

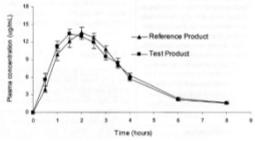


Biofarmacotécnica

Ensaio de Bioequivalência Etapa Analítica



Introdução



Plasma concentration (µg/L)

Time (hours)

Reference Product

Test Product

método analítico
validado



Introdução

Técnicas de quantificação de fármacos em amostras biológicas:

- * cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, HPLC – *high performance liquid chromatography*);
- * cromatografia gasosa (GC – *gas chromatography*);
- * imunoenaios (radioimunoensaio, enzimaensaio).



Amostra biológicas

Tipos de amostras:

- * sangue;
- * plasma;
- * soro;
- * urina;
- * saliva;
- * ...



Amostras biológicas

Pontos críticos no processo de encaminhamento das amostras biológicas:

- * identificação (estudo, sujeito, fase, data e horário da coleta);
- * temperatura durante o transporte;
- * avaliação das condições das amostras no recebimento;
- * armazenamento no laboratório analítico.



Amostras biológicas

Pré-tratamento:

- * precipitação por proteínas;
- * extração líquido-líquido;
- * extração por fase sólida.



Técnicas cromatográficas

- * fase móvel/fase estacionária;
- * migração diferencial/separação;
- * detecção/cromatograma;
- * tempo de retenção/área de pico;
- * padrão interno;
- * CLAE/GC.



CLAE

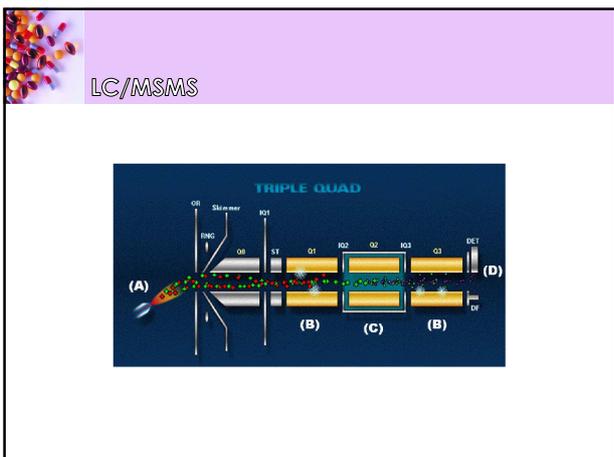
- * fase móvel líquida;
- * tipos básicos:
 - * cromatografia líquido-líquido ou de partição;
 - * cromatografia líquido-sólido;
 - * cromatografia de troca iônica;
 - * cromatografia de exclusão.

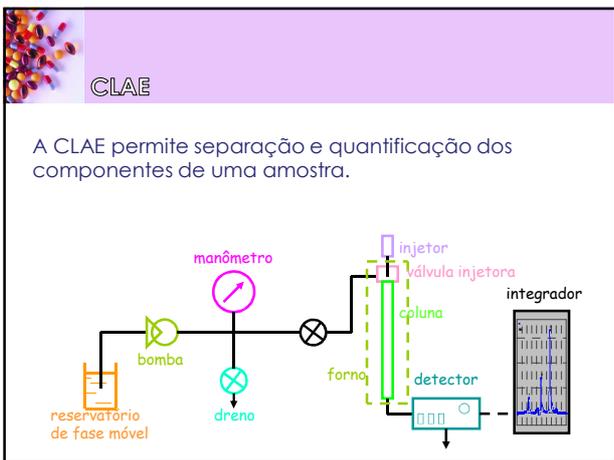


CLAE

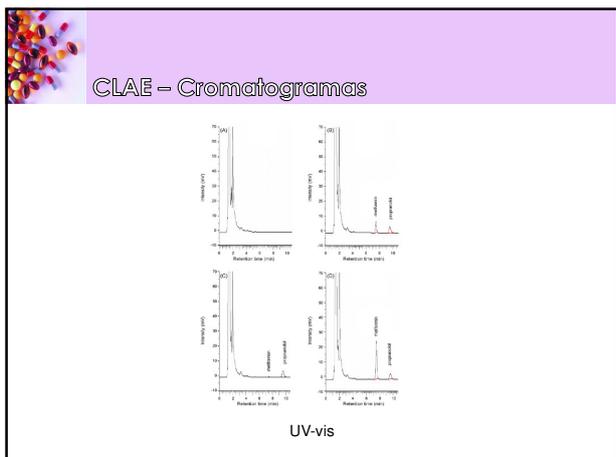
Detectores:

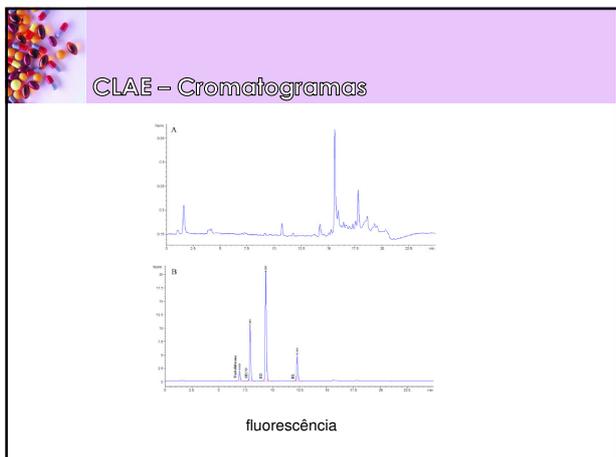
- * absorvância no ultravioleta e visível (UV-VIS);
- * arranjo de diodos (DAD);
- * fluorescência;
- * espectrometria de massas (LC/MSMS).

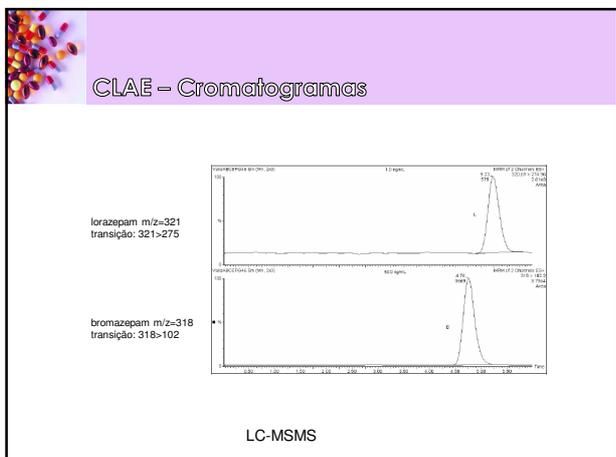














Cromatografia gasosa

- * fase móvel gasosa;
- * fase estacionária líquida ou sólida;
- * volatilização da amostra;
- * amostras voláteis e termorresistentes.



Imunoensaios

- * EMIT (enzyme-multiplied immunoassay technique);
- * FPIA (fluorescence polarization immunoassay);
- * alta sensibilidade;
- * baixa seletividade;
- * fenobarbital, teofilina, digoxina, etc...



Desenvolvimento de métodos

Parâmetro importantes:

- * faixa de linearidade e limite de quantificação;
- * complexidade do processo de pré-tratamento;
- * tempo de análise;
- * disponibilidade de padrão interno;
- * toxicidade dos solventes e demais reagentes.

Quantificação do Fármaco

A quantificação do fármaco nas amostras biológicas é feita por meio de comparação com amostras padrão (curva de calibração) e controlada por meio de amostras de controle de qualidade.

Etapa Analítica - Resumo

```

    graph TD
      A["preparação das amostras:  
✓ precipitação de proteínas  
✓ extração líquido-líquido  
✓ extração por fase sólida"] --> B["análise  
por CLAE/GC/IE"]
      B --> C["quantificação do fármaco:  
✓ curva de calibração  
✓ controle de qualidade"]
      subgraph Validacao [Validação]
        A
        B
        C
      end
    
```

Validação

A validação deve garantir que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Abrange os seguintes itens:

- * especificidade/seletividade;
- * recuperação;
- * linearidade;
- * precisão;
- * exatidão;
- * limites de detecção e quantificação;
- * estabilidade;
- * robustez.
