas puras de forma identificável e definida ou uma forma amorfa sem estrutura definida, dependendo das condições (temperatura, solvente, tempo) sob as quais a cristalização é induzida. Essa propriedade pela qual uma única substância pode existir em mais de uma forma cristalina é chamada de polimorfismo (ANSEL *et al.*, 2000; CARCANO, 1981; DOELKER, 2002; MARTÍN & VILADROSA, 2000; RITSCHHEL & KEARNS, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

O interesse pelo polimorfismo em fármacos expandiu-se em consequência de problemas enfrentados pela indústria farmacêutica durante as décadas de 1950 e 1960. Conforme revisão do assunto realizada por GRANT & BYRN (2004), no final da década de 1960 foi publicado um artigo clássico sobre as diferentes formas polimórficas (estável e metaestável) do palmitato de cloranfenicol por AGUIAR e colaboradores (1967), e em 1969 uma revisão sobre polimorfos por HALEBLIAN e McCURONE (GRANT & BYRN, 2004).

Dois polimorfos de um mesmo composto podem ser tão diferentes em estrutura cristalina e propriedades físico-químicas como dois compostos diferentes (ANSEL *et al.*, 2000; CARCANO, 1981; DOELKER, 2002; MARTÍN & VILADROSA, 2000; RITSCHHEL & KEARNS, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001). Essas diferentes formas polimórficas podem ter diferentes energias, e isto pode afetar sua biodisponibilidade (ABOUL-ENEIN *et al.*, 2002).

No entanto, essas diferenças aparecem quando o fármaco cristaliza-se em diferentes conformações, e manifesta-se quando o fármaco encontra-se em

estado sólido (ANSEL *et al.*, 2000; CARCANO, 1981; DOELKER, 2002; MARTÍN & VILADROSA, 2000; RITSCHHEL & KEARNS, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001). Uma vez obtida a solução do fármaco, as diferentes formas polimórficas tornam-se indistinguíveis entre si, não podendo ser esperadas diferenças na ação do fármaco, em termos farmacológicos e terapêuticos (ANSEL *et al.*, 2000; MARTÍN & VILADROSA, 2000).

Assim, o ponto de fusão, a densidade, a solubilidade, a forma dos cristais, as propriedades elétricas, e o espectro de difração de raios-X são características que podem variar com a forma polimórfica (ANSEL *et al.*, 2000; CARCANO, 1981; DOELKER, 2002; MARTÍN & VILADROSA, 2000; RITSCHHEL & KEARNS, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001). Essas propriedades físico-químicas e algumas técnicas de análise auxiliam na caracterização do polimorfo (STORPIRTIS *et al.*, 1999).

As técnicas de análise permitem verificar diferentes aspectos estruturais, dinâmicos e energéticos da substância no estado sólido. Existem diferentes técnicas empregadas, tais como cristalografia, espectroscopia, análise térmica e microscopia (STEPHENSON *et al.*, 2001; YU *et al.*, 1998).

A cristalografia fornece informação estrutural mais precisa sobre os cristais, incluindo densidade, ordenação do cristal, conformação e empacotamento molecular (YU *et al.*, 1998).

As técnicas de microscopia caracterizam polimorfos através de propriedades ópticas e morfológicas do cristal. A microscopia óptica determina as propriedades ópticas (índice de refração, dispersão de cor, birrefringência) e morfológicas das partículas, sendo que a microscopia eletrônica possibilita uma maior resolução que a microscopia óptica (YU *et al.*, 1998; YU, *et al.*, 2003).

As técnicas de análise térmica distinguem polimorfos através das propriedades termodinâmicas, tais como calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termo-gravimétrica (TGA). Os polimorfos podem ser distinguidos

por essas técnicas de acordo com o tipo de transição que eles se encontram durante aquecimento, tais como fusão, desolvatação, transição sólido-sólido e cristalização (YU *et al.*, 1998; YU *et al.*, 2003).

O estudo de difração de raio-X em cristal simples permite conhecer a forma estrutural de pequenas moléculas dentro do cristal e fornece a mais valiosa informação do sólido polimórfico. Entretanto, a limitação dessa técnica é a necessidade de se obter cristais simples para análises (YU *et al.*, 2003).

A difração de raio-X em pó é outra técnica poderosa adequada para distinguir fases sólidas com diferentes estruturas cristalinas internas. Ao contrário da difração de raio-X em cristais simples, a difração de raio-X em pó não requer cristais simples e é uma efetiva ferramenta para a análise de rotina de amostras em pó. A difração de raio-X em pó também pode ser usada na determinação do grau de cristalinidade e na análise quantitativa de sólidos polimórficos (YU *et al.*, 2003).

A espectroscopia de estado sólido (IV, Raman e RMN) vem se tornando parte integrante na caracterização física de sólidos farmacêuticos (YU *et al.*, 1998; YU *et al.*, 2003). Foi na década de 1940 que a espectroscopia no infravermelho tornou-se mais uma técnica acessível na caracterização de sólidos farmacêuticos (BUGAY, 2001).

As espectroscopias IV e Raman medem o modo de vibração molecular dando a impressão digital do sólido farmacêutico. RMN é uma técnica usada para medir o ambiente magnético ao redor do núcleo, podendo ser usada para investigar a estrutura molecular de cada forma sólida (YU *et al.*, 1998; YU *et al.*, 2003).

Fatores como polimorfismo, variação no tamanho e orientação dos cristais podem originar diferenças nos espectros de IV (FARMACOPÉIA, 1988).

Considerando que a espectroscopia IV pode ser utilizada para investigar a natureza do polimorfismo no nível molecular, o método é particularmente

proveitoso em exemplos onde a caracterização total cristalográfica do polimorfo não seja possível (BUGAY, 2001).

Numerosos artigos na literatura ilustram a aplicação da espectroscopia IV para resolver o problema do polimorfismo (KALINKOVA, 1999).

A identificação e a caracterização das formas de cristais devem ser realizadas para assegurar que a forma do cristal no produto final permaneça inalterada. No entanto, durante a produção, certas operações unitárias tais como aquecimento, mistura e exposição ao solvente, além de todas as qualidades atribuídas a um produto sólido, incluindo estabilidade, dissolução, biodisponibilidade, aparência, fabricação, densidade, dureza, podem ser influenciadas pela fase de transformação do cristal. Por isso, a possibilidade de alteração da forma do cristal durante a formulação e o processo de desenvolvimento devem ser considerados (MARTÍN & VILADROSA, 2000; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001; ZHANG *et al.*, 2004). Caso no momento da formulação não seja verificado qual será o polimorfo utilizado, pode-se obter um produto ineficaz devido ao comprometimento da dissolução do fármaco e, conseqüentemente, de sua biodisponibilidade.

Os polimorfos podem ser classificados em enantiótopos e monótopos, sendo que os primeiros são reversíveis e podem passar da forma metaestável para a forma estável, porém menos energética (CID, 1992 *apud* STORPIRTIS *et al.*, 1999).

CID, E. Control de calidad biofarmaceutico de medicamentos. Santiago: Balgraf, 362p, 1992 *apud* STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 35, n. 1, jan/jun, 1999.

Essas substâncias que sofrem transição para a forma termodinamicamente estável podem induzir alterações nas formas farmacêuticas de pós e formas farmacêuticas sólidas (BERGLUND *et al.*, 1990).

O uso de formas metaestáveis, em geral, resulta em velocidades de dissolução e solubilidade maiores que as formas cristalinas estáveis do mesmo fármaco (ANSEL *et al.*, 2000; MARTÍN & VILADROSA, 2000). No entanto, o maior problema com o uso de polimorfos metaestáveis para aumentar a dissolução é a conversão da forma mais solúvel e de maior energia para a forma cristalina de menor energia (HORTER & DRESSMAN, 2001). Por este motivo, durante o desenvolvimento do medicamento, o cristal polimorfo de menor energia deveria ser identificado e escolhido, considerando que uma possível conversão polimórfica e o aparecimento deste polimorfo de menor energia, comparado com o polimorfo que está sendo comercializado, pode ser catastrófico, como aconteceu com o ritonavir (BAUER *et al.*, 2001).

A mudança da forma polimórfica quando o produto já se encontrava no mercado, levando a problemas na qualidade e estabilidade do produto final aconteceu com o Norvir® na forma de cápsulas semi-sólidas, marca comercial do fármaco ritonavir. Dois anos após a comercialização do produto o fármaco começou a precipitar nas cápsulas, resultando em uma diminuição na solubilidade do produto. A forma polimórfica I, que foi inicialmente usada nas cápsulas comercializadas, converteu-se para a forma menos solúvel, chamada de forma II. As duas formas de cristais diferem nas suas propriedades físicas, tais como solubilidade e velocidade de dissolução (HUANG & TONG, 2004; MORISSETE *et al.*, 2003; SNIDER *et al.*, 2004).

Outro aspecto importante que deve ser destacado no desenvolvimento e processo de seleção da forma do sal é a capacidade de aumentar a escala de fabricação, já que fazer a forma do sal consistente e reproduzível em larga escala ainda é extremamente desafiante (HUANG & TONG, 2004).

A existência de polimorfos é uma das principais fontes de variação no comportamento de dissolução dos fármacos, sendo que a influência sobre a velocidade de dissolução é determinada pelas mudanças na solubilidade dos distintos polimorfos (MARTÍN & VILADROSA, 2000).

Em geral, a forma polimórfica mais estável tem uma menor solubilidade. (SNIDER *et al.*, 2004).

Apesar da interferência de formas polimórficas em vários aspectos do medicamento, nem sempre os testes adequados para identificar a presença de polimorfos são descritos nas monografias.

De acordo com DOELKER (2002), mais da metade das substâncias orgânicas da Farmacopéia Européia (EUROPEAN, 2002) existem em suas várias formas cristalinas e estão divididas da seguinte maneira:

- substâncias unicamente monomorfas (42%);
- substâncias unicamente amorfas (2%);
- polimorfos, hidratos e/ ou solvatos (56%).

Atualmente, há algumas formas polimórficas conhecidas de fármacos que já estão sendo estudadas.

O piroxicam é um exemplo de fármaco que apresentou modificações cristalinas. Em um estudo realizado por MEDEN e colaboradores (2003), três formas polimórficas do piroxicam e uma forma monohidratada foram obtidas por

cristalização em diferentes solventes, apresentando diferenças entre elas nos espectros de IV, Raman e NIR e nos perfis de dissolução (VRECER *et al.*, 2003).

Outro fármaco que apresenta diferentes polimorfos é a carbamazepina. Em estudo realizado por RUSTICHELLI e colaboradores (2000), as diferentes formas polimórficas da carbamazepina foram obtidas e caracterizadas por métodos analíticos capazes de detectar diferenças estruturais, tais como espectroscopia de IV, XRPD e DSC (RUSTICHELLI *et al.*, 2000).

No entanto, foi somente na 4ª edição da Ph. Eur., em 2002, no capítulo intitulado “*Substância para uso farmacêutico*”, que houve alguma menção sobre o polimorfismo (DOELKER, 2002). Contudo, esse capítulo trata o assunto de forma generalizada, não especificando a presença de polimorfos para um fármaco ou outro.

Esta ausência de abordagem de polimorfos para um determinado fármaco pode ser observada com o mebendazol, pois o teste para dissolução descrito na USP 27, além de comprometer a dissolução do princípio ativo, e, conseqüentemente, afetar sua biodisponibilidade, não menciona teste específico para a presença de polimorfos.

3.5.1.1 Formas polimórficas do mebendazol

O mebendazol é um anti-helmíntico ativo frente a nematódeos e cestódeos, sendo utilizado em terapêuticas humana e veterinária, principalmente para combater as parasitoses do lúmen intestinal (FRANÇA, 2003). A sua ação, neste caso, não é ditada por sua concentração sistêmica, sendo ativo tanto contra o estágio larval quanto o adulto dos nematódeos que causam estas infestações e ovicidas para *Ascaris* e *Trichuris* (TRACY & WEBSTER, 1996). Por este motivo, no Brasil o mebendazol está entre os medicamentos que são dispensados de realizar o estudo de bioequivalência. De acordo com o RE nº 897 de 29 de maio de 2003 – Guia para Isenção e Substituição de Estudos de Bioequivalência – o

mebendazol se encaixa no item 1.8. da referida Resolução que isenta do estudo de bioequivalência “medicamentos de uso oral cujos fármacos não sejam absorvidos no trato gastrintestinal” (BRASIL, 2003c). No entanto, ele é indicado como fármaco de segunda escolha em alguns estágios sangüíneos de infestação, necessitando nestes casos de absorção sistêmica (FRANÇA, 2003).

O mebendazol é praticamente insolúvel em água e existe em três diferentes formas polimórficas: A, B e C, onde C é a farmaceuticamente favorável (SWANEPOEL *et al.*, 2003a, 2003b).

O estudo realizado por COSTA e colaboradores (1991) em várias especialidades farmacêuticas contendo mebendazol verificou diferenças significativas de comportamento físico, físico-químico e de toxicidade, apesar de todas as especialidades farmacêuticas analisadas cumprirem as especificações da USP (USP XXII, 1990). Para a solubilidade em ácido clorídrico 0,03N apresentou a ordem B>C>A; a espectroscopia (por infravermelho e difração de raio-X) destacou bandas e raias características das 3 formas polimórficas, sendo que os polimorfos A e C apresentaram melhor cristalinidade; a análise térmica diferencial mostrou que o polimorfo A representou a forma mais estável. Quanto aos níveis diferentes de toxicidade, o polimorfo A, menos solúvel e o que apresentou uma diminuição do caráter lipófilo em relação aos outros tipos de polimorfos, foi o menos tóxico, tanto por via oral quanto por intraperitoneal, possivelmente devido à sua absorção dificultada. Por via oral, maior toxicidade foi encontrada com o polimorfo B em relação ao C, que pode estar relacionada com sua maior solubilidade em meio ácido (COSTA *et al.*, 1991).

Um outro estudo sobre as formas polimórficas do mebendazol foi realizado por RODRIGUEZ-CAABEIRO e colaboradores (1987) que investigaram a eficácia das 3 formas polimórficas do mebendazol contra o nematódeo *Trichinella spirallis* em todos os estágios do ciclo biológico (pré-adulto, adulto, larva emigrante e larva encistada). Nos resultados apresentados não foi encontrada diferença significativa entre a atividade anti-helmíntica das formas polimórficas B e C. Apesar de terem apresentado DL50 similar em ratos por via intraperitoneal, o mesmo parâmetro por

via oral foi 2,2 vezes menor para a forma C com relação a forma B. Ao contrário, a forma polimórfica A teve não somente pequena toxicidade, mas também eficácia mínima. Com isso, eles concluíram que a forma polimórfica C é adequada para ser empregada em qualquer tratamento anti-helmíntico. Quanto aos níveis de toxicidade, assim como no trabalho de COSTA e colaboradores, encontraram também que a forma polimórfica B foi a mais tóxica por via oral, apesar de ter sido similar à forma C por via intra-peritoneal e que a forma polimórfica A foi a menos tóxica em ambos os casos (RODRIGUEZ-CAABEIRO *et al.*, 1987).

No estudo realizado por CHAROENLARP e colaboradores (1993) com as formas polimórficas A e C do mebendazol em diversas dosagens no tratamento de parasita intestinal e contaminação por *Trichuris*, a recomendação foi de que, no tratamento de parasita intestinal ou infestação por *Trichuris*, a dose adotada fosse a dose padrão, isto é, 100 mg da forma polimórfica C duas vezes ao dia por 3 dias consecutivos (CHAROENLARP *et al.*, 1993).

O perfil de dissolução de uma forma farmacêutica sólida de uso oral pode exercer grande influência sobre a velocidade e quantidade de fármaco disponível para a absorção, podendo comprometer sua eficácia terapêutica (STORPIRTIS, 1999).

No estudo de CHIBA e colaboradores (1991), que utilizou uma dispersão sólida do mebendazol preparada com polietilenoglicol para melhorar a velocidade de dissolução do mebendazol, a conclusão foi, entre outras, de que a maior biodisponibilidade do mebendazol resultou do melhoramento da velocidade de dissolução (CHIBA *et al.*, 1991).

A USP 27 descreve como meio de dissolução para comprimidos de mebendazol, ácido clorídrico 0,1 M contendo 1,0% de lauril sulfato de sódio (LSS). No entanto, o LSS presente no meio de dissolução do teste USP reduz o poder discriminatório entre as 3 formas polimórficas do mebendazol, impedindo a diferenciação entre os mesmos (SWANEPOEL *et al.*, 2003a, 2003b).

As três formas polimórficas do mebendazol podem ser observadas na Figura 2 pelos termogramas de calorimetria exploratória diferencial (DSC), na Figura 3 por difração de raios-X (XRPD) e na Figura 4 por espectrofotometria no infravermelho.

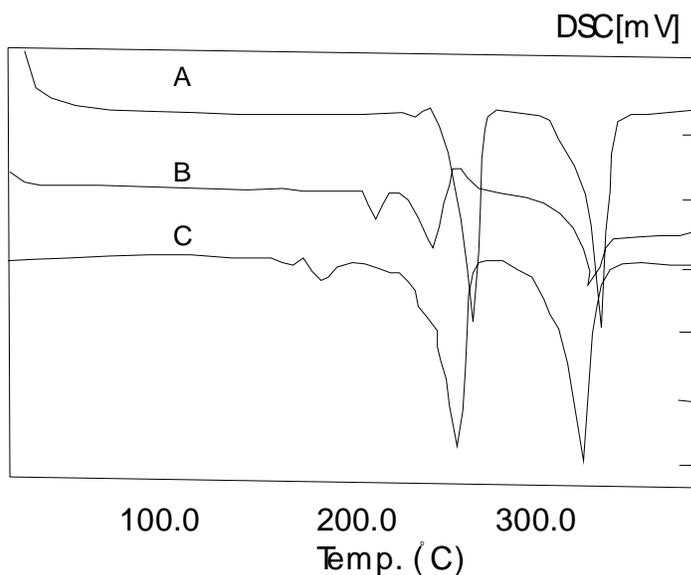


FIGURA 2: Termogramas de calorimetria exploratória diferencial dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL *et al.*, 2003b).

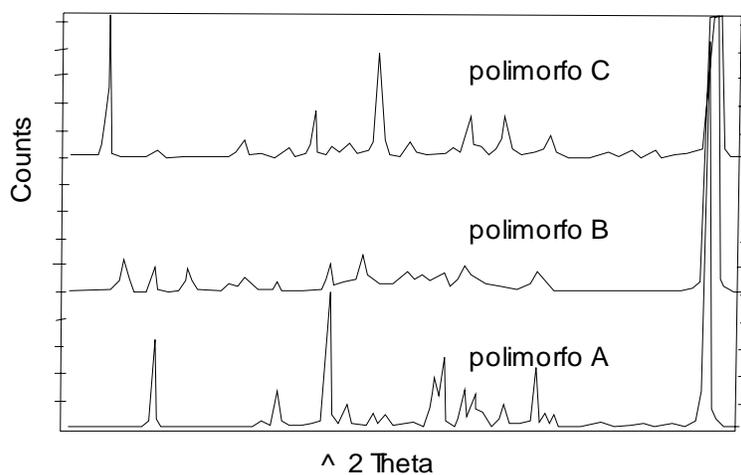


FIGURA 3: Difração de raio-x dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL *et al.*, 2003b).

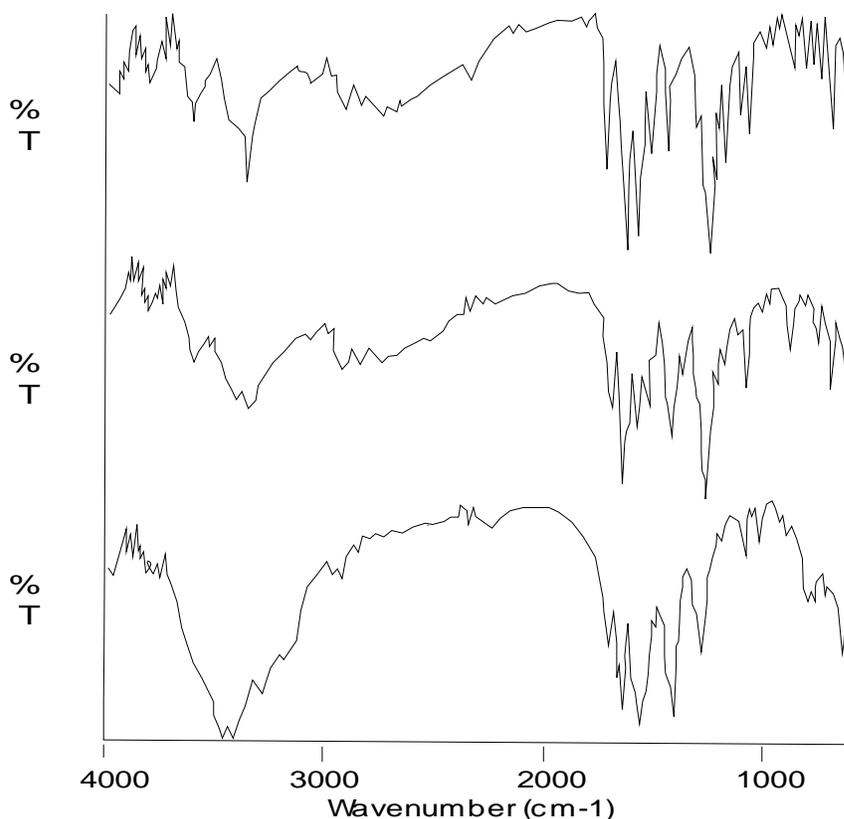


FIGURA 4: Espectroscopia no infravermelho dos três polimorfos do mebendazol (adaptação de SWANEPOEL *et. al.*, 2003b).

3.5.2 Estereoquímica

Estereoisômeros são aqueles isômeros cujos átomos ou grupos de átomos possuem uma distribuição espacial diferente na molécula, apresentando diferentes classificações de acordo com esta distribuição atômica (isômeros de função, de cadeia, etc) (LIMA, 1997).

Os isômeros podem, ainda, ser divididos em geométricos ou ópticos (LIMA, 1997).

Isômeros geométricos são estereoisômeros que não apresentam atividade óptica (capacidade que certas substâncias possuem de desviar o plano da luz polarizada) e sua terminologia está centrada em *cis* (do mesmo lado) e *trans*

(lados opostos) para descrever sua disposição espacial. Isômeros ópticos são aqueles que apresentam atividade óptica, possuindo centros quirais ou centros assimétricos (FOYE *et al.*, 1995; LIMA, 1997;).

As configurações das estruturas indicam a disposição dos átomos ou grupos ao redor do centro estereogênico. Estas são indicadas pelo sistema de Cahn-Ingold-Prelog e não tem nenhuma relação com o desvio da luz polarizada. Este método permite determinar dois enantiômeros distintos: *R* e *S* (HUTT & GRADY, 1996; LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

Os enantiômeros são estereoisômeros relacionados entre si por uma simetria em relação a um plano e possuem as mesmas características físicas, como solubilidade ou ponto de fusão (HUTT & GRADY, 1996; LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

As moléculas que apresentam dois ou mais elementos de quiralidade apresentam diastereoisomeria e podem apresentar diferentes propriedades físicas e químicas. Diastereoisômeros não são enantiômeros. Por exemplo, para uma molécula com dois centros quirais, há dois pares de diastereoisômeros e todos os seus quatro isômeros não serão sobreponíveis no espelho plano (HUTT & GRADY, 1996; LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

A Figura 5 mostra uma molécula com dois átomos de carbono quirais, de modo que há quatro isômeros ópticos e dois pares de enantiômeros (*R,R* & *S,S* e *R,S* & *S,R*). Também mostra a diastereoisomeria entre as moléculas que não são enantiômeras.

Como os enantiômeros não apresentam diferenças físicas nem químicas, não podem ser analisados pelos métodos comuns, necessitando de técnicas analíticas especiais, tanto do ponto de vista qualitativo quanto quantitativo. Alguns métodos empregados são: rotação óptica, ressonância magnética nuclear, cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gás-líquido

(CGL), birrefringência circular e dispersão óptica rotatória (ORD), e dicroísmo circular (CD) (LIMA, 1997).

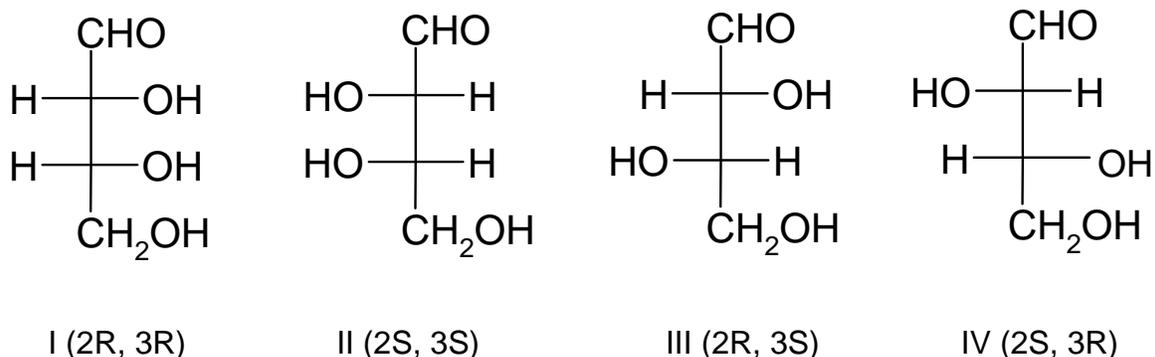


FIGURA 5: Projeção do composto 2,3,4 – tri-hidroxi-butanal. Os pares I e II, III e IV são enantiômeros, e as moléculas são diastereoisômeras (WRIGHT & JAMALI, 1993).

De acordo com RENTSCH (2002), os fármacos enantiômeros tornaram-se mais importantes nos últimos 20 - 30 anos, já que 56% dos fármacos são compostos quirais e 88% destes fármacos sintéticos são usados terapêuticamente como racematos (RENTSCH, 2002).

Enantiômeros puros podem ser obtidos por síntese assimétrica ou por mistura racêmica. A síntese assimétrica é aproveitada melhor quando uma grande quantidade da substância é requerida. No entanto, uma desvantagem é que a síntese assimétrica produz somente um dos enantiômeros, enquanto a mistura racêmica tem a vantagem de produzir ambos enantiômeros essenciais para ensaio biológico (ALLENMARK & ANDERSSON, 2002).

Essas misturas contendo iguais quantidades de enantiômeros são chamadas de misturas racêmicas (ou racematos) e são opticamente inativas. A falta de atividade óptica, neste caso, é decorrente do fato de que um dos enantiômeros desvia o plano da luz para um determinado valor e o seu par o

desvia, na mesma proporção, na direção exatamente oposta, anulando o resultado final (LIMA, 1997; WRIGHT & JAMALI, 1993).

O exemplo mais trágico de conseqüências terapêuticas resultantes da administração de mistura racêmica é o da talidomida. Quando o fármaco foi usado, ambos enantiômeros produziram a atividade terapêutica desejada (sedação branda para náusea), mas somente um dos enantiômeros (S) foi responsável pelo efeito teratogênico (CROM, 1992).

Nesse caso, em que um isômero possuiu o efeito terapêutico enquanto o outro foi responsável pelo efeito não desejável, a decisão de uma mistura racêmica ir para o mercado ao invés do fármaco enantiomericamente puro deveria ser precedida de estudos clínicos do fármaco para isômeros separados a fim de justificar a decisão tomada (KRSTULOVIC, 1989).

A possibilidade de um enantiômero racemizar em solução permite que ocorra o fenômeno da inversão quiral. Esta característica conduz a uma aceitação da comercialização de fármacos estereoisoméricos na forma de racemato (LIMA, 1997).

Os enantiômeros de fármacos quirais podem variar em suas interações com o meio quiral. Como resultado, diferenças podem ocorrer na farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade desses enantiômeros, sendo possíveis diferentes interações, como: dois enantiômeros podem ter eficácia e toxicidade idênticas qualitativa e quantitativamente; enantiômeros podem ter os mesmos efeitos terapêuticos e tóxicos, mas diferem em magnitude desses efeitos; um dos enantiômeros pode possuir toda atividade farmacológica, e o outro pode ser inativo biologicamente ou apresentar atividade indesejável; ambos enantiômeros podem ser farmacologicamente ativos, mas qualitativamente diferentes em efeitos terapêuticos e tóxicos (CROM, 1992; LIMA, 1997; RENTSCH, 2002).

Um exemplo de fármaco que apresenta enantiômeros é o ofloxacino. O levofloxacino é o isômero óptico (S) do ofloxacino, e sua atividade antibacteriana

contra bactérias gram-positivas e gram-negativas é 8 a 128 vezes mais potente que o enantiômero (R) (GASCÓN *et al.*, 2000). O ofloxacino é usado clinicamente como uma mistura racêmica dos enantiômeros R e S, e a eficácia terapêutica contra várias doenças infecciosas é principalmente derivada do enantiômero S (OKAZAKI *et al.*, 1991).

GASCÓN e colaboradores (2000), após avaliar a farmacocinética dos dois enantiômeros do ofloxacino (R e S) nos mesmos pacientes mostraram que houve pequenas, mas significativas diferenças nos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros do ofloxacino (GASCÓN *et al.*, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental refere-se à identificação de diferentes polimorfos do mebendazol presentes em matérias-primas oriundas de diferentes fornecedores e medicamentos (genéricos e referência) disponíveis no mercado.

4.1 Material

- Amostras

- > Matérias-primas: foram adquiridas 5 amostras do fármaco de fabricantes diferentes, sendo uma delas o Padrão USP (lote 37550-G).

- > Medicamentos: foram adquiridos 5 medicamentos genéricos, disponíveis no mercado nacional, na dosagem de 100 mg e 5 lotes diferentes do medicamento de referência nas dosagens de 100 mg e 500 mg.

Entre os 5 medicamentos genéricos adquiridos, 2 deles são da mesma empresa, de lotes diferentes, e os outros de empresas diferentes.

Reagentes

Água destilada, brometo de potássio (Merck) e ácido clorídrico (Synth) foram gentilmente fornecidos pelo Laboratório de Produção de Padrões Secundários (LAPPS) da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

- Equipamentos

- Espectrofotômetro SHIMADZU, modelo FTIR-8101 (LAPPS);

Dissolutor VanKel, modelo VK 7000 (Centro Bioanalítico de Medicamentos – CBIM);

Espectrofotômetro UV/Vis Shimadzu, mod. 1601-PC (LAPPS).

4.2 Métodos

As amostras analisadas foram obtidas de diferentes fornecedores e analisadas por espectrofotometria no infravermelho.

Os medicamentos analisados foram adquiridos diretamente do mercado e analisados por espectrofotometria no infravermelho e testes de perfil de dissolução, utilizando o método USP modificado, sem a adição de LSS, com o objetivo de caracterizar os diferentes polimorfos. (SWANOPOEL et al., 2003b)

4.2.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV)

Cerca de 1,5 mg de cada amostra do fármaco foram triturados em gral de ágata com aproximadamente 150 mg de brometo de potássio e em seguida comprimidos no pastilhador; isto foi feito separadamente para cada amostra. A pastilha obtida foi inserida no equipamento de forma a obter o espectro na região do infravermelho.

Para os comprimidos, após serem triturados em gral de ágata, foi pesado o equivalente a 1,5 mg do fármaco para cada amostra, calculado a partir do peso médio de cada formulação, e triturado junto com aproximadamente 150 mg de brometo de potássio, sendo comprimido em seguida; isto foi feito separadamente para cada amostra. A pastilha obtida foi inserida no equipamento de forma a obter o espectro na região do infravermelho.

Na Tabela 2 são apresentadas as bandas mais características dos diferentes polimorfos do mebendazol com suas respectivas atribuições:

TABELA 2: Frequências de absorção das bandas dos diferentes polimorfos do mebendazol e suas atribuições, realizado por espectrofotometria na região do infravermelho (Liebenberg *et al.*, 1998).

Amostras	Atribuições	
	– NH	– C=O
Polimorfo A	3370	1730
Polimorfo B	3340	1700
Polimorfo C	3410	1720

As atribuições das bandas são baseadas em dados encontrados na literatura (LIEBENBERG *et al.*, 1998).

4.2.2 Perfis de dissolução

Dos medicamentos analisados na dosagem de 100 mg, entre eles genéricos e referência, foram escolhidos 3 medicamentos nos quais foram observados os polimorfos A, B e C, sendo realizados os perfis de dissolução destes para verificar o poder discriminatório do teste USP modificado.

A dissolução foi realizada em Dissolutor Vankel, modelo VK 7000 e as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro UV/Vis Shimadzu, mod. 1601-PC.

A dissolução dos comprimidos de mebendazol foi baseada no método USP modificado (sem adição de LSS no meio de dissolução). A retirada do LSS do meio de dissolução deve permitir a distinção entre as 3 formas polimórficas.

Assim, as condições utilizadas para a realização do perfil de dissolução foram:

Meio de dissolução: HCl 0,1N

Método: 2

Tempo (min): 120

Volume (mL): 900

Rotação (rpm): 75

A dissolução dos comprimidos de mebendazol foi realizada nos tempos de 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min e 120 min.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos trabalhos de SWANEPOEL e colaboradores (2003a, 2003b), foi verificado experimentalmente se as formas polimórficas do mebendazol são encontradas em matérias-primas e medicamentos (genéricos e referência) disponíveis no mercado e se a forma C, que é a farmacologicamente favorável, predomina sobre as demais.

Através da análise por espectrofotometria no infravermelho em amostras de diferentes fabricantes foi possível identificar os diferentes polimorfos.

A seguir, a Figura 6 mostra a molécula do mebendazol e as duas ligações responsáveis pelas bandas de absorção no espectrofotômetro na região do infravermelho.

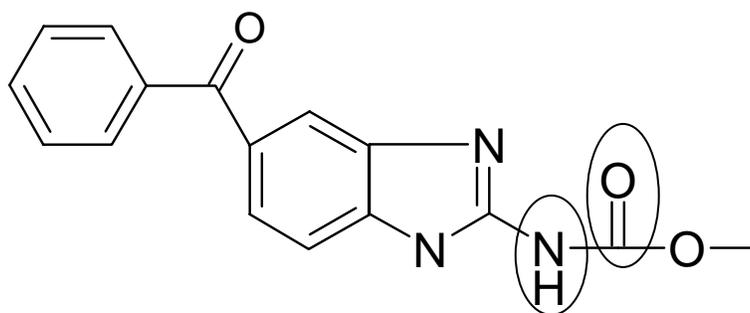


FIGURA 6 - Molécula do mebendazol e as ligações observadas no espectrofotômetro na região do infravermelho.

5.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV)

Os espectros, tanto dos fármacos como dos comprimidos foram obtidos conforme metodologia descrita.

5.1.1 Espectrofotometria no infravermelho (IV) dos fármacos

Nas Figuras 7, 8, 9, 10 e 11 são apresentadas as bandas características do mebendazol nas amostras das matérias-primas A, B, C, D e E, respectivamente.

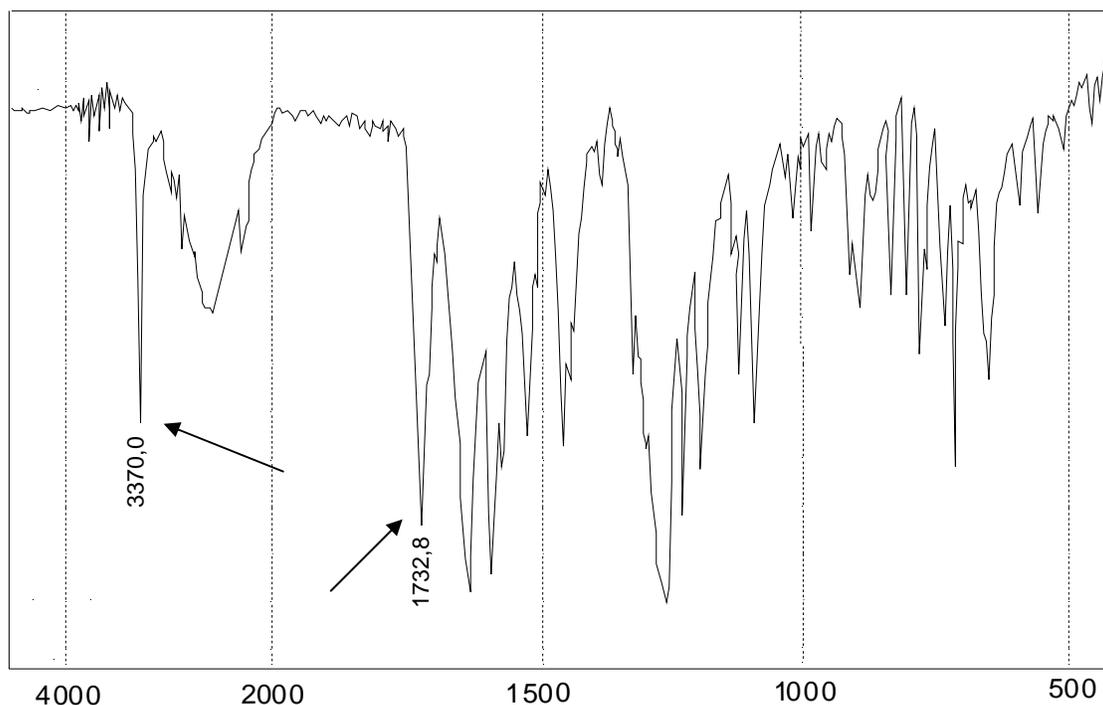


FIGURA 7 - Espectros de IV da amostra A de mebendazol.

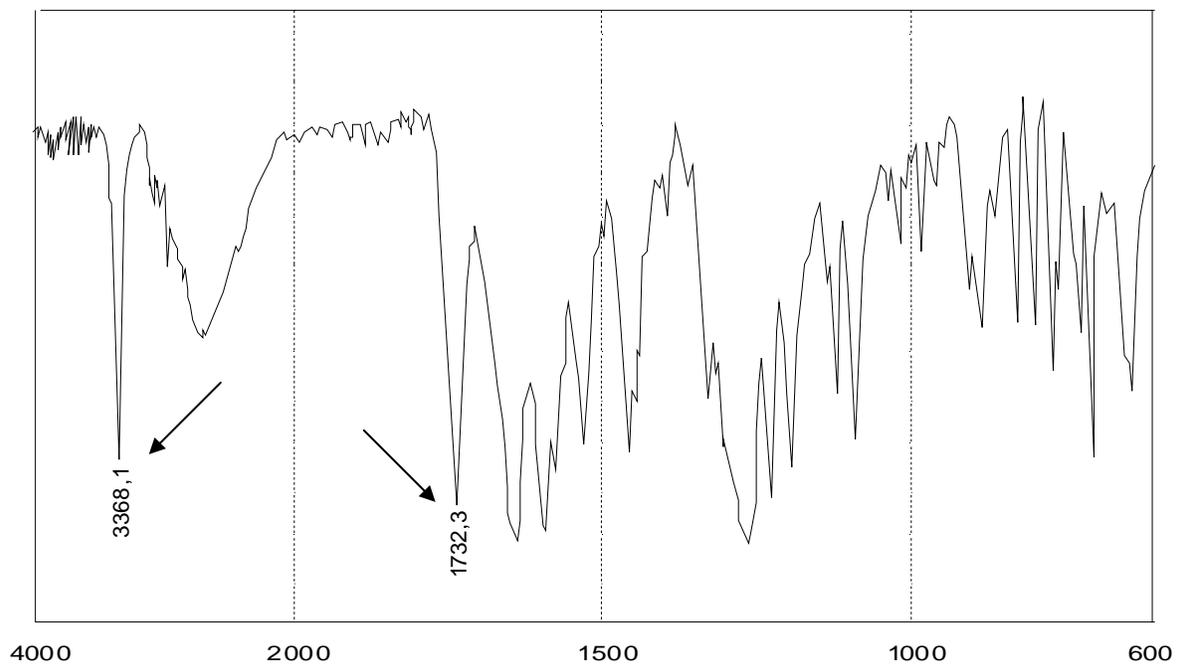


FIGURA 8 - Espectros de IV da amostra B de mebendazol.

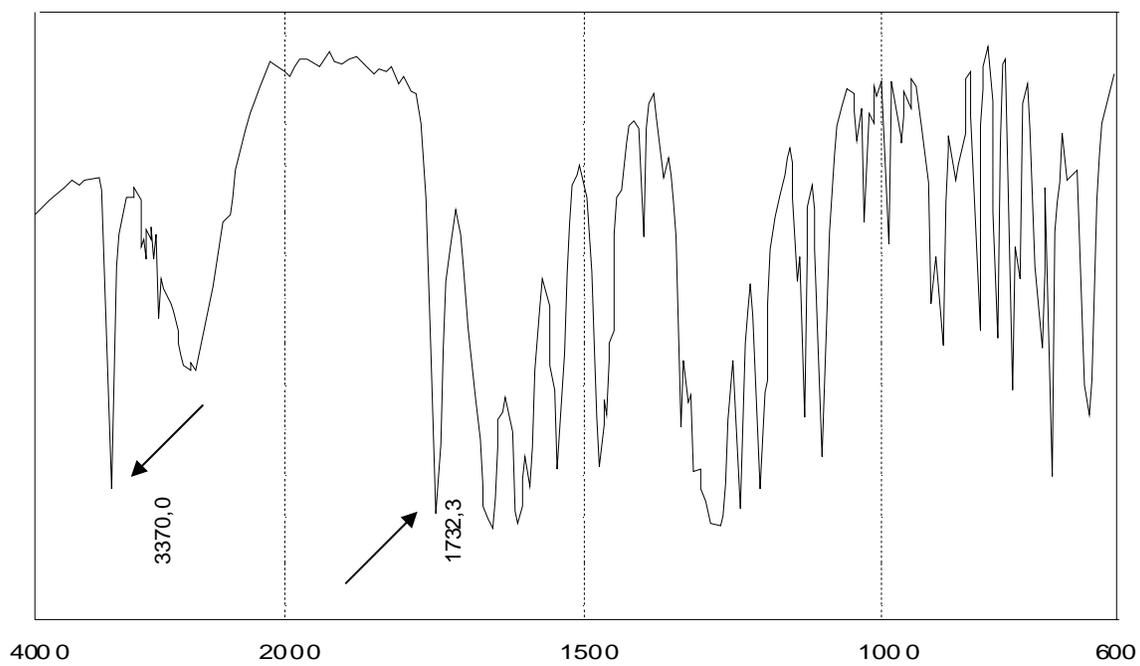


FIGURA 9 - Espectros de IV da amostra C de mebendazol.

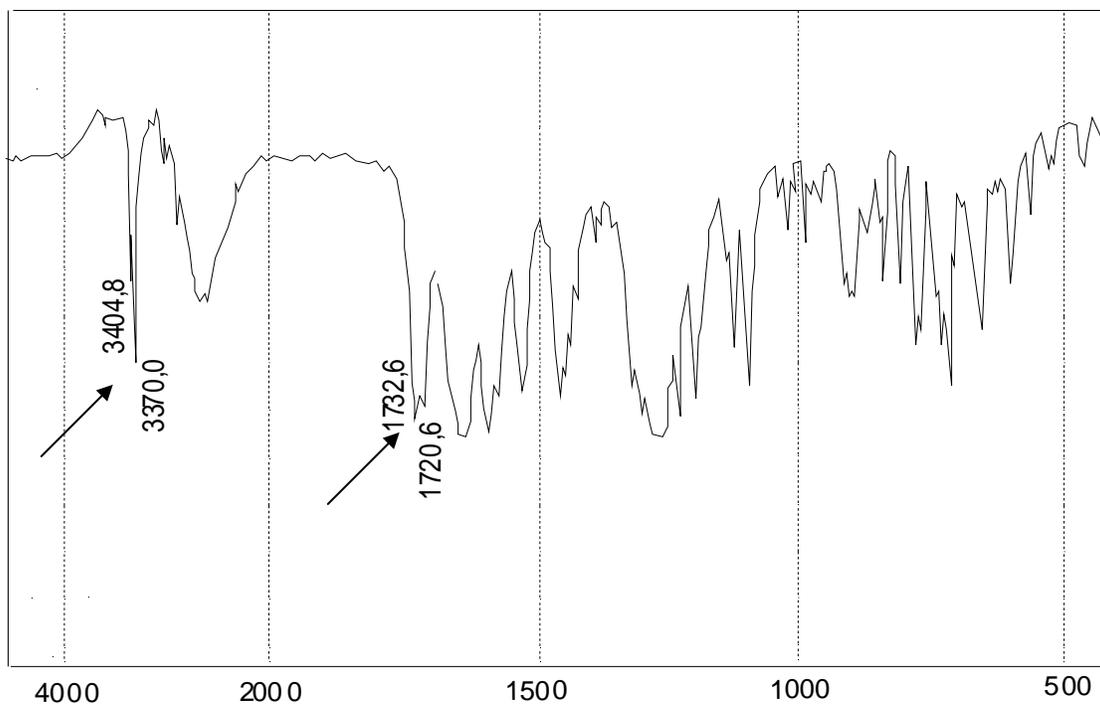


FIGURA 10 - Espectros de IV da amostra D de mebendazol.

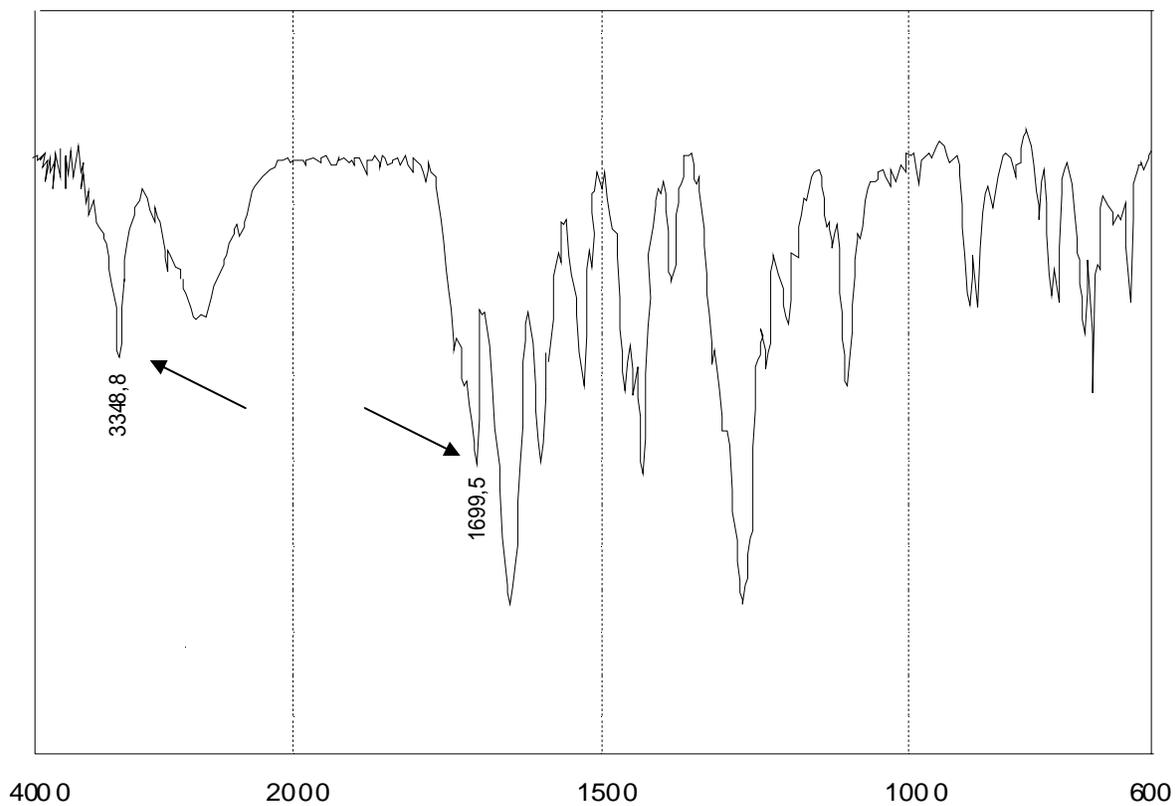


FIGURA 11 - Espectros de IV da amostra E de mebendazol.

Pela análise dos espectros obtidos das amostras de mebendazol matéria-prima, foi possível constatar que as bandas correspondentes ao polimorfo A foram identificadas nas amostras A, B, C e D, conforme Figuras 7, 8, 9 e 10, respectivamente, sendo que a amostra A é a matéria-prima que corresponde ao Padrão USP.

No entanto, a possibilidade de que na amostra D possa ter uma mistura dos polimorfos A e C deve ser considerada, uma vez que na região da banda correspondente ao grupamento – C=O houve a presença de vários picos, inclusive com dois deles correspondendo aos polimorfos A e C respectivamente. Neste caso específico, a amostra D foi identificada como sendo o polimorfo A devido à banda correspondente ao grupamento – NH.

As bandas de absorção correspondentes ao polimorfo B puderam ser visualizadas na amostra E, conforme Figura 11.

Entre as matérias-primas analisadas, não foi encontrado o polimorfo C, terapeuticamente favorável.

5.1.2 Espectrofotometria no infravermelho (IV) dos comprimidos

O medicamento de referência indicado para o mebendazol na dosagem de 100 mg na época em que o estudo foi realizado era o Pantelmin®.

Atualmente, o medicamento de referência para o mebendazol para essa mesma dosagem é o Mebendazol da empresa Abbott.

Os testes para o Pantelmin® foram feitos para a dosagem de 100 mg e de 500 mg.

Dos dez medicamentos analisados (genéricos e referência), cinco apresentaram espectros característicos do polimorfo A, três do polimorfo C e dois apresentaram tanto bandas de absorção correspondentes ao polimorfo B quanto

ao polimorfo C. No entanto, pela duplicidade de picos observados na região da banda correspondente ao grupamento – NH, considerou-se o pico correspondente ao grupamento – C=O como sendo o equivalente ao polimorfo do mebendazol presente nos comprimidos, ou seja, o polimorfo B. Também há a possibilidade de se ter uma mistura de matérias-primas utilizadas para um mesmo medicamento, com a presença de polimorfos C e B.

Dos cinco medicamentos que apresentaram espectros característicos do polimorfo A, dois deles são da mesma empresa farmacêutica, ou seja, possuem a mesma formulação, tratando-se apenas de diferentes lotes.

Dos três medicamentos que apresentaram espectros característicos do polimorfo C, dois deles correspondem ao medicamento de referência Pantelmin®, nas dosagens de 100 mg e 500 mg, respectivamente.

Nas Figuras 12 a 21 são apresentadas as bandas características dos comprimidos de mebendazol de medicamentos genéricos e referência.

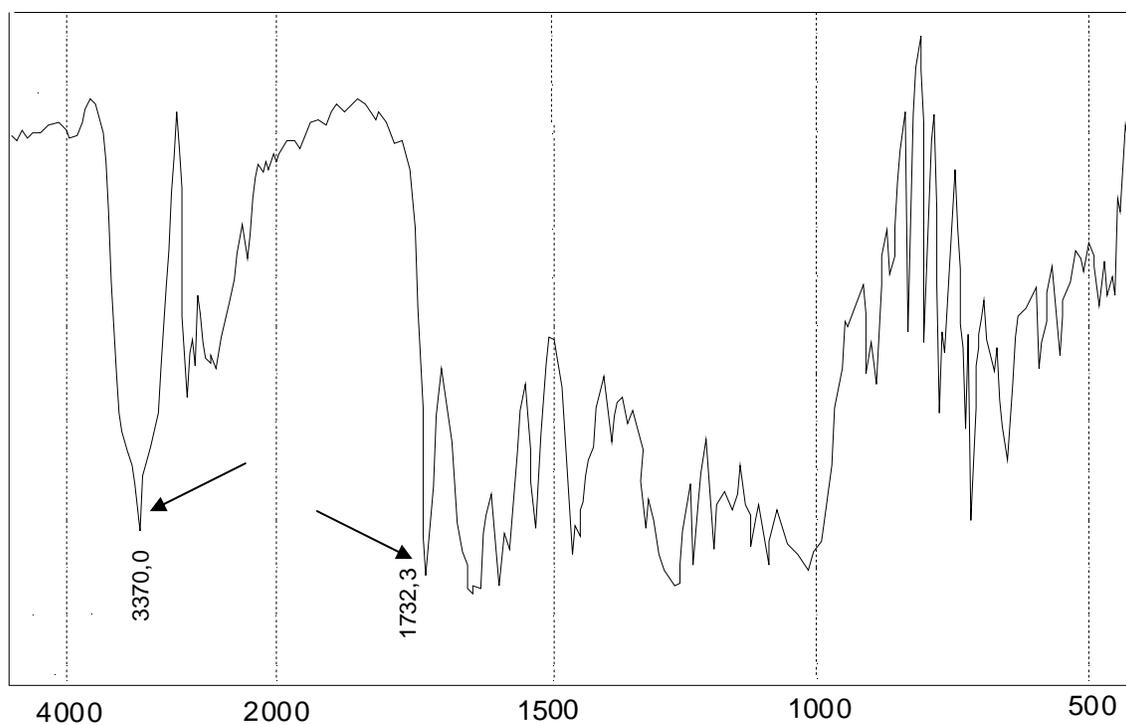


FIGURA 12 - Espectros de IV de medicamento (I) contendo polimorfo A do mebendazol.

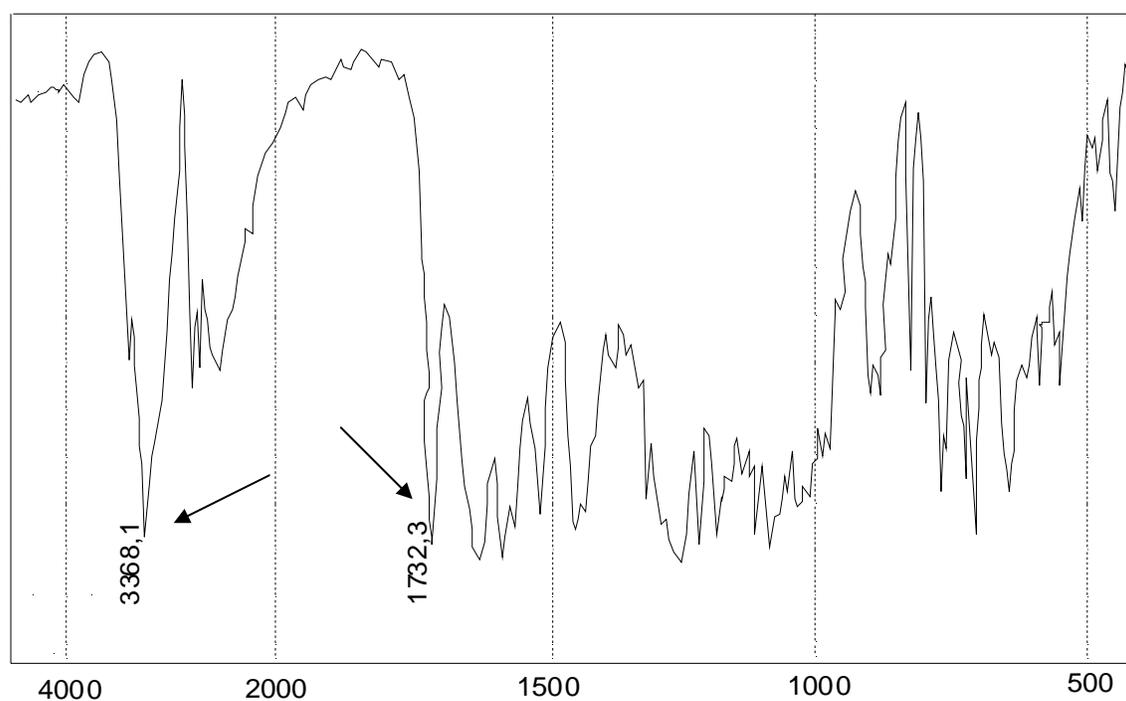


FIGURA 13 - Espectros de IV de medicamento (II) contendo polimorfo A do mebendazol.

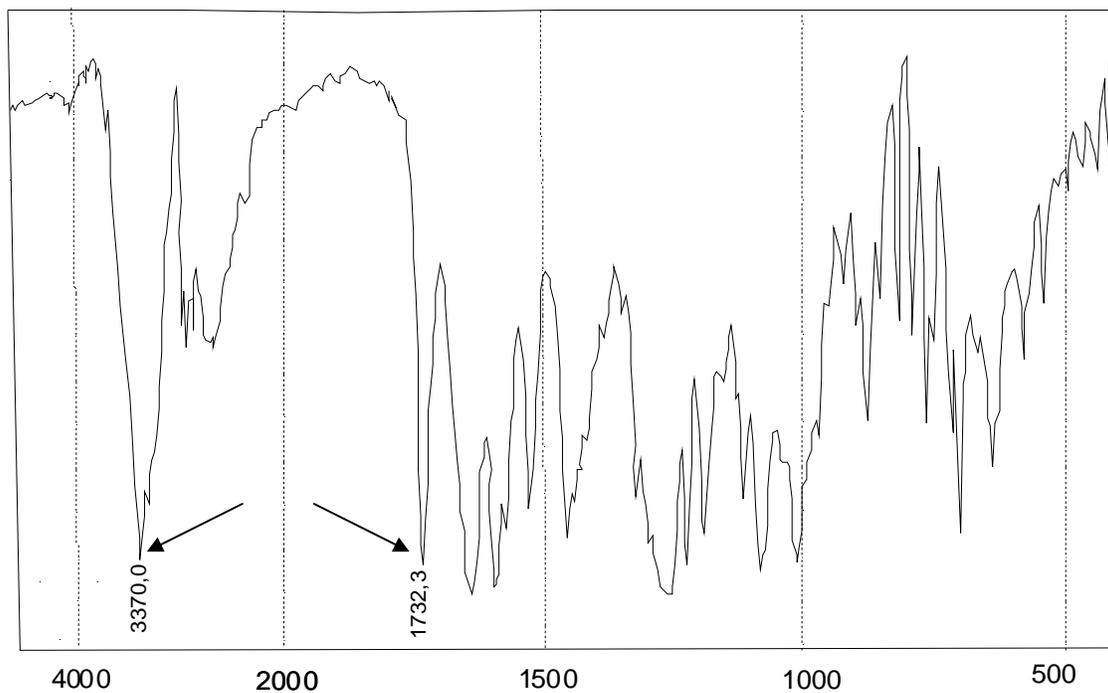


FIGURA 14 - Espectros de IV de medicamento (III) contendo polimorfo A do mebendazol.

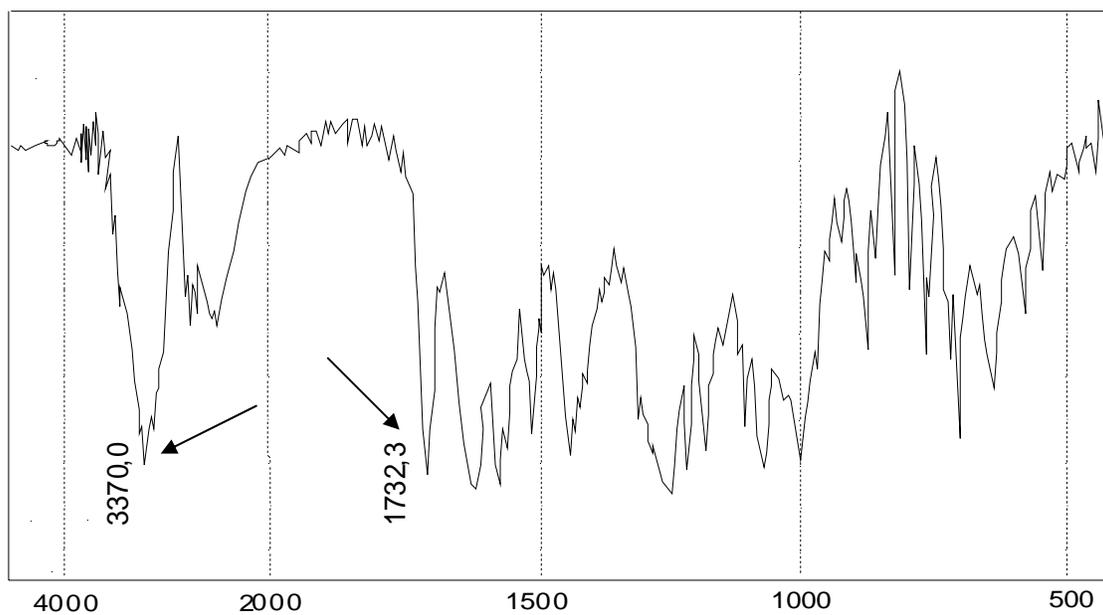


FIGURA 15 - Espectros de IV de medicamento (IV) contendo polimorfo A do mebendazol.

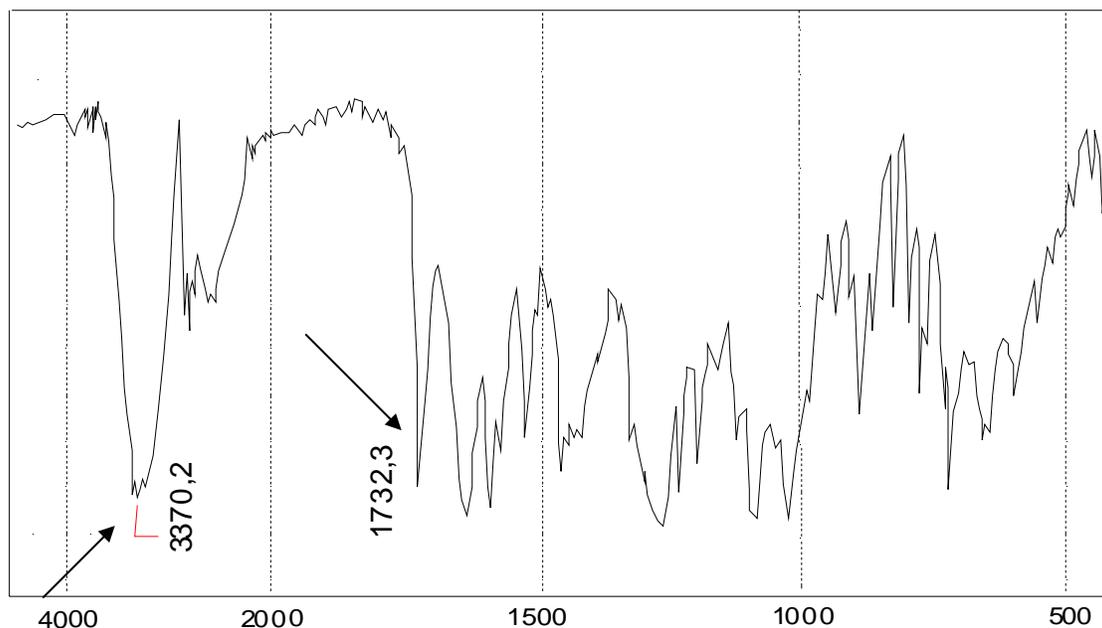


FIGURA 16 - Espectros de IV de medicamento (V) contendo polimorfo A do mebendazol.

Pela análise dos espectros obtidos das amostras dos comprimidos de mebendazol, as bandas de absorção visualizadas nos medicamentos I a V correspondem ao polimorfo A, conforme Figuras 12, 13, 14, 15 e 16, respectivamente.

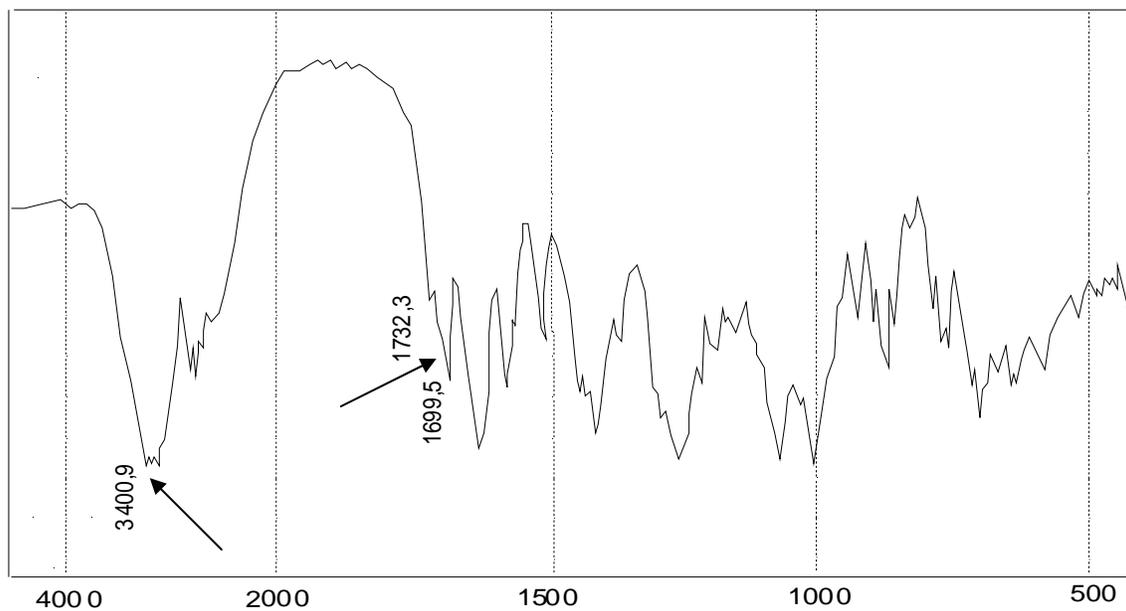


FIGURA 17 - Espectros de IV de medicamento (VI) contendo polimorfo B do mebendazol.

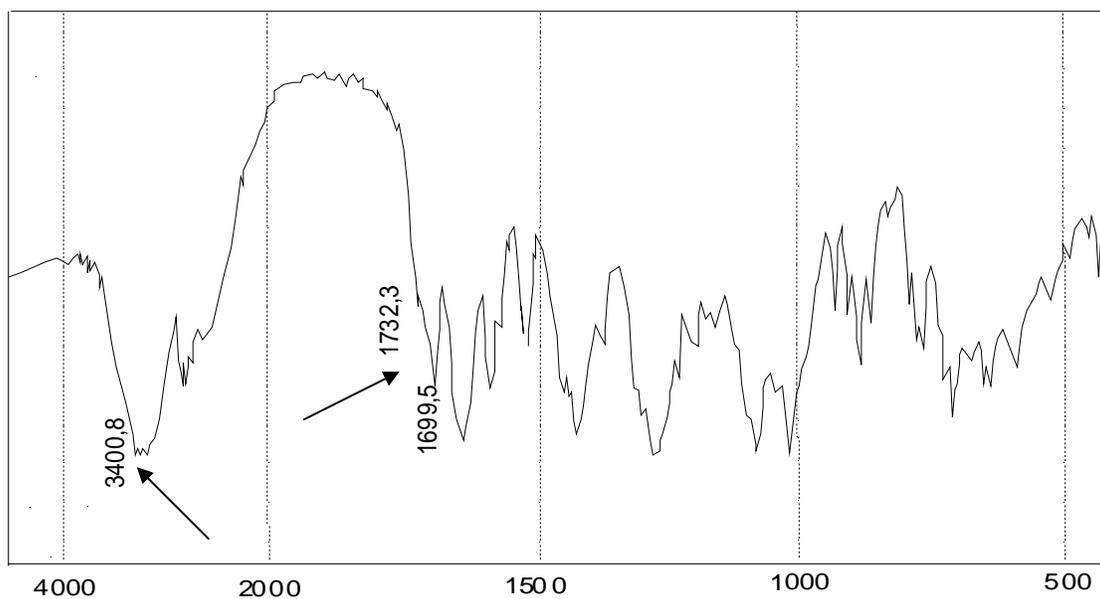


FIGURA 18 - Espectros de IV de medicamento (VII) contendo polimorfo B do mebendazol.

Os medicamentos VI e VII apresentaram tanto bandas de absorção correspondentes ao polimorfo B quanto ao polimorfo C, conforme Figuras 17 e 18, sendo considerado o polimorfo B como a forma predominante nestes comprimidos, com base na banda característica da carbonila ($1699,5\text{ cm}^{-1}$).

Esses dois medicamentos, bem como o medicamento V, correspondem ao medicamento de referência atual.

Neste caso, apesar de os três medicamentos possuírem a mesma formulação, uma vez que são da mesma empresa farmacêutica, apresentaram polimorfos diferentes para os diferentes lotes.

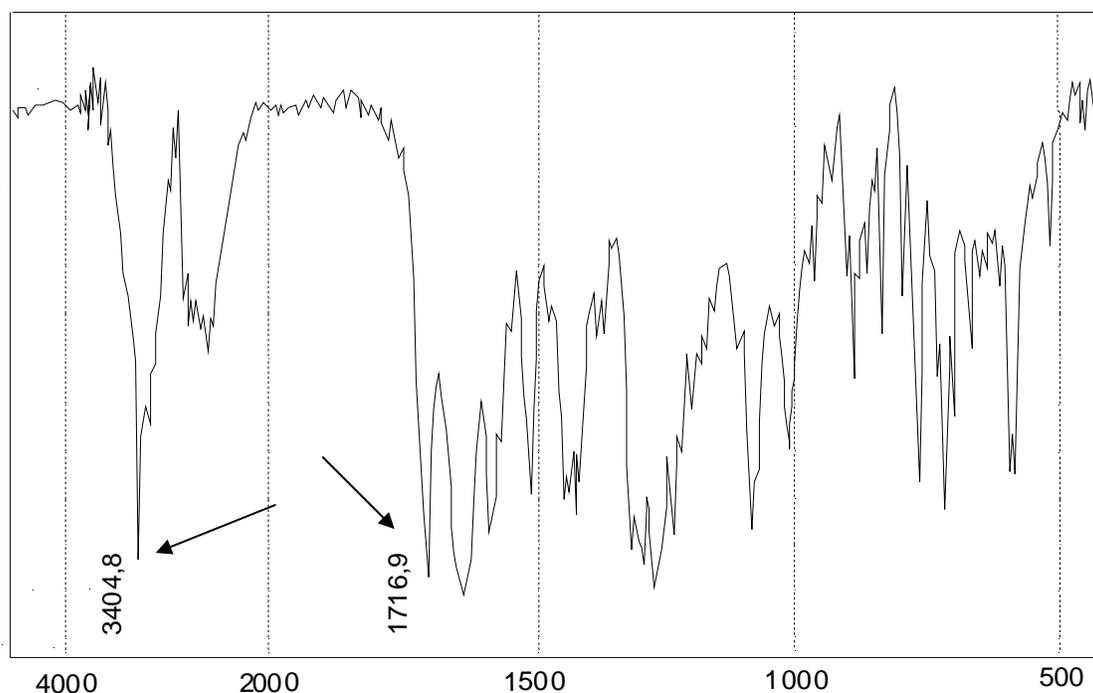


FIGURA 19 - Espectros de IV de medicamento (VIII) contendo polimorfo C do mebendazol.

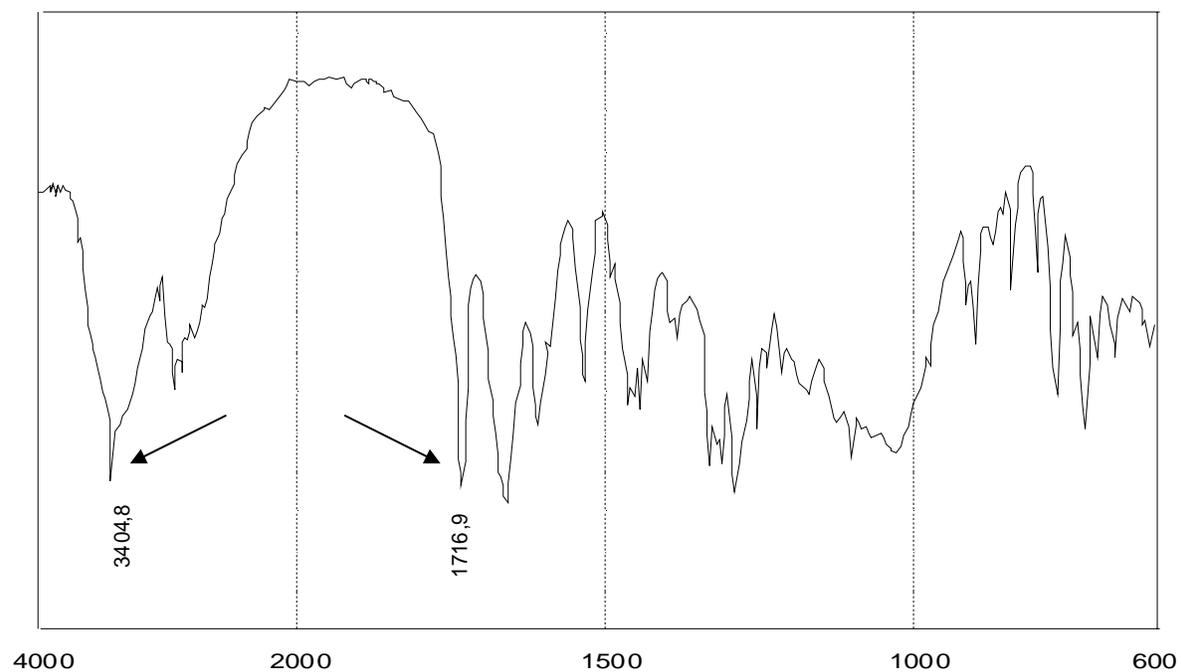


FIGURA 20 - Espectros de IV do medicamento (IX) contendo polimorfo C do mebendazol.

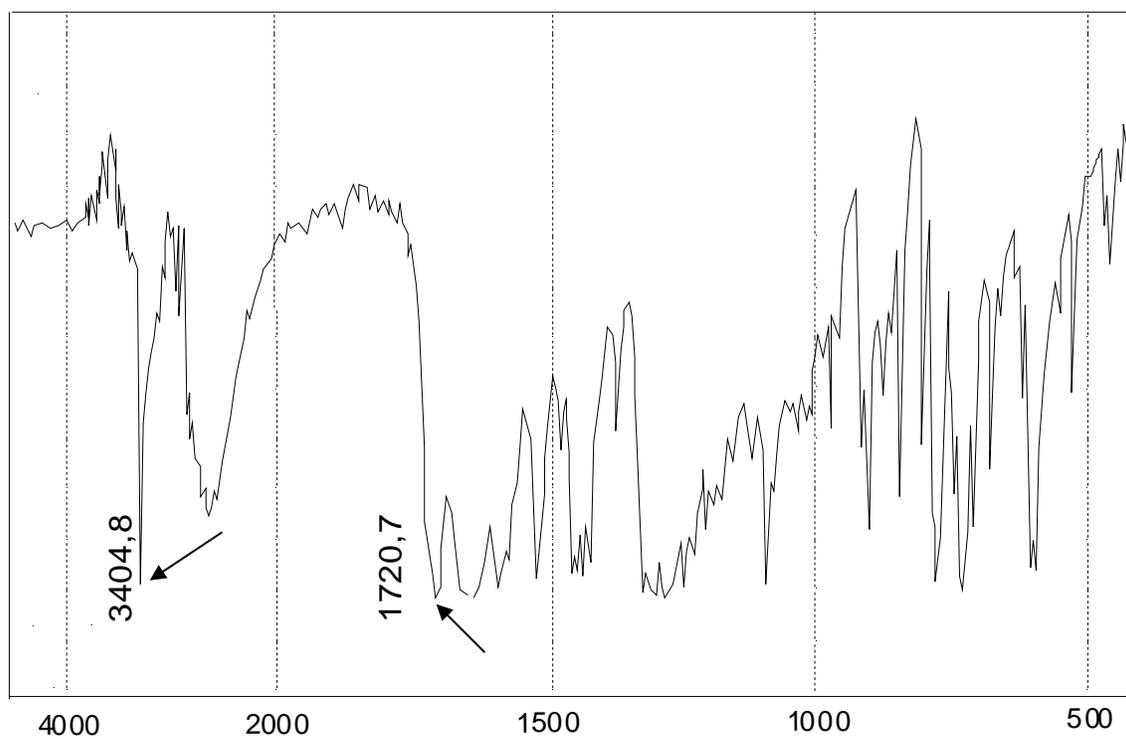


FIGURA 21 - Espectros de IV do medicamento (X) contendo polimorfo C do mebendazol.

As bandas que aparecem nos medicamentos VIII, IX e X correspondem ao polimorfo C, que é considerado o farmacologicamente favorável, conforme Figuras 19, 20 e 21, respectivamente.

Com a alteração do medicamento de referência, a forma polimórfica C, terapêuticamente favorável, que antes era a encontrada no medicamento de referência, não é a que está presente no medicamento de referência atual.

Além de não possuir a forma polimórfica favorável, o medicamento de referência atual apresentou diferentes polimorfos para diferentes lotes.

5.2 Perfis de dissolução

A dissolução *in vitro* pode ser relevante para prever o desempenho *in vivo* de alguns fármacos (BRASIL, 2003b).

A RE nº 310, publicada em 3 de setembro de 2004, refere-se ao Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução, revogando a RE 900/03 (BRASIL, 2004).

Os perfis de dissolução obtidos a partir dos comprimidos de mebendazol em que foram observados os polimorfos A, B e C, respectivamente, possibilitam a nítida visualização dos 3 polimorfos por meio das diferentes velocidades de dissolução, conforme observado na Figura 22.

O polimorfo A apresentou, ao final de 120 minutos, uma porcentagem dissolvida por volta de 20%; o polimorfo B obteve entre 30 – 40% de dissolução; enquanto o polimorfo C teve a maior porcentagem de dose dissolvida entre os 3 polimorfos: 50 – 60%.

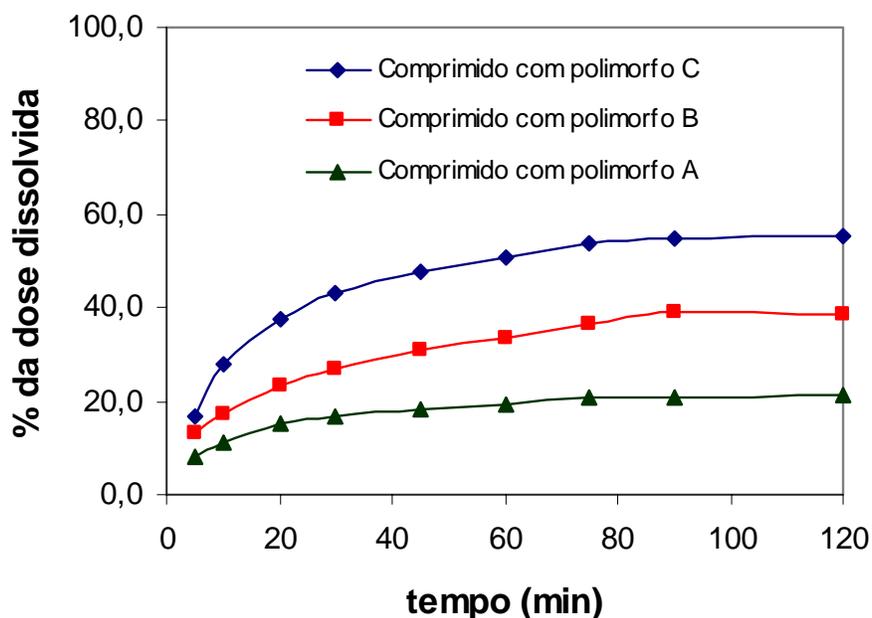


FIGURA 22 - Perfil de dissolução de comprimidos de mebendazol referentes aos polimorfos A, B e C, respectivamente, pelo método USP modificado (sem adição de lauril sulfato de sódio).

Segundo SWANEPOEL e colaboradores (2003a e 2003b), essa diferença na dissolução dos medicamentos só pode ser observada se for retirado do meio de dissolução o lauril sulfato de sódio, preconizado pelo teste da USP para o mebendazol.

Apesar de o perfil de dissolução fazer parte da documentação complementar exigida para os produtos fabricados a partir de diferentes lotes do mesmo fármaco, oriundos de fabricantes diferentes, conforme preconiza a legislação vigente, ainda não é suficiente para prever uma possível alteração na biodisponibilidade, considerando que o fármaco pode apresentar diferentes polimorfos e/ou diferentes isômeros que não são adequadamente identificados pelos ensaios farmacopéicos atuais.

O espectro de infravermelho, que poderia ser utilizado para detectar o polimorfismo, ainda não é utilizado pelas farmacopéias para este fim, pois é

recomendação comum nas mesmas que em caso de diferença entre os espectros da substância química de referência (SQR) e da amostra, ambas devem ser dissolvidas em um mesmo solvente e recristalizadas em igual condição (FARMACOPÉIA, 1998; UNITED STATES, 2004; EUROPEAN, 2002). Esta ausência de preocupação com o polimorfismo, como neste exemplo, está refletida no fato de que a própria SQR USP é preparada a partir do polimorfo menos adequado.

Desta forma, a biodisponibilidade do produto pode ficar comprometida e, conseqüentemente, sua eficácia e segurança.

Considerando que mesmo para atuar junto ao parasita o mebendazol precisa estar dissolvido, favorecendo o contato do fármaco com o parasita, e que há diferença na ação do fármaco dependendo da forma polimórfica utilizada, conforme mostrado nos trabalhos, o estudo de bioequivalência deveria ser exigido para o mebendazol, para garantir sua eficácia (BALDANI *et al.*, 1999).

5.3 Sugestão

Pela Resolução RDC nº 135/03, atual legislação que regulamenta o registro de medicamento genérico, é permitido no máximo 3 fabricantes para o fármaco do medicamento, sendo que todos eles devem apresentar informações e determinação dos prováveis polimorfos e a metodologia analítica para fármacos que apresentem polimorfismo. No entanto, os estudos de bioequivalência e equivalência farmacêutica são realizados com apenas um lote do medicamento (biolote), sendo que para os outros lotes fabricados com os outros fabricantes do fármaco é exigida apenas uma documentação adicional.

Considerando que o polimorfo utilizado pode interferir na biodisponibilidade do medicamento, e que mesmo assim o estudo de bioequivalência é realizado com somente um dos lotes, para os casos em que a empresa apresentasse mais de um fabricante para o fármaco deveria exigir a utilização do mesmo polimorfo

utilizado no biolote. Caso os outros fabricantes não apresentassem o mesmo polimorfo que aquele utilizado no biolote, um outro estudo de bioequivalência com os lotes do medicamento fabricados a partir desses fabricantes deveria ser realizado.

6 CONCLUSÕES

Dos fatores relacionados à síntese de matérias-primas farmacêuticas que podem interferir na biodisponibilidade de medicamentos, os principais são o polimorfismo e a quiralidade.

Fármacos quirais podem apresentar diferenças na farmacocinética de seus enantiômeros, podendo comprometer a eficácia do produto quando a proporção dos mesmos não for corretamente avaliada.

A espectrofotometria no infravermelho mostrou-se adequada e rápida para a determinação de polimorfos de mebendazol, tanto na matéria-prima quanto na forma de comprimido.

Os testes presentes nas farmacopéias nem sempre consideram as possíveis modificações que podem ocorrer com o fármaco durante sua síntese, impossibilitando, muitas vezes, uma avaliação adequada de desempenho no produto final.

O uso de lauril sulfato de sódio no meio de dissolução, permitido e até mesmo recomendado pelas farmacopéias para substâncias pouco solúveis, pode impedir a diferenciação de polimorfos, como no exemplo do mebendazol.

Amostras de matérias-primas e medicamentos de mebendazol disponíveis no mercado apresentam diferentes polimorfos em sua composição.

Não existe um controle da presença de polimorfos nos fármacos, como pode ser verificado no exemplo do mebendazol.

A presença de polimorfos distintos em diferentes lotes de um mesmo medicamento mostra que, provavelmente, foi utilizado um outro fabricante do

fármaco e que, portanto, a documentação requerida para esse tipo de alteração no ato do registro não é suficiente para garantir a eficácia e segurança do medicamento.

Fatores importantes, como a presença de diferentes formas polimórficas, não são considerados na escolha do medicamento de referência, podendo influenciar na correta avaliação de medicamentos genéricos.

7 REFERÊNCIAS

ABOUL-ENEIN, H.Y; BUNACIU, A.A.; FLESCHEIN, S. Analysis of mebendazole polymorphs by Fourier transform IR spectrometry using chemometric methods. *Biopolymers Biospectroscopy*, v.67, p.56-60, 2002.

AGUIAR, A.J; KCR, J.J.; KINKEL, A.W.; SAMYN, J.C. Effect of polymorphism on the absorption of chloramphenicol from chloramphenicol palmitate. *Journal Pharmaceutical Scientific*, v. 56, p.847-853, 1967.

ALLENMARK, S.G.; ANDERSSON, S.A. Preparative chiral chromatographic resolution of enantiomers in drug discovery. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, v. 54, p. 11-23, 2002.

ANSEL, H.C., 2000; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. **Farmacotécnica - Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6ª Edição. São Paulo; Editorial Premier, 2000, 568 p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Confiabilidade e Garantia da Qualidade dos Genéricos. 2004. Disponível na Internet no endereço <http://anvisa.gov.br/hotsite/genericos/profissionais/confiabilidade/htm>.

BALBACH, S.; KORN, C. Pharmaceutical evaluation of early development candidates “the 100 mg-approach”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 275, p. 1-12, 2004.

BALDANI, L.A.; SOUSA, R.V.; MIGUEL, A.G. Farmacologia dos principais antiparasitários de uso na medicina veterinária. Ministério da Educação e do Desporto. Universidade Federal de Lavras – Departamento de Medicina Veterinária, p. 1-40. 1999.

BARREIRO, E.J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. *Química Nova*, v. 25, p.1172-1180, 2002.

BAUER, M.; LEEDE L., WAART M.V.D.. Purity as an issue in pharmaceutical research and development. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 6, p.331-335, 1998.

BAUER, J; SPANTON, S; HENRY, R; QUICK, J; DZIKI, W; PORTER, W; MORRIS, J. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceutical Research*, v. 18, p. 859-866, 2001.

BENET, L.Z; KROETZ, D.L.; SHEINER, L.B. Farmacocinética: a dinâmica da absorção, distribuição e eliminação dos fármacos. In: GILMAN A.G.; HARDMAN, J.G.; MOLINOFF, P.B. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana Editores. 1996. Cap. 1. p. 3-20.

BERGLUND, M.; BYSTROM K.; PERSSON B. Screening chemical and physical stability of drug substances. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 8, p. 639-643, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei nº 9.787, de 10/02/99. Medicamento Genérico e Utilização de Nomes Genéricos em Produtos Farmacêuticos, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 482, de 19/03/02. Guia para Estudos de Correlação in-vitro in-vivo (CIVIV), 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 135, de 29/05/03. Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos, 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 901, de 29/05/03. Guia para Ensaio de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata (FFSOLI), 2003b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 897, de 29/05/03. Guia para Isenção e Substituição de Estudos de Bioequivalência, 2003c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 310, de 01/09/04. Guia para Realização do Estudo e Elaboração do Relatório de Equivalência Farmacêutica e Perfil de Dissolução, 2004.

BUGAY, D.E. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 43-65, 2001.

CAMP, W., The impact of polymorphism on drug development: a regulator's viewpoint. In: XVIIIth Congress of the International Union of Crystallography, 1999, Scotland, p. 1-9.

CARCANO, C.E. **Cinetica de disolucion de medicamentos**. Washington: Organización de los Estados Americanos, 1981. 102 p.

CARRIZO, F.E.E.; Estudios de bioequivalencia: enfoque metodológico y aplicaciones prácticas em la evaluación de medicamentos genéricos. **Revista Médica del Uruguay**, v. 16, p. 133-143, 2000.

CHAROENLARP, P.; WAIKAGUL, J.; MUENNOO, C.; SRINOPHAKUN, S.; KITAYAPORN, D. Efficacy of single-dose mebendazole, polymorphic forms A and C, in the treatment of hookworm and *Trichuris* infections. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, v. 24, p. 712-716, 1993.

CHIBA, Y.; KOHRI, N.; ISEKI, K.; MIYAZAKI, K. Improvement of dissolution and bioavailability for mebendazole, an agent for Human Echinococcosis, by preparing solid dispersion with polyethylene glycol. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, p. 2158-2160, 1991.

CHOWDARY, K.P.R.; RAJYALAKSHMI, Y. Dissolution rate in modern pharmacy. **East Pharm**, New Delhi, v.30, nº 350, p. 51-54, 1987.

COSTA, J; FRESNO, M; GUZMÁN, L; IGUAL, A; OLIVA, J; VIDAL, P; PÉREZ, A; PUJOL, M. Formas polimórficas del mebendazol: aspectos analíticos y toxicidad. **Cir. Farm.**, Barcelona, v. 49, p. 415-426, 1991.

CROM, W.R. Isomer Technology: implications for the future. **American Journal of Hospital Pharmacy**, v.49, Suplemento 1, p. 4-18, 1992.

DOELKER, E. Modificaciones cristallines et transformations polymorphes au cours des opérations galéniques. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 60, p. 161-176, 2002.

EUROPEAN Pharmacopoeia. 4. ed. Strasbourg, 2002. Substances for pharmaceutical use. P. 522-523.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, 1988. Pt.1. cap. V. 2.14.4 - Espectrofotometria de Absorção ultravioleta visível e infravermelho.

FRANÇA, F.F.A.C. Andrejus Korolkovas: **Dicionário Terapêutico Guanabara**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

FOYE, W.O.; LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A. **Principles of Medicinal Chemistry**. 4 ed. Williams & Wilkins, 1995. p. 995.

GASCÓN, A.R.; CAMPO, E.; HERNÁNDEZ, R.M.; CALVO, B.; ERRASTI, J.; MUÑOZ, J.L.P. Pharmacokinetics of ofloxacin enantiomers after intravenous administration for antibiotic prophylaxis in biliary surgery. **Journal Clinic Pharmacology**, v.40, p.869-874, 2000.

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

GRANBERG, R.A.; BLOCH, D.G.; RASMUSON, A.C. Crystallization of paracetamol in acetona-water mixtures. **Journal of Crystal Growth**, v. 198/199, p. 1287-1293, 1999.

GRANT, D.J.W.; BYRN S.R. A timely re-examination of drug polymorphism in pharmaceutical development and regulation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 237-239, 2004.

HALEBLIAN, J.; MC CRONE, W. Pharmaceutical applications of polymorphism. **Journal Pharmaceutical Scientific**, v. 58, p. 911-929, 1969.

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

HUANG, L.F.; TONG, W.Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 321-334, 2004.

HUTT, A.J.; GRADY, J.O. Drug chirality: a consideration of the significance of the stereochemistry of antimicrobial agents. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 37, p.7-32, 1996.

KALINKOVA, G.N. Infrared spectroscopy in pharmacy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 19, p. 307-320, 1999.

KRSTULOVIC, A.M. Racemates versus enantiomerically pure drugs: putting high-performance liquid chromatography to work in the selection process. **Journal of Chromatography**, v. 488, p. 53-72, 1989.

LIEBENBERG, W.; DEKKER, T.G.; LOTTER, A.P.; VILLIERS M.M. Identification of the mebendazole polymorphic form present in raw materials and tablets available in South Africa. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, p. 485-488, 1998.

LIMA, V.L.E. Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. **Química Nova**, v. 20, p. 657-663, 1997.

LOBENBERG, R., AMIDON, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 3 -12, 2000.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 375 - 399, 2002.

MARTÍN, I.D.; CODINA, H.C. Liberación: factores farmacotécnicos. In: BERROZPE, J.D.; LANAO, J.M.; DELFINA, J.M.P. **Biofarmacia y Farmacocinética**. Madrid: Editorial Sintesis, 2000. Vol II. Cap. 14.

MARTÍN, I.D.; VILADROSA J.L. Liberación: factores fisicoquímicos. In: BERROZPE, J.D.; LANAO, J.M.; DELFINA, J.M.P. **Biofarmacia y Farmacocinética**. Madrid: Editorial Sintesis, 2000. Vol II. Cap. 13, p. 276-292.

MARZO, A. Clinical pharmacokinetic registration file for NDA and ANDA procedures. **Pharmacological Research**, v. 36, p. 425-450, 1997.

MOORE, J.W.; FLANNER, H.H.; Mathematical comparison of curves with an emphasis on in-vitro dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, p. 64-74, 1996.

MORISSETTE, S.L.; SOUKASENE, S.; LEVINSON, D.; CIMA, M.J.; ALMARSSON, O. Elucidation of crystal form diversity of the HIV protease inhibitor ritonavir by high-throughput crystallization. **PNAS**, v. 100, p. 2180-2184, 2003.

MOURA, M.R.L.; REYES, F.G.R. Interação fármaco-nutriente: uma revisão. **Revista de Nutrição**, v.15, p.223 - 238, 2002.

OKAZAKI, A.; KOJIMA, C.; HAKUSUI, H.; NAKASHIMA, M. Enantioselective disposition of ofloxacin in humans. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.35, p.2106-2109, 1991.

RENTSCH, K.M. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory. **Journal of Biochemical and Biophysical methods**, v. 54, p. 1-9, 2002.

RITSCHER, W.A., KEARNS, G.L. **Handbook of basic pharmacokinetics – including clinical applications**. 5 ed. Washington: American Pharmaceutical Association, 1999.

RODRIGUEZ-CAABEIRO, F; CRIADO-FORNELIO, A.; JIMENEZ-GONZALES, A; GUZMAN, L.; IGUAL, A.; PEREZ,A; PUJOL, A. Experimental chemotherapy and toxicity in mice of three mebendazole polymorphic forms. **Chemotherapy**, v. 33, p. 266-271, 1987.

ROHRS, B.R. Dissolution assay development for in vitro-in vivo correlations, 2003. Disponível no endereço http://americanpharmaceuticalreview.com/past_articles/1_APR_Spring_2003/Rohrs_article.htm.

RUSTICHELLI, C.; GAMBERINI, G.; FERIOLI, V.; GAMBERINI, M.C.; FICARRA, R.; TOMMASCINI, S. Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, p. 41-54, 2000.

SHAH, V. P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J. P. In Vitro Dissolution Profile Comparison – Statistics And Analysis of the Similarity Factor, f2. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 889-896, 1998.

SHARGEL, L., YU, A.B.C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**. 4^a ed. United States of America: Mc Graw-Hill/Appleton & Lange, 1999. 792 p.

SNIDER, D.A.; ADDICKS W.; OWENS W. Polymorphism in generic drug product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 391-395, 2004.

SMIT, W.A.; BOCHKOV, A.F.; CAPLE, R. **Organic Synthesis**. The Royal Society of Chemistry, 1998. 221p.

STEPHENSON, G.A.; FORBES, R.A.; REUTZEL-EDENS, S.M. Characterization of the solid state: quantitative issues. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 67-90, 2001.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 35, jan/jun, p. 1-16, 1999.

STRENG W.H. **Physical chemical characterization of drug substances**. DDT, v. 2 p. 415-426, 1997.

SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; DEVARAKONDA, B.; VILLIERS, M.M. Developing a discriminating dissolution test for three mebendazole polymorphs based on solubility differences. **Pharmazie** 58, p. 117-121, 2003a.

SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; VILLIERS, M. M. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazole polymorphs. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical**, v. 55, p.345-349, 2003b.

TRACY, J. W.; WEBSTER, L.T. Fármacos usados no tratamento das helmintíases. In: GILMAN A.G.; HARDMAN, J.G.; MOLINOFF, P.B. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana Editores. 1996. Cap. 42. p. 741-753.

UNITED States Pharmacopeia. 27 ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2004. 3013 p.

VENGUT, A.P.; MACIÁ, L.G. Absorción: estudio general. In: BERROZPE, J.D.; LANA O, J.M.; DELFINA, J.M.P. **Biofarmacia y Farmacocinética**. Madrid: Editorial Síntesis, 2000. Vol II. Cap 4. p. 77-99.

VIDAL, R.O.; BERROZPE, J.D. Biodisponibilidad. In: BERROZPE, J.D.; LANAO, J.M.; DELFINA, J.M.P. **Biofarmacia y Farmacocinética**. Madrid: Editorial Síntesis, 2000. Vol II. Cap. 1, p. 19-41.

VIPPAGUNTA, S.; BRITAIN, H.G.; GRANT, D. J. W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.48, p. 3-26, 2001.

VRECER, F.; VRBINC, M.; MEDEN, A. Characterization of piroxicam crystal modifications. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 3 -15, 2003.

YU, L.; REUTZEL, S.M.; STEPHENSON, G.A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. **Research Focus. PSTT**, v. 1, p. 118- 127, 1998.

YU, L.X.; FURNESS, M.S.; RAW, A.; OUTLAW, K.P.W.; NASHED, N.E.; RAMOS, E.; MILLER, S.P.F.; ADAMS, R.C.; FANG, F.; PATEL, R.M.; HOLCOMBE, F.O.J.; CHIU, Y.; HUSSAIN, A.S. Scientific considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications. **Pharmaceutical Research**, v. 20, p. 531-536, 2003.

ZHANG, G.G.Z.; LAW, D.; SCHMITT, E.A.; QIU, Y. Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 371-391, 2004.

WRIGHT, M.R.; JAMALI, F. Methods for the analysis of enantiomers of racemic drugs application to pharmacological and pharmacokinetic studies. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 29, p. 1-9, 1993.