**RESOLUÇÃO-RE Nº 482, DE 19 DE MARÇO DE 2002**

O Diretor da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de

Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere a Portaria

nº 724, do Diretor-Presidente, de 10 de outubro de 2000,

considerando o § 3º do art.111, do Regimento Interno aprovado

pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no

DOU de 22 de dezembro de 2000,

considerando que a matéria foi submetida à apreciação da

Diretoria Colegiada, que a aprovou em reunião realizada em 13 de

março de 2002, resolve:

Art. 1º Determinar a publicação do "Guia para Estudos de

Correlação In Vitro-In Vivo (CIVIV)", em anexo.

Art. 2º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

GONZALO VECINA NETO

ANEXO

GUIA PARA ESTUDOS DE CORRELAÇÃO IN VITRO-IN VIVO

(CIVIV) - 1/2002

1. INTRODUÇÃO

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.

As propriedades biológicas mais comumente utilizadas são

um ou mais parâmetros farmacocinéticos tais como área sob a curva

de concentrações plasmáticas do fármaco versus tempo (ASC) ou

concentração plasmática máxima (Cmax), obtidos após a administração

da forma farmacêutica. A característica físico-química mais

empregada é o comportamento de dissolução in vitro (isto é, porcentagem

do fármaco dissolvido sob condições experimentais determinadas).

A relação entre as duas propriedades, biológica e físicoquímica

é, então, expressa quantitativamente.

2. NÍVEIS DE CORRELAÇÃO IN VITRO-IN VIVO

Três níveis de correlação podem ser definidos e classificados

em ordem decrescente de importância. O conceito de correlação é

baseado na habilidade desta em refletir o perfil completo de concentração

plasmática versus tempo, obtido após a administração da

forma farmacêutica. É a relação entre o perfil de dissolução completo

in vitro com a curva completa de níveis plasmáticos do fármaco que

define a correlação.

2.1. Correlação de Nível A

É o nível de correlação mais alto que pode ser obtido. Representa

uma relação ponto a ponto entre a dissolução in vitro do

fármaco, a partir da forma farmacêutica, e a velocidade de entrada do

mesmo no organismo in vivo (algumas vezes referido como dissolução

in vivo). Neste nível de correlação, as curvas de dissolução in

vitro e in vivo são diretamente sobreponíveis, ou podem ser sobrepostas

utilizando-se uma constante (fator de escala). A descrição

matemática de ambas é a mesma. Esta relação é mais facilmente

obtida para formas farmacêuticas de liberação modificada, que possuem

liberação in vitro essencialmente independente do meio de

dissolução comumente utilizado nos testes. Entretanto, isto não é

requisito para uma correlação de nível A.

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. A obtenção da curva de fração absorvida

versus tempo pode ser efetuada pelo uso de técnicas de

equilíbrio de massa modelo dependentes, tais como o método de

Wagner-Nelson, caso a curva de absorção se ajuste a um modelo de

um compartimento, ou de Loo-Riegelman, se o ajuste é significativo

para um modelo de dois compartimentos, ou pela deconvolução matemática

independente de modelo.

As vantagens da correlação de nível A são:

a) Diferentemente dos outros níveis, uma correlação ponto a

ponto é desenvolvida, utilizando cada concentração plasmática e cada

porcentual de dissolução obtido in vitro, refletindo inteiramente, deste

modo, a curva de níveis plasmáticos. Como resultado, o perfil de

dissolução in vitro pode servir como um substituto do desempenho do

fármaco in vivo. Deste modo, modificações do local ou método de

fabricação, alteração de fornecedor de matéria-prima, pequenas alterações

de formulação ou na potência do produto, usando a mesma

formulação básica, podem ser avaliadas sem a necessidade de estudos

adicionais em seres humanos;

b) Definição de um procedimento de controle de qualidade

preditivo do comportamento do medicamento in vivo;

c) Os limites extremos do padrão de controle de qualidade in

vitro podem ser obtidos por métodos de convolução ou deconvolução.

2.2. Correlação de Nível B

A 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, uma vez que uma série de

diferentes curvas in vivo podem produzir valores similares de tempo

de residência médio (TRM). Por esta razão, diferentemente da correlação

de nível A, não se pode considerar somente a correlação de

nível B para avaliar modificações da formulação, alteração do local

de fabricação, alteração do fornecedor, dos excipientes, entre outros.

Além disso, os dados in vitro de tal correlação não podem ser usados

para obter os limites extremos do padrão do controle de qualidade.

2.3. Correlação de Nível C

Esta categoria relaciona um ponto de dissolução (t50%,

t90%, etc) a um parâmetro farmacocinético tal como ASC, Cmax ou

Tmax. Representa uma correlação de um único ponto. Não reflete o

formato completo da curva de concentração plasmática versus tempo,

um fator crítico para definir o desempenho dos produtos de liberação

modificada. Uma vez que este tipo de correlação não permite prever

o real desempenho do produto in vivo, ela é útil somente como

orientação no desenvolvimento de formulações ou como um método

de controle de qualidade da rotina de produção do medicamento.

Devido às suas limitações, tem utilidade restrita em prever o desempenho

do fármaco in vivo e está sujeita às mesmas restrições que

a correlação de nível B, em relação a sua capacidade de avaliar

alterações do produto e do local de fabricação, bem como de fornecer

os extremos do padrão do controle de qualidade.

3. DESENVOLVIMENTO DE UMA CORRELAÇÃO IN

VITRO-IN VIVO

O procedimento descrito a seguir pode ser utilizado como

orientação no desenvolvimento de uma correlação de nível A.

Os dados de excreção urinária ou níveis plasmáticos obtidos

em um estudo definitivo de biodisponibilidade de uma forma farmacêutica

de liberação modificada são tratados por um método de

deconvolução. Os dados resultantes podem representar a velocidade

de absorção do fármaco a partir da forma farmacêutica, como também

a dissolução in vivo quando o passo determinante da velocidade de

liberação da forma farmacêutica é a velocidade de dissolução (isto é,

a absorção do fármaco é considerada instantânea depois que o fármaco

é dissolvido). Qualquer método de deconvolução (equilíbrio de

massa ou deconvolução matemática) produzirá resultados aceitáveis.

O lote usado no estudo de biodisponibilidade (biolote) está

sujeito à avaliação da dissolução in vitro e ao efeito da variação das

condições de dissolução. Algumas das variáveis que podem ser estudadas

são: o aparelho de dissolução, intensidade de agitação e o

meio de dissolução (pH, enzima, tensoativo, pressão osmótica e força

iônica). Nem sempre é necessário estudar o comportamento de dissolução

da forma farmacêutica sob todas as condições indicadas. O

número de condições investigadas irá depender da correlação que

pode ser encontrada com os resultados obtidos in vitro, sob as condições

mais comumente estudadas, tais como: o aparelho de dissolução,

a intensidade de agitação ou meio de dissolução e valor do

pH. Cada formulação e cada fármaco representam uma situação individual.

A avaliação in vitro da forma farmacêutica deve ser efetuada

independemente do nível de correlação que está sendo desenvolvido.

A curva de dissolução in vitro é então comparada àquela da

velocidade de absorção do fármaco, que pode ser obtida através de

vários métodos. A simples sobreposição das duas curvas anteriormente

citadas pode indicar a existência de uma correlação. Isto pode

então ser quantificado definindo uma equação para cada curva e

comparando as constantes correspondentes, por um teste de significação

estatística apropriado. O meio mais simples de demonstrar

uma correlação é plotar a fração absorvida in vivo versus a fração

liberada in vitro. Com a correlação de nível A, esta relação é frequentemente

linear apresentando coeficiente angular maior que 0,95.

O intercepto pode ou não ser zero, dependendo de: a) existência de

um tempo de latência, antes que o sistema comece a liberar o fármaco

in vivo, ou b) velocidade de absorção não instantânea, resultando na

presença de uma quantidade finita de fármaco dissolvido, mas não

absorvido. Em ambos os casos, é uma correlação ponto a ponto ou

correlação de nível A, quando a relação é linear, com coeficiente

angular maior que 0,95. Isto indica que as curvas são essencialmente

sobreponíveis.

Dos estudos indicados anteriormente, se a forma farmacêutica

de liberação modificada exibir um comportamento de dissolução

in vitro independente das variáveis estudadas, e uma correlação de

nível A é demonstrada, é provável que a correlação seja geral e possa

ser extrapolada dentro de um intervalo razoável para aquela formulação

farmacêutica. Entretanto, se a forma de dosagem exibir um

comportamento de dissolução que varia com as condições in vitro,

devem ser determinadas às condições de dissolução que melhor se

correlacionam com o desempenho in vivo. Pode-se, então, estabelecer

se a correlação é real ou falsa. Isto é obtido preparando-se pelo menos

duas formulações com diferenças significativas no comportamento in

vitro. Uma deve demonstrar liberação mais rápida e a outra mais

lenta, em relação àquela do biolote. Um estudo piloto de biodisponibilidade

e bioequivalência deve ser realizado com essas formulações

e a correlação estabelecida previamente demonstrada para ambos.

As modificações das formulações desse lote devem ser baseadas

nos fatores de formulação, os quais poderiam influenciar os mecanismos

de liberação modificada do produto. É possível que modificações

desses fatores de formulação possam influenciar a velocidade

de liberação da forma de dosagem. Uma vez estabelecida

uma correlação de nível A, é possível que um teste in vitro possa ser

utilizado para estabelecer os efeitos de modificações no processo de

fabricação tais como alterações menores de formulação, local de

fabricação, equipamento, fornecedor de excipientes e de dosagem do

fármaco. É questionável se tal extrapolação seria possível nas correlações

de nível B e C.

4. ESTABELECIMENTO DOS LIMITES DE ESPECIFICAÇÃO

DA DISSOLUÇÃO

O comportamento da dissolução do biolote pode ser usado

para definir a quantidade de fármaco a ser liberado a cada tempo. No

caso de uma correlação de nível A, isto pode ser efetuado de duas

maneiras, ambas utilizando a correlação in vitro-in vivo, convolução

e deconvolução.

4.1 Convolução

Valores de dissolução superiores e inferiores são selecionados

para cada tempo estabelecido, a partir do perfil de dissolução

do fármaco no biolote.

A especificação da dissolução pode ser estabelecida utilizando

a média de dissolução dos lotes produzidos durante o seu

desenvolvimento, com uma faixa de desvio padrão de ±2,5 a 3,0.

Espera-se que as médias dos valores de dissolução sejam aproximadamente

as mesmas daquelas do biolote. As curvas de dissolução

definidas pelos extremos superiores e inferiores são submetidas à

técnica de convolução para projetar e antecipar as curvas de níveis

plasmáticos que resultariam da administração da formulação farmacêutica

ao mesmo grupo para o qual o biolote foi administrado. Caso

os dados resultantes de níveis plasmáticos estiverem no intervalo de

confiança (IC) de 95%, obtido no estudo definitivo de biodisponibilidade/

bioequivalência, essas faixas podem ser consideradas aceitáveis.

Uma alternativa de aceitação para fármacos de faixa terapêutica

definida é estabelecer um limite superior e inferior, quando os

resultados da convolução permanecerem dentro da faixa terapêutica,

mesmo que estejam fora do intervalo de confiança. Neste caso, devese

estabelecer uma faixa mais estreita dos valores extremos.

4.2. Deconvolução

Dados aceitáveis de níveis plasmáticos são estabelecidos para

ambos os lotes da forma farmacêutica, tanto o de liberação mais

rápida como o de liberação mais lenta em relação àquela do biolote.

Esses dados podem ser selecionados usando os extremos do intervalo

de confiança de 95% ou ± 1 desvio padrão da curva média de níveis

plasmáticos. Essas curvas são submetidas a deconvolução e a curva

resultante da velocidade de absorção é usada para estabelecer as

especificações superiores e inferiores de dissolução em cada tempo.

No caso de correlação de nível B e C, lotes do produto

devem ser preparados nos limites de dissolução superiores e inferiores

propostos e deve ser demonstrado que esses lotes são aceitáveis pelo

desempenho de um estudo de biodisponibilidade-bioequivalência.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE MEDICAMENTOS

DE LIBERAÇÃO IMEDIATA

Uma vez que os mecanismos para liberação do fármaco de

medicamentos de liberação modificada são mais complexos e variados

em relação àqueles associados com medicamentos de liberação

imediata, acredita-se que seria mais fácil desenvolver uma correlação

in vitro-in vivo para os últimos. Infelizmente, a maioria dos estudos

de correlação realizados com medicamentos de liberação imediata se

baseia na correlação de nível C, apesar de, também, haver estudos

empregando a teoria dos momentos estatísticos (nível B). Embora

concebendo que uma mesma correlação de nível A possa ser utilizada

com medicamentos de liberação imediata, correlações de nível B e C

são as melhores que podem ser recomendadas para esses medicamentos