

DANIEL LACERDA DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO DE ETIONAMIDA 250 mg
COMPRIMIDOS REVESTIDOS**

Rio de Janeiro

2014

DANIEL LACERDA DE OLIVEIRA

**Desenvolvimento de formulação de Etionamida 250 mg comprimidos
revestidos**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos - FIOCRUZ

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Rio de Janeiro

2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

O48d

Oliveira, Daniel Lacerda de

Desenvolvimento de formulação de Etionamida 250 mg comprimidos revestidos. / Daniel Lacerda de Oliveira. – Rio de Janeiro, 2014.

xv, 136f. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2014.

Bibliografia: f. 132-136

1. Etionamida. 2. Perfil de dissolução. 3. Tamanho de partícula.
4. Desenvolvimento de formulação. 5. Comprimidos I. Título.

CDD 615.1

DANIEL LACERDA DE OLIVEIRA

Desenvolvimento de formulação de Etionamida 250 mg comprimidos revestidos

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em 29 de abril de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ (Presidente da Banca)

Prof^a. Dr^a. Tereza Cristina dos Santos
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Laís Bastos da Fonseca
Serviço de Farmacocinética (Sefar) – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Flávia Almada do Carmo
Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aos colaboradores do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica, Laboratório de Estudos do Estado Sólido e Laboratório de Sistemas Farmacêuticos Avançados, que de certa forma tornaram possível na prática a realização deste trabalho.

Não poderia deixar de registrar um agradecimento especial ao meu falecido pai e a minha mãe, que se esforçaram ao máximo para me dar a educação adequada que moldou a pessoa e o profissional que sou hoje.

Por fim, gostaria de deixar um agradecimento especial a minha esposa Alice e minhas filhas, Júlia e Giovana, que me proporcionam felicidade e amor, necessários para superar todas as dificuldades pessoais e profissionais, não me deixando desistir de atingir meus objetivos.

RESUMO

OLIVEIRA, D. L.. *Desenvolvimento de formulação de Etionamida 250 mg comprimidos revestidos*. 2014. 136f. Dissertação de Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica-Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

A Etionamida (ETA) é um fármaco usado no tratamento da tuberculose pulmonar e extrapulmonar, junto com outros tuberculostáticos, nos casos de falência de tratamentos, resistência ou intolerância a outros fármacos, ou abandono de tratamento. A ETA está descrita na literatura como praticamente insolúvel em água e possui rápida absorção por via oral, o que sugere ser um fármaco de classe II do sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), ou seja, baixa solubilidade e alta permeabilidade. Para estes fármacos, é importante o conhecimento dos fatores físicos que influenciam na sua dissolução a partir do produto final, além de se investigar condições para ensaios de perfis de dissolução que possam discriminá-los, isoladamente ou em formulações, com o objetivo de se obter um produto final elegível para um estudo de bioequivalência frente ao medicamento de referência. Foi realizado estudo de solubilidade em HCl 0,1 N, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8, com amostra de ETA obtida no mercado. Estes estudos demonstraram que a ETA possui alta solubilidade em HCl 0,1 N e baixa solubilidade em tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8, considerando-se o critério de solubilidade do SCB, sugerindo que estes últimos meios seriam mais discriminativos para estudos de perfil de dissolução. O tamanho de partícula da ETA foi reduzido utilizando-se os processos de moagem (ETA-MOÍDA) e micronização (ETA-MICRO). As amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, foram avaliadas quanto suas características de dissolução (molhabilidade, dispersão e intrínseca), físicas (distribuição granulométrica, microscopia, fluidez, DSC, TGA, DRXP, FTIR e FTNIR) e físico-químicas (teor, pH, umidade e substâncias relacionadas), além de serem utilizadas em formulações de núcleos de comprimidos revestidos produzidos pelos processos de compressão direta e granulação úmida. Os processos de moagem e micronização impactaram em alterações na distribuição granulométrica, morfologia dos cristais, fluidez e dissolução da ETA, porém não resultaram em alterações físico-químicas e de arranjo cristalino interno (polimorfismo). As formulações fabricadas por granulação úmida apresentaram melhores características de fluidez, quando comparados os valores do índice de compressibilidade, razão de Hausner e fluxo por orifícios. Entretanto, as formulações fabricadas por compressão direta não apresentaram variação de peso durante o processo de compressão que indicasse fluidez inapropriada, com exceção daquela que utilizou ETA-MICRO. Foram avaliados os perfis de dissolução das formulações frente ao medicamento de referência Trecator[®], sendo evidenciado que a condição descrita nos compêndios oficiais, HCl 0,1 N, não foi suficiente para discriminá-las, sendo os perfis de dissolução considerados semelhantes quando calculados os fatores diferença (F1) e semelhança (F2). Quando alterado o meio de dissolução para tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8, foi possível evidenciar diferença entre as formulações, tendo aquelas que utilizaram ETA-MOÍDA maior semelhança frente ao Trecator[®]. Portanto, pôde-se concluir que para obtenção de formulações futuramente elegíveis a um estudo de bioequivalência, é necessário tamanho de partícula específico para a ETA, sugerindo-se $d_{90} \sim 113,26 \mu\text{m}$ e $d_{50} \sim 32,32 \mu\text{m}$, sendo obtidas duas formulações candidatas a continuidade do desenvolvimento, não finalizado neste trabalho, uma fabricada por compressão direta e outra fabricada por granulação úmida.

Palavras-chave: Etionamida. Perfil de dissolução. Tamanho de partícula. Desenvolvimento de formulação. Comprimidos.

ABSTRACT

Formulation development of Ethionamide 250 mg film-coated tablets.

The Ethionamide (ETA) is a drug used to treatment of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis, together with other antituberculosis drugs in cases of failure of treatment, resistance or intolerance to other drugs, and abandonment of treatment. ETA is described as practically insoluble in water and has rapid oral absorption, which suggests that it a drug class II in the biopharmaceutical classification system (BCS), low solubility and high permeability. For these drugs, it is important to know the physical factors that influence in dissolution from the final product, and investigate conditions for the dissolution profiles that could discriminate them, alone or in formulations, with the goal of obtaining one product eligible for the bioequivalence study, compared to the reference product. Solubility studies were performed in 0.1 N HCl, acetate buffer pH 4.5 and phosphate buffer pH 6.8, with a sample of ETA obtained on the market. These studies have shown that the ETA has a high solubility in 0.1 N HCl and low solubility in acetate buffer pH 4.5 and phosphate buffer pH 6.8, considering the criteria of solubility of BCS, suggesting that these last mediums will be more discriminative for studies of the dissolution profile. The particle size of the ETA was reduced using the process of milling (ETA-MILLED) and micronization (ETA-MICRO). Samples of ETA, ETA-MILLED, and ETA-MICRO were evaluated for their dissolution characteristics (wetting, dispersing dissolution and intrinsic dissolution), physical properties (particle size distribution, microscopy, flow, DSC, TGA, XRPD, FTIR and FTNIR) and physicochemical characteristics (assay, pH, moisture and related substances), besides being used in formulations of cores coated tablets produced by direct compression and wet granulation. The processes of milling and micronization resulted in changes in particle size distribution, crystal morphology, flowability and dissolution of ETA, but did not result in physicochemical and internal crystalline arrangement (polymorphism) changes. The formulations manufactured by wet granulation showed better flow characteristics, when comparing the values of the compressibility index, Hausner ratio and flow through holes. However the formulations manufactured by direct compression did not show weight variation during the compression process to indicate inappropriate flowability, except that they used ETA-MICRO. The dissolution profiles front reference product (Trecator[®]) were evaluated and shown that the condition described in official compendium, 0.1 N HCl, was not enough to discriminate against them, and the dissolution profiles were similar when calculated factors difference (F1) and similarity (F2), for all formulations. When the dissolution medium was changed (acetate buffer pH 4.5 or phosphate buffer pH 6.8) was possible to identify differences between formulations and those used ETA-MILLED resulted in a greater similarity to the front Trecator[®]. Therefore, we concluded that to obtain future formulations eligible to a bioequivalence study would require specific particle size for the ETA ($d_{90} \sim d_{50} \sim 113.26 \mu\text{m}$ and $32.32 \mu\text{m}$), and were obtained two formulations candidates to continue the development, one manufactured by direct compression and other manufactured by wet granulation.

Keywords: Ethionamide. Dissolution profile. Particle size. Formulation development. Tablets.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da ETA (FB 5ed, 2012).....	19
Figura 2 – Espectros de absorção no ultravioleta (A) e no infravermelho (B) da ETA.....	19
Figura 3 - Registro de produtores de ETA no Brasil.....	23
Figura 4 - Desenho esquemático do aparato para dissolução intrínseca de disco estacionário.....	47
Figura 5 – Fotografia dos comprimidos revestidos de Farmanguinhos Etionamida 250mg e do Trecator®	50
Figura 6 - Fluxograma do processo de fabricação dos experimentos F01, F02, F03, F04 e F09.....	53
Figura 7 - Fluxograma do processo de fabricação dos experimentos F05, F06, F07, F08 e F10.....	54
Figura 8 - Distribuição granulométrica da Etionamida antes do processo de redução de tamanho de partículas (ETA) sem adição de SiO ₂	65
Figura 9 - Distribuição granulométrica da Etionamida antes do processo de redução de tamanho de partículas (ETA) com adição de SiO ₂	66
Figura 10 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de moagem (ETA-Moída) sem adição de SiO ₂	67
Figura 11 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de moagem (ETA-Moída) com adição de SiO ₂	68
Figura 12 – Peneira com abertura de malha de 75 µm. Ensaio de distribuição granulométrica da ETA-Moída sem adição de SiO ₂	68
Figura 13 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de micronização (ETA-MICRO) sem adição de SiO ₂	70
Figura 14 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de micronização (ETA-MICRO) com adição de SiO ₂	70
Figura 15 – Peneira com abertura de malha de 125 µm (A) e 75 µm (B). Ensaio de distribuição granulométrica da ETA-MICRO sem adição de SiO ₂	71
Figura 16 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA.....	74
Figura 17 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA-MOÍDA.....	74

Figura 18 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA-MICRO.....	75
Figura 19 - Microfotografias obtidas por MEV de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (100x, 250x, 500x e 1000x).....	77
Figura 20 - Microfotografias obtidas por MO de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (50x e 100x). A escala mencionada nas imagens de 50x, 100x e 200x é de 100 μm , e nas imagens de 500x é de 50 μm	78
Figura 21 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 40 K.min ⁻¹ , 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min ⁻¹	80
Figura 22 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 2,5 K.min ⁻¹ , 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min ⁻¹	81
Figura 23 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 10 K.min ⁻¹ , 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min ⁻¹	81
Figura 24 – Curvas de TGA das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 10 K.min ⁻¹ , 25 °C a 1000°C, Nitrogênio a 50 mL.min ⁻¹	82
Figura 25 – Padrões de difração das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	83
Figura 26 – Espectro de infravermelho médio (FT-IR) das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	84
Figura 27 – Espectro de infravermelho próximo (FT-NIR) das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO frente a padrão primário USP.....	84
Figura 28 - Microfotografias obtidas no ensaio de ângulo de contato para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (água, tampão fosfato pH6,8, tampão acetato pH 4,5 e HCl pH 1,2).....	86
Figura 29 - Resultados de concentração de saturação à temperatura ambiente em 3, 6, 24 e 48 horas.....	89
Figura 30 - Dissolução por dispersão realizada em HCl 0,1N pH 1,2. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.....	92
Figura 31 - Dissolução por dispersão realizada em Tampão Acetato pH 4,5. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.....	93
Figura 32 - Dissolução por dispersão realizada em Tampão Fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.....	93
Figura 33 - Dissolução intrínseca realizada em HCl 0,1N pH 1,2.....	96
Figura 34 - Dissolução intrínseca realizada em tampão acetato pH 4,5.....	97
Figura 35 - Dissolução intrínseca realizada em tampão fosfato pH 6,8.....	97

Figura 36 – Placa cromatográfica das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, revelada sob luz UV de 254 nm. Concentrações das soluções: S1 = 20 mg/mL; S2 = 0,1 mg/mL; S3 = 0,04 mg/mL.....	99
Figura 37 - Placa cromatográfica das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, revelada sob luz UV de 254 nm. Concentrações das soluções: S1 = 40 mg/mL; S2 = 0,2 mg/mL; S3 = 0,08 mg/mL.....	99
Figura 38 – Representação gráfica da distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de compressão direta (Barra = porcentagem retida; Linha = porcentagem retida acumulada).....	110
Figura 39 - Representação gráfica da distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de granulação úmida (Barra = porcentagem retida; Linha = porcentagem retida acumulada).....	111
Figura 40 - Força de compressão (KN) registrada pela compressora durante o processo de compressão das formulações.....	113
Figura 41 - Força de ejeção (N) registrada pela compressora durante o processo de compressão das formulações.....	113
Figura 42 – Desintegração em HCl 0,1N e água a 37 °C dos comprimidos das formulações.....	117
Figura 43 – Perfil de dissolução em HCl 0,1 N pH 1,2.....	119
Figura 44 – Perfil de dissolução em Tampão Acetato pH 4,5.....	122
Figura 45 – Perfil de dissolução em Tampão Fosfato pH 6,8.....	126

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 –	Densidade aparente.....	37
Equação 2 –	Densidade compactada.....	37
Equação 3 –	Índice de compressibilidade.....	38
Equação 4 –	Razão de Hausner.....	39
Equação 5 –	Concentração de saturação para as amostras submetidas ao meio ácido clorídrico 0,1M.....	45
Equação 6 –	Concentração de saturação para as amostras submetidas aos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Especificações resumidas para ETA matéria-prima descrita nos compêndios oficiais.	21
Tabela 2 - Parâmetros farmacocinéticos de ETA 250 mg comprimidos revestidos com filme em humanos adultos saudáveis (ETHIONAMIDE, 2008; TRECATOR, 2013).....	22
Tabela 3 - Especificações resumidas para ETA comprimidos descritas nos compêndios oficiais	24
Tabela 4 – Classificação de solubilidade segundo os compêndios oficiais.....	27
Tabela 5 - Escala de fluidez de acordo com o ângulo de repouso.....	38
Tabela 6 - Escala de fluidez de acordo com o índice de compressibilidade e razão de Hausner	39
Tabela 7 - Composição qualitativa das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos fabricados pelo processo de compressão direta.	51
Tabela 8 - Composição qualitativa das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos fabricados pelo processo de granulação úmida.	52
Tabela 9 - Condições que serão utilizadas para determinação do perfil de dissolução dos comprimidos nas formulações testadas	57
Tabela 10 - Resultados de densidade aparente e densidade batida obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	62
Tabela 11 - Índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (RH) e classificação do fluxo, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.	63
Tabela 12 - Resultados de distribuição granulométrica antes do processo de redução de tamanho de partículas.	65
Tabela 13 - Resultados de distribuição granulométrica, da Etionamida, após o processo de moagem (ETA-MOÍDA).	67
Tabela 14 - Resultados de distribuição granulométrica, da Etionamida, após o processo de micronização (ETA-MICRO).....	69
Tabela 15 - Distribuição granulométrica por difração de LASER, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	73
Tabela 16 - Parâmetros obtidos a partir das curvas de DSC na taxa de aquecimento de 10 K.min ⁻¹ , para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	80
Tabela 17 - Ângulos de contato (°) obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	85
Tabela 18 - Curvas analíticas obtidas para ETA	87

Tabela 19 - Resultados dos ensaios de solubilidade realizados em temperatura ambiente com a ETA.....	89
Tabela 20 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em HCl 0,1 N pH 1,2. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.	91
Tabela 21 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em tampão acetato pH 4,5. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.	91
Tabela 22 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em tampão fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.	92
Tabela 23 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em HCl 0,1 N pH 1,2. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm ² de área exposta.	95
Tabela 24 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em tampão acetato pH 4,5. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm ² de área exposta.....	95
Tabela 25 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em tampão fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm ² de área exposta.....	96
Tabela 26 - Resultados da determinação do pH, água e perda por dessecação, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.....	98
Tabela 27 – Resultados de teor das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO	100
Tabela 28 - Resultados de densidade aparente e densidade batida obtidos em 10g de cada formulação testada.	102
Tabela 29 - Índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (RH) e classificação de fluxo, calculados a partir dos resultados de densidade das formulações testadas.....	103
Tabela 30 - Ângulo de repouso e classificação de fluxo determinadas a partir do mesmo para as formulações testadas.....	104
Tabela 31 - Tempo de escoamento (segundos/100g) obtido para o orifício de 10 mm de diâmetro.	105
Tabela 32 – Comparação dos resultados de classificação de fluxo pelos métodos de índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (HR), ângulo de repouso e fluxo por orifícios.	106
Tabela 33 - Distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de compressão direta.....	109

Tabela 34 - Distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de granulação úmida.	109
Tabela 35 - Avaliação da variação de peso dos comprimidos obtidos durante o processo de compressão (n = 60).	114
Tabela 36 - Avaliação da dureza (n = 30), espessura (n = 30) e friabilidade (n = 20) dos comprimidos obtidos durante o processo de compressão.	116
Tabela 37 - Resultados do perfil de dissolução em HCl 0,1 N pH 1,2 das formulações F01, F02, F03, F05, F06, F08 e do medicamento de referência Trecator [®]	118
Tabela 38 - Resultados do perfil de dissolução em tampão acetato pH 4,5 das formulações F01, F02, F06, F08 e do medicamento de referência Trecator [®]	122
Tabela 39 - Resultados do perfil de dissolução em tampão fosfato pH 6,8 das formulações F01, F02, F06, F08, F10 e do medicamento de referência Trecator [®]	125

LISTA DE ABREVIATURAS

ADME	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
C _{max}	Concentração máxima sanguínea
DRXP	Difração de raios X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
ETA	Etionamida
ETA-MOÍDA	Etionamida moída
ETA-MICRO	Etionamida micronizada
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
HSM	Termomicroscopia ou microscopia de placa aquecida
INH	Isoniazida
IVIV	<i>in vitro-in vivo</i>
KN	Quilo Newton
MDR	<i>Multi drug resistance</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
RDC	Resolução da diretoria colegiada da ANVISA
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutica
TB	Tuberculose
T _g	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise termogravimétrica
T _{max}	Tempo no qual ocorre a concentração plasmática máxima
TOD	Tratamento diretamente observado
USP	<i>United States Pharmacopea</i>
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	Tuberculose	18
2.2	Etionamida (ETA)	19
2.2.1	<u>Características Farmacológicas da ETA</u>	21
2.2.2	<u>Comprimidos de ETA250 mg</u>	22
2.3	Desenvolvimento de Formulações	25
2.4	Esrudo de Pré-Formulação	26
2.4.1	<u>Solubilidade e Permeabilidade</u>	27
2.4.2	<u>Cristalinidade e Polimorfismo</u>	29
2.4.3	<u>Tamanho de Partícula</u>	29
2.4.4	<u>Dissolução</u>	31
2.5	Formas Farmacêuticas Sólidas – Comprimidos	31
3	OBJETIVOS	33
3.1	Objetivo geral	33
3.2	Objetivos específicos	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	Material	34
4.1.1	<u>Equipamentos</u>	34
4.1.2	<u>Insumos</u>	35
4.2	Métodos	36
4.2.1	<u>Redução do tamanho de partícula da ETA matéria-prima</u>	36
4.2.2	<u>Caracterização da ETA matéria-prima</u>	36
4.2.3	<u>Preparo das formulações de ETA250 mg comprimidos revestidos</u>	49
4.2.4	<u>Avaliação das formulações de ETA250 mg comprimidos revestidos</u> ...	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1.1	<u>Redução do tamanho de partícula da ETA matéria-prima</u>	59
5.1.2	<u>Caracterização da ETA matéria-prima</u>	60
5.1.3	<u>Avaliação das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos</u> ...	100
6	CONCLUSÃO	129
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose continua a merecer especial atenção dos profissionais de saúde e da sociedade como um todo. Ainda obedece a todos os critérios de priorização de um agravo em saúde pública, ou seja, grande magnitude, transcendência e vulnerabilidade (BRASIL, 2011).

Apesar de já existirem recursos tecnológicos capazes de promover seu controle, ainda não há perspectiva de se atingir, em futuro próximo, sua eliminação como problema de saúde pública, a não ser que novos medicamentos ou vacinas sejam desenvolvidos (BRASIL, 2011).

Por recomendação do Ministério da Saúde, a Etionamida (ETA) é usada para o tratamento da tuberculose pulmonar e extrapulmonar, junto com outros tuberculostáticos, nos casos de falência de tratamentos anteriores, por resistência ou intolerância à rifampicina e/ou izoniazida, ou abandono de tratamento (MEMENTO, 2006).

Farmanguinhos, o Instituto em Tecnologia em Fármacos da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), é um dos únicos laboratórios farmacêuticos públicos do Brasil produtores do medicamento ETA 250 mg comprimidos revestidos com registro ativo na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

No ano de 2012, a ANVISA revisou os critérios para que medicamentos registrados e comercializados no Brasil fossem considerados e incluídos em sua lista de medicamentos de referência. Estes são utilizados como comparadores para estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência quando um novo medicamento (genérico ou similar) deve obter registro nesta agência. A partir desta revisão, a ETA 250 mg comprimidos revestidos de Farmanguinhos deixou de ser considerado medicamento de referência, por não ter comprovada equivalência farmacêutica e bioequivalência frente ao medicamento inovador da empresa Wyeth de nome comercial Trecator[®]. Cabe ressaltar que este medicamento inovador não tem registro e não é comercializado no Brasil e, por isso, o produto de Farmanguinhos era, antes da revisão da legislação, considerado medicamento de referência, sendo utilizado até os dias atuais para suprir a demanda de ETA 250 mg comprimidos revestidos do programa de tuberculose do Ministério da Saúde do Brasil.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) possui um programa de qualificação de produtores de medicamentos para atender aos programas de combate a diversas enfermidades no mundo, entre elas a tuberculose. Entidades não governamentais, como o Global Drug Facility (GDF), utilizam a lista de produtores qualificados na OMS para adquirir medicamentos para doenças consideradas negligenciadas e distribuí-los a países subdesenvolvidos.

Farmanguinhos, que tem como visão ser reconhecido até 2022, por organismos nacionais e internacionais, como centro estratégico na produção pública de medicamentos, pesquisa e desenvolvimento tecnológico, tem como foco a qualificação de sua fábrica de medicamentos e alguns de seus produtos na OMS, estando a ETA 250 mg comprimidos revestidos na lista de interesse desta qualificação. Para isso, além de uma adequação às normas da OMS quanto à planta produtiva será necessária a realização de estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência frente ao medicamento Trecator[®], considerado referência pela OMS.

Uma avaliação do perfil de dissolução da ETA 250 mg comprimidos revestidos de Farmanguinhos, frente ao medicamento de referência Trecator[®], foi realizada pelo laboratório de controle de qualidade de Farmanguinhos nas condições de dissolução descritas na Farmacopéia Brasileira 5^a. Edição para este medicamento. Os resultados demonstraram que embora o medicamento de Farmanguinhos atendesse ao critério de dissolução de mais de 85% dissolvidos em 45 minutos, os perfis de dissolução entre os dois medicamentos não eram semelhantes, tendo o medicamento Trecator[®] mais de 85% dissolvido já em 5 minutos de ensaio e o medicamento de Farmanguinhos atingindo valor acima de 85% somente em 30 minutos. Com isso, mesmo sendo considerado aprovado frente aos critérios farmacopeicos, podendo ser comercializado, o medicamento de Farmanguinhos não atenderia aos critérios para ser considerado equivalente farmacêutico ao medicamento Trecator[®], inviabilizando a realização de um estudo de Bioequivalência.

Portanto, tendo em vista a intenção de Farmanguinhos de que seu produto ETA 250 mg comprimidos revestidos volte a ser o medicamento de referência da ANVISA e seja qualificado pela OMS, além de uma necessidade de modernização de seu processo produtivo, faz-se necessário um estudo para redesenvolvimento de sua formulação e processo para posterior submissão aos estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência.

Ressalta-se que este projeto tem por fim o desenvolvimento de um produto, mas a dissertação de mestrado ora realizada restringir-se-á à execução das etapas prévias à fabricação dos lotes pilotos para registro, ou seja, aos estudos de pré-formulação e formulação em escala de bancada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tuberculose

A Tuberculose (TB), apesar de já relatada na literatura médica há séculos, continua sendo mundialmente um importante problema de saúde, exigindo o desenvolvimento de estratégias para o seu controle, considerando aspectos humanitários, econômicos e de saúde pública (BRASIL, 2011).

A relevância da magnitude da TB pode ser evidenciada pelas estimativas da OMS para o ano de 2007 (BRASIL, 2011; WHO, 2009):

- Casos novos no mundo: 9,27 milhões. A maioria desses casos estaria nas regiões da Ásia (55%) e da África (31%), enquanto as regiões do Mediterrâneo Oriental (6%), Europa (5%) e Américas (3%) teriam os menores percentuais. Apesar do aumento no número de casos, a taxa de incidência global vem diminuindo lentamente (menos de 1% ao ano), sendo estimada uma taxa de 139 casos por 100 mil habitantes. Houve declínio em cinco das seis regiões da OMS e somente a Europa manteve a taxa estável.
- Casos novos HIV positivos: 1,37 milhão, 15% do total de casos estimados, dos quais 79% estariam na África.
- Óbitos em casos novos HIV negativos: 1,3 milhão, sendo 456 mil nos HIV positivos.
- TB multirresistente (TB-MDR): 500 mil casos.

O Brasil é um dos 22 países que concentram 80% da carga mundial de TB, os quais são priorizados pela OMS. Em 2009, foram notificados 72 mil casos novos, correspondendo a um coeficiente de incidência de 38/100.000 habitantes. Destes, 41 mil foram bacilíferos (casos com baciloscopia de escarro positiva). Esses indicadores colocam o Brasil na 19ª posição em relação ao número de casos e na 104ª posição em relação ao coeficiente de incidência (WHO, 2009).

É importante destacar que anualmente ainda morrem 4,5 mil pessoas por tuberculose, doença curável e evitável. Em sua maioria, os óbitos ocorrem nas regiões metropolitanas e em unidades hospitalares. Em 2008, a TB foi a quarta causa de morte por doenças infecciosas e a primeira causa de morte dos pacientes com AIDS relatados no Sistema de Informação Sobre Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2011).

O Ministério da Saúde (MS) do Brasil define a tuberculose como prioridade entre as políticas governamentais de saúde, estabelecendo diretrizes para as ações e fixando metas para o alcance de seus objetivos. As ações para o controle da tuberculose no Brasil têm como meta diagnosticar pelo menos 90% dos casos esperados e curar pelo menos 85% dos casos diagnosticados. A expansão das ações de controle para 100% dos municípios complementa o conjunto de metas a serem alcançadas (BRASIL, 2002).

A associação medicamentosa adequada, as doses corretas e o uso por tempo suficiente são os princípios básicos para o tratamento da tuberculose, evitando a persistência bacteriana e o desenvolvimento de resistência aos fármacos e, assim, assegurando a cura do paciente. A esses princípios soma-se o TOD (Tratamento Diretamente Observado) que é um conjunto de boas práticas para o controle da TB estabelecidas pela OMS, como estratégia fundamental para o sucesso do tratamento.

Por recomendação do Ministério da Saúde, a ETA é usada para o tratamento da tuberculose pulmonar e extrapulmonar, junto com outros tuberculostáticos, nos casos de falência de tratamentos anteriores, por resistência ou intolerância à rifampicina e/ou isoniazida, ou abandono de tratamento (MEMENTO, 2006).

2.2 Etionamida (ETA)

A ETA corresponde quimicamente a *2-etil-4-piridinacarbotioamida* (Figura 1), de fórmula molecular $C_8H_{10}N_2S$ e massa molar de 166,24 g/mol. Apresenta-se com aspecto de pó cristalino amarelo ou pequenos cristais amarelados com odor de sulfeto de leve a moderado. Escurece quando exposta à luz, devendo ser armazenada em recipientes fechados e protegidos da luz (FB5ed., 2012; USP36/NF31, 2013; PH. INT., 2011).

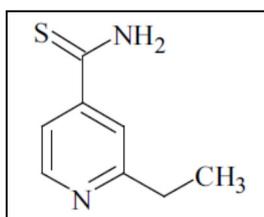


Figura 1 - Estrutura química da ETA (FB 5ed, 2012)

A ETA é praticamente insolúvel em água, solúvel em metanol, ligeiramente solúvel em etanol (1:30) e acetona (1:45), pouco solúvel em propilenoglicol, clorofórmio (1:350) e éter etílico (1:600) (FB5ed., 2012; USP36/NF31, 2013; PH. INT., 2011; MOFFAT, 1986). Apresenta picos de absorção no ultravioleta nos comprimentos de onda de 230 nm e 275 nm, em solução ácida, e 277 nm em soluções alcalinas (Figura 2-A). No espectro de infravermelho as bandas principais podem ser identificadas nos números de onda de 808, 865, 880, 1140, 1275 e 1588 (Figura 2-B) (MOFFAT, 1986). Não existem relatos na literatura de polimorfismo.

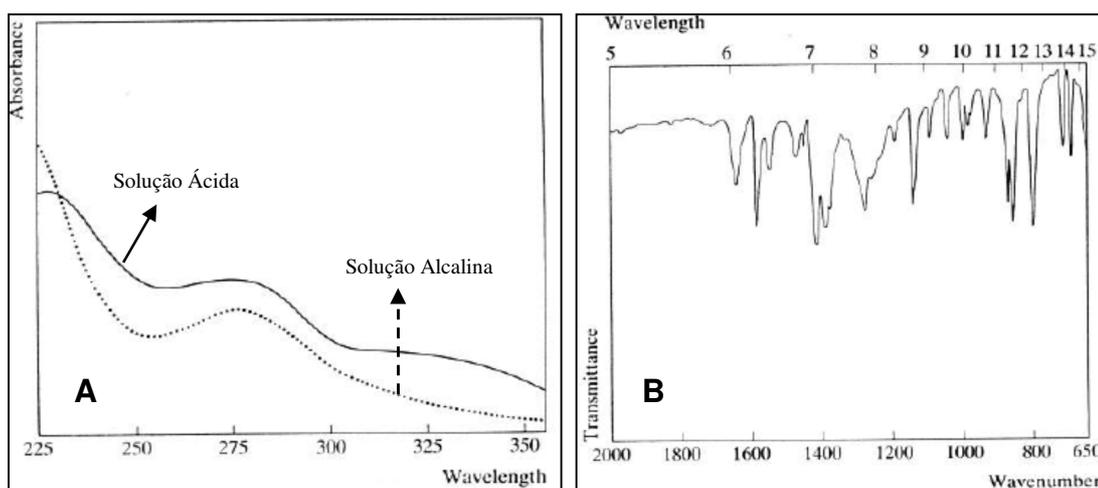


Figura 2 – Espectros de absorção no ultravioleta (A) e no infravermelho (B) da ETA (MOFFAT, 1986)

Entre os compêndios aceitos pela ANVISA, a ETA está descrita nas farmacopéias brasileira, americana, britânica, europeia e internacional, com ensaios e especificações para matéria-prima conforme apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Especificações resumidas para ETA matéria-prima descrita nos compêndios oficiais.

ENSAIO	MÉTODO	ESPECIFICAÇÃO
Identificação ^{1, 2, 3 e 4}	Espectro de absorção no Infravermelho	Cumprir o teste
	Espectro de absorção no Ultravioleta Precipitação com nitrato de prata	
	Ponto de Fusão (158 °C e 164 °C)	
pH ^{1, 2, 3 e 4}	Suspensão aquosa: 1% (m/v)	Entre 6,0 e 7,0
Água ²	Karl-Fischer	Menor ou igual a 2,0%
Perda por secagem ^{1, 3 e 4}	1g de amostra em estufa a 105°C por 3 horas	Menor ou igual a 0,5%
Cinzas sulfatadas ^{1, 2, 3 e 4}	Conforme método geral	Menor ou igual a 0,2%
Metais Pesados ^{3 e 4}	Conforme método geral	Não mais que 20ug/g
Selênio ²	Conforme método geral	Não mais que 0,003%
Substâncias relacionadas ^{1, 3 e 4}	Cromatografia em camada delgada	Cumprir o teste
Teor ^{1 e 2}	Absorção no Ultravioleta	98,0% a 102,0%
Teor	Titulação potenciométrica em meio não aquoso	98,0% a 102,0% ¹
		98,0% a 101,0% ³
		98,5% a 101,0% ⁴

1 – Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição (FB5ed, 2012); 2 – Farmacopéia Americana 35 (USP36/NF31, 2013); 3 – Farmacopéia Internacional 4ª. Edição (PH. INT., 2011); 4 – Farmacopéia Europeia 7ª. Edição (PH. EUR. 2012),

2.2.1 Características Farmacológicas da ETA

A ETA é um análogo químico da isoniazida (INH), menos potente e não provoca resistência cruzada com esta, sendo administrada na forma de comprimidos revestidos contendo 250 mg. É bacteriostática para o *M. tuberculosis*, incluindo as cepas resistentes à isoniazida e estreptomicina. Age sobre os bacilos intra e extracelulares. É também ativa contra o *M. leprae*.

A resistência bacteriana desenvolve-se rapidamente quando a ETA é usada isoladamente contra o bacilo tuberculoso (FARMANGUINHOS ETIONAMIDA, 2013).

Assim como a isoniazida, a ETA inibe a síntese do ácido micólico e a síntese de outros ácidos graxos de cadeia longa. Também inibe a síntese peptídica na micobactéria, bloqueando a incorporação de radical sulfúrico de aminoácidos (cisteína e metionina) a cadeia peptídica em crescimento (FARMANGUINHOS ETIONAMIDA, 2013).

A ETA é rapidamente absorvida por via oral, com biodisponibilidade de 80%, sendo largamente distribuída no corpo, com pico sanguíneo sendo atingido em cerca de 3 horas. A ligação com proteínas é de apenas 10%. Tem meia-vida relativamente curta e é excretada na urina, a maior parte como metabólitos inativos e pequena parte inalterada. Atravessa a barreira placentária demonstrando efeito teratogênico em ratos e coelhos (FARMANGUINHOS ETIONAMIDA, 2013; ETHIONAMIDE, 2008; TRECATOR, 2013).

Os parâmetros farmacocinéticos médios em humanos adultos saudáveis, a partir da administração de comprimidos contendo 250 mg de ETA podem ser visualizados na Tabela 2, sendo relatado na bula do medicamento de referência Trecator[®] um aumento significativo da concentração máxima sanguínea (C_{max}) após alteração da formulação de comprimidos com revestimento açucarado ($C_{max} = 1,48 \mu\text{g/mL}$) para comprimidos revestidos com filme ($C_{max} = 2,16 \mu\text{g/mL}$) (ETHIONAMIDE, 2008; TRECATOR, 2013).

Tabela 2 - Parâmetros farmacocinéticos de ETA 250 mg comprimidos revestidos com filme em humanos adultos saudáveis (ETHIONAMIDE, 2008; TRECATOR, 2013).

C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (h)	Meia-vida (h)	ASC ($\mu\text{g.h/mL}$)
2,16 (0,61)	1,02 (0,55)	1,92	7,67 (1,69)

2.2.2 Comprimidos de ETA 250 mg

A ETA está disponível no mercado mundial na forma farmacêutica de comprimidos revestidos na concentração de 250 mg. No Brasil estão registradas 09 empresas produtoras, sendo 06 (seis) públicas e 03 (três) privadas, estando apenas 03 empresas com registro deferido com data de vencimento vigentes (Figura 3).

Número de Produtos nesta página : 9					
NOME COMERCIAL	REGISTRO	PROCESSO	NOME DA EMPRESA - CNPJ	SITUAÇÃO	VENCIMENTO
ETIONAMIDA	120190017	250000132549238	GREENPHARMA QUÍMICA E FARMACÊUTICA LTDA - 33.408.105/0001-33	Publicado Deferimento	04/2004
ETIONAX	102980252	2599100783277	CRISTÁLIA PRODUTOS QUÍMICOS FARMACÊUTICOS LTDA. - 44.734.671/0001-51	Publicado Deferimento	10/2004
FARMANGUINHOS - ETIONAMIDA	110630078	253510045670179	FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - 33.781.055/0001-35	Publicado Deferimento	04/2016
IQUEGO-ETIONAMIDA	108840002	250000097329214	INDÚSTRIA QUÍMICA DO ESTADO DE GOIÁS S/A - IQUEGO - 01.541.283/0001-41	Publicado Deferimento	08/2018
TUBERONA	104650110	250000132829354	LABORATÓRIO NEO QUÍMICA COMÉRCIO E INDÚSTRIA LTDA - 29.785.870/0001-03	Publicado Deferimento	12/2004
LFM-ETIONAMIDA	126250066	250000386809851	LABORATÓRIO FARMACÊUTICO DA MARINHA - 00.394.502/0071-57	Publicado Deferimento	03/2009
LOFEX-ETIONAMIDA	112080020	250000357079808	LABORATÓRIO QUÍMICO FARMACÊUTICO DO EXÉRCITO - 00.394.452/0001-03	Publicado Deferimento	12/2018
NUPLAM - ETIONAMIDA	112060021	250000301819989	UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE - 24.365.710/0001-83	Publicado Deferimento	05/2005
LAOFA-ETIONAMIDA	112330040	250000342249851	LABORATÓRIO QUÍMICO E FARMACÊUTICO DA AERONÁUTICA - 00.394.429/0099-14	Publicado Deferimento	12/2008
					<input type="button" value="VOLTAR"/>

Figura 3 - Registro de produtores de ETA no Brasil. Fonte: http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto/rconsulta_produto_internet.asp (Consultado em 13/04/2014)

Atualmente, a lista de medicamentos referência publicada e revisada periodicamente pela ANVISA não apresenta nenhum produto contendo ETA para ser considerado como medicamento de referência em estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência. Segundo a RDC 35/2012 da ANVISA, a indicação de medicamento para ocupar esta posição é preferencialmente por aquela empresa que primeiro introduziu o produto no mercado, conhecido como medicamento inovador, podendo ser outro produtor somente quando da ausência de produção do medicamento inovador, porém devendo ser autorizado previamente pela ANVISA seguindo critérios definidos na legislação vigente (BRASIL, 2012).

Farmanguinhos, até a publicação da RDC 35/2012 da ANVISA, era considerado produtor referência no Brasil para ETA 250 mg comprimidos revestidos, porém após extensa revisão dos procedimentos para indicação de medicamento de referência pela ANVISA, este foi desconsiderado por não ser o produtor que introduziu o produto no mercado e pela ausência até a presente data de estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência contra o medicamento inovador (Trecator[®]), não comercializado no Brasil. Embora sua renovação de registro seja apenas em 2016 (Figura 3), o que permitiria prorrogar estudos para comprovação da eficácia e segurança de seu produto, Farmanguinhos tem a intenção de se pré-qualificar na Organização Mundial de Saúde (OMS) e, portanto, necessitaria adiantar tais estudos frente ao medicamento de referência desta entidade.

A OMS também publica uma lista de medicamentos para serem considerados como referência nos estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência para pré-qualificação

neste órgão, sendo indicado no caso da ETA o produto Trecator[®] (WHO, 2012). Além desta lista, a OMS também publica periodicamente uma outra com produtos pré-qualificados, utilizada pelas organizações não governamentais (ONGs) para seleção e compra de produtos para tratamento de tuberculose em países subdesenvolvidos. Nesta última lista, encontram-se 04 produtores de comprimidos de ETA 250 mg (Macleods Pharmaceuticals Ltd, Cipla Ltd, Micro Labs Limited e Lupin Ltd), todos com origem na Índia (WHO, 2013).

Especificações para ETA comprimidos estão descritas apenas nas farmacopéias brasileira e americana conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Especificações resumidas para ETA comprimidos descritas nos compêndios oficiais

ENSAIO	MÉTODO	ESPECIFICAÇÃO
Identificação	Espectro de absorção no Infravermelho ¹ Espectro de absorção no Ultravioleta ^{1 e 2} Ponto de fusão ^{1 e 2}	Cumpra o teste
Uniformidade de Conteúdo ^{1 e 2}	Conforme método geral	Cumpra o teste
Determinação de Peso ¹	Conforme método geral	Cumpra o teste
Desintegração ¹	Conforme método geral	No máximo 30 minutos em ácido clorídrico 0,1M
Dissolução ^{1 e 2}	Meio: 900 mL de HCl 0,1 M Aparato: Cesta Rotação: 100 RPM Tempo: 45 minutos	Q = 75%
Teor ^{1 e 2}	Absorção no Ultravioleta	95,0% a 110,0%

1 – Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição (Farm. Bras. 5ª. ed.); 2 – Farmacopéia Americana (USP36/NF31, 2013).

Patente requerida pela empresa Wyeth apresenta formulação de comprimidos revestidos de ETA 250 mg contendo dióxido de silício coloidal, povidona K29/32 USP, celulose microcristalina silificada, croscarmelose sódica e estearato de magnésio, obtendo comprimidos de 600 mg pelo método de fabricação de mistura para compressão direta. Para o revestimento

a patente indica a utilização de Opadry II Orange na quantidade de 24 mg por comprimido, realizando revestimento com solvente aquoso e obtendo com isso comprimidos revestidos de ETA 250 mg com peso de 624 mg (WYETH, 2006). Avaliando a bula do medicamento Trecator[®] encontra-se indicado, adicionalmente aos excipientes utilizados na patente, os insumos corante FD&C yellow n° 6, álcool polivinílico, polietilenoglicol, talco e dióxido de titânio (TRECATOR, 2013). Estes insumos provavelmente fazem parte da constituição qualitativa do Opadry II Orange, descrito na patente porém não apresentado na bula.

A bula do medicamento ETA 250 mg comprimidos revestidos de Farmanguinhos, apresenta formulação com diferenças qualitativas significativas frente ao medicamento de referência Trecator[®], sendo descritos os excipientes: amido de milho, estearato de magnésio, celulose microcristalina 101, polivinilpirrolidona k-30, manitol oral em pó, talco 325 mesh, álcool etílico 96%, álcool isopropílico, acetona, corante amarelo laca FD&C 5, corante vermelho laca FD&C 3, polietilenoglicol 6000, Eudragit E-100 e dióxido de titânio (FARMANGUINHOS ETIONAMIDA, 2013). Estas diferenças podem impactar negativamente na velocidade de liberação da ETA dos comprimidos revestidos, o que ocasionaria uma falta de equivalência farmacêutica e bioequivalência, mesmo o produto de Farmanguinhos atendendo às especificações contidas nos compêndios oficiais. Os excipientes contidos na bula de Farmanguinhos também demonstram a utilização de um processo de fabricação por granulação úmida e revestimento com solventes orgânicos. Portanto, uma reformulação qualitativa e de processo de fabricação seria desejável não só para garantir melhor similaridade ao medicamento de referência, mas também melhorar a produtividade, se utilizado o processo de mistura para compressão direta, e segurança operacional, substituindo os solventes orgânicos por solventes aquosos.

2.3 Desenvolvimento de Formulações

O desenvolvimento de formulações requer a consideração das características físicas, químicas, físico-químicas e biológicas do princípio ativo e todas as matérias-primas usados na elaboração do produto, assim como a anatomia fisiológica do local de administração e absorção. Antes de transformar um fármaco em um medicamento, é importante predeterminar o tipo de produto desejado, na medida do possível, para estabelecer a estrutura para as atividades de desenvolvimento do produto. A seguir, são desenvolvidas várias formulações, as quais são

examinadas quanto às características de qualidade desejadas e quanto aos estudos-piloto de equipamentos e da produção em escala (ANSEL *et al.*, 2000).

Antes de transformar um fármaco em uma forma farmacêutica, é essencial que ele seja química e fisicamente caracterizado. Estudos de pré-formulação fornecem as informações necessárias para definir sua natureza (ANSEL *et al.*, 2000). A compreensão dessas propriedades pode levar à concepção da formulação ou justificar uma modificação molecular. No caso mais simples, as investigações feitas durante a fase de pré-formulação podem confirmar unicamente que não existem impedimentos significativos ao desenvolvimento de um composto (FIESE, 2001).

A via oral para administração de fármacos constitui o método mais divulgado de administração dos mesmos para efeitos sistêmicos. É provável que 90% de todos os fármacos usados em terapia para ação sistêmica sejam administrados por via oral. Quando um novo fármaco é descoberto, uma das primeiras questões que se coloca a uma companhia é saber se o fármaco pode ser administrado por via oral, pois caso não seja possível, sendo a via de administração tópica de administração limitada no que se refere à sua capacidade de absorção de fármacos para ação sistêmica, a via de administração parenteral seria a de escolha, trazendo com isso consequências econômicas desfavoráveis a companhia na comercialização do produto final obtido (BANKER, 2001).

Quando medicamentos destinam-se à administração por via oral em forma seca, as cápsulas e comprimidos são os usados com mais frequência, pois proporcionam facilidade de manipulação, identificação e administração para o paciente, além de ser mais estáveis do ponto de vista farmacêutico (ANSEL *et al.*, 2000; BANKER, 2001). Das formas farmacêuticas sólidas mais divulgadas, cápsulas e comprimidos, os comprimidos apresentam algumas vantagens. Uma das principais vantagens é o fato do comprimido ser uma forma farmacêutica inviolável, já que o conteúdo de cápsulas pode ser alterado depois destas deixarem as instalações do fabricante ou distribuidor (BANKER, 2001).

2.4 Estudos de Pré-formulação

As características físicas e físico-químicas dos fármacos devem ser consideradas durante o planejamento da formulação com o objetivo de se desenvolver uma formulação com biodisponibilidade adequada, para que seja obtida a ação farmacológica desejada, com mínimo

de efeitos indesejados ou tóxicos (ADEYEYE, 2008; GIBSON, 2009; STORPIRTIS *et al.*, 2009).

Entre as características de maior interesse podem ser citadas: solubilidade, permeabilidade, grau de cristalinidade e polimorfismo, higroscopicidade, tamanho de partículas, densidade, propriedades de escoamento, entre outras (AGUIAR, 2009; FIESE, 2001).

2.4.1 Solubilidade e Permeabilidade

Uma propriedade físico-química importante de um fármaco é a solubilidade, especialmente em sistema aquoso. O fármaco deve possuir certa solubilidade aquosa para que tenha eficácia, sendo de suma importância sua solubilização no fluido do trato gastrointestinal, de forma que o mesmo esteja dissolvido no local em que será absorvido para que ocorra a absorção (ANSEL *et al.*, 2000; FLORENCE, 2003).

Solubilidade é definida como a quantidade máxima de soluto que se dissolve em um determinado solvente (STORPIRTIS *et al.*, 2009; FLORENCE, 2003). Os compêndios oficiais classificam as substâncias segundo esta definição conforme tabela 4 a seguir.

Tabela 4 – Classificação de solubilidade segundo os compêndios oficiais

CLASSIFICAÇÃO	QUANTIDADE APROXIMADA DE SOLVENTE PARA DISSOLVER UMA PARTE DO SOLUTO
Muito Solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente Solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Levemente Solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco Solúvel	De 100 a 1.000 partes
Muito Pouco Solúvel	De 1.000 a 10.000 partes
Praticamente Solúvel	Mais de 10.000 partes

Fonte: STORPIRTIS *et al.*, 2009; Farm. Bras. 5ª. ed.; USP36/NF31, 2013.

A RDC n° 37/2011 da ANVISA, que dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, classifica um fármaco como de alta ou baixa solubilidade. Para um fármaco ser considerado de alta solubilidade, sua maior dose administrada oralmente como uma formulação de liberação imediata (dose máxima por administração descrita na bula) deve solubilizar-se completamente em até 250mL de cada uma das soluções tampão dentro da faixa de pH fisiológico (pH 1,2, pH 4,5 e pH 6,8) a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2011). Sendo a ETA descrita nos compêndios oficiais como praticamente insolúvel em água, ou seja, solubilidade menor do que 0,1 mg/mL (TAKAGI *et al.*, 2006) em água, espera-se que 250 mg de ETA (dose máxima por administração descrita na bula) não sejam solúveis em até 250mL de solução tampão pH 6,8, portanto, sugerindo que a mesma seja classificada como de baixa solubilidade segundo o guia.

Além da solubilidade, a absorção de um fármaco depende de sua permeabilidade, ou seja da sua capacidade de atravessar as membranas biológicas (STORPIRTIS *et al.*, 2009). AMIDON *et al.* (1995) propôs um sistema de classificação de fármacos dividindo-os em quatro classes, baseando em sua solubilidade e permeabilidade gastrointestinal. Este sistema foi denominado Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), sendo dividido da seguinte forma:

- Classe I: Fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade;
- Classe II: Fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade;
- Classe III: Fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade;
- Classe IV: Fármacos de baixa solubilidade e baixa permeabilidade.

Quanto à permeabilidade, a biodisponibilidade de um fármaco pode ser utilizada para classificá-la, sendo considerados fármacos de alta permeabilidade aqueles que possuem uma extensão de absorção maior ou igual a 90% da dose administrada, sendo esta não associada com nenhuma instabilidade no trato gastrointestinal (WAGH, 2010). Segundo a bula do medicamento Trecator[®], a ETA é rápida e completamente absorvida a partir da administração oral. Já a bula da ETA 250 mg de Farmanguinhos, embora também relate rápida absorção, declara uma biodisponibilidade de 80%. Diante disso, não seria possível determinar claramente a classificação de permeabilidade no sistema SCB. Porém, Sosnik e colaboradores (2010), em artigo de revisão que discute o potencial de eficácia da nanotecnologia para sistemas de liberação de drogas para tuberculose, indica que a ETA seria classificada como fármaco de classe II no SCB, ou seja, baixa solubilidade e alta permeabilidade.

2.4.2 Cistalinidade e Polimorfismo

A forma do cristal e a estrutura interna de um fármaco podem afetar propriedades físicas e físico-químicas, como solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade, higroscopicidade, bem como impactar no processo produtivo e na biodisponibilidade. Por forma entende-se a descrição da fase exterior do cristal enquanto que a estrutura interna constitui um arranjo molecular dentro do sólido. Exemplo das formas do estado sólido são: sais, solvatos, hidratos, diferentes formas polimórficas, cocristais e forma amorfa (FIESE, 2001; SINGHAL, 2004).

A existência de polimorfos deve ser determinada no início do desenvolvimento da formulação, sendo fundamental o conhecimento de como estes podem ser monitorados, avaliando-se, também, como o desempenho da formulação será afetado. A presença de polimorfos afeta, principalmente, a solubilidade do fármaco no estado de equilíbrio. Um exemplo clássico da importância de polimorfos é o caso do Ritonavir, antirretroviral lançado nos estados unidos em 1996. Dois anos após o lançamento o fármaco começou a precipitar dentro da cápsula. A forma I do polimorfo foi utilizada durante o desenvolvimento da formulação, porém convertia-se na forma II, que era menos solúvel, característica que alterou a biodisponibilidade (STORPIRTIS *et al.*, 2009).

Diversos métodos são utilizados e devem ser considerados para se estudar e caracterizar a forma sólida do fármaco com o qual se pretende desenvolver uma formulação, podendo ser citados: Microscopia óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV); Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA); Espectrometria de Infravermelho e Espectroscopia Raman; Difração de Raios X de pó (DRXP); entre outros (FIESE, 2001; SINGHAL, 2004; STORPIRTIS *et al.*, 2009).

2.4.3 Tamanho de partícula

O escoamento de um material, a homogeneidade de uma formulação, a dissolução e reações químicas são diretamente afetados pelo tamanho, a forma e a morfologia da superfície das partículas do fármaco (FIESE, 2001). A distribuição do tamanho de partícula pode direcionar o processo de fabricação que será utilizado para a obtenção do produto final (QIU *et al.*, 2009).

O tamanho da partícula é extremamente importante no que se refere à área superficial disponível para dissolução. Partículas com menores tamanhos aumentam a área superficial disponível para a dissolução resultando em taxas de dissolução mais rápidas e influenciando na biodisponibilidade da formulação. Portanto, para fármacos da classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica o tamanho de partícula é muito importante tendo em vista que a dissolução do mesmo é fator limitante para a absorção e, portanto, deve ser considerada como uma variável crítica a ser avaliada durante o desenvolvimento do produto (WATERBEEMD, 2009).

Várias técnicas são utilizadas com o propósito de se caracterizar o tamanho e a distribuição das partículas, apresentando, cada uma delas, vantagens e desvantagens. Entre as técnicas utilizadas, podem ser citadas: microscopia óptica, microscopia eletrônica, método de determinação do tamanho de partículas por tamisação e difração de raios LASER. A dificuldade de avaliação do tamanho de partícula varia em função do formato da mesma (QIU *et al.*, 2009).

Entre os processos utilizados para a redução do tamanho de partículas podemos citar a moagem e a micronização, que diferem entre si pelos equipamentos utilizados, princípio da técnica de redução e tamanho final obtido das partículas, discutidos a seguir.

2.4.3.1 Moagem

Com intuito de adequar o tamanho médio ou a dispersão do tamanho das partículas ao processo de produção e à característica final desejada de um fármaco para se atingir os resultados esperados no produto final, o processo de moagem é amplamente utilizado (PARROTT, 2001).

Um equipamento de moagem classifica-se normalmente como grosseiro, intermediário ou fino, de acordo com o tamanho das partículas do produto moído. Como classificação arbitrária para caracterização de produtos destinados a formas farmacêuticas, os moinhos grosseiros produzem partículas maiores do que 20 mesh US (840 μm), a moagem intermediária conduz a partículas entre 200 e 20 mesh US (74 a 840 μm), enquanto que a moagem fina conduz a partículas menores do que 200 mesh US (74 μm). Um moinho pode funcionar devidamente em mais do que uma classe: um moinho de martelos pode ser usado para preparar granulado de 16 mesh US (1190 μm) e para moer um material cristalino a pó de 120 mesh US (125 μm) (PARROTT, 2001).

2.4.3.2 Micronização

Quando se faz necessário tamanho de partículas ainda menores, para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis, ficando estas na faixa entre 1 μm e 20 μm , é comum lançar mão da utilização de moinhos de energia fluida, ou micronizadores. Nestes, o material é suspenso e transportado a alta velocidade numa corrente de ar ou vapor, o qual passa por aspersores a pressões da ordem de 100 a 150 psi. A turbulência violenta do ar, ou do vapor, reduz o tamanho das partículas, sobretudo devido ao atrito entre elas. O ar é normalmente usado, pois, a maioria dos produtos farmacêuticos apresenta um ponto de fusão baixo ou são termolábeis (PARROTT, 2001).

Como a ETA está descrita nos compêndios oficiais como fármaco de baixa solubilidade, este trabalho pretende abordar o impacto nas características físicas e físico-químicas deste fármaco, isolado e em formulações de comprimido, após processo de moagem em moinho de martelos e processo de micronização em moinho de energia fluida por ar.

2.4.4 Dissolução

Dissolução é o processo no qual uma substância sólida entra em solução, ou seja, se dissolve. A velocidade de dissolução é crítica para a absorção de fármacos administrados por meio de medicamentos, pois influencia a velocidade e a extensão da disponibilidade do fármaco *in vivo*, ou seja, sua biodisponibilidade. A determinação da dissolução de fármacos em condições padronizadas fornece informações importantes que são utilizadas para assegurar a qualidade do produto, escolha de excipientes e processo de fabricação durante o desenvolvimento da formulação (STORPIRTIS *et al.*, 2009).

2.5 Formas Farmacêuticas Sólidas – Comprimidos

Comprimidos são preparados principalmente por compressão e um pequeno número é preparado pela processo de moldagem (ANSEL *et al.*, 2000). Como forma farmacêutica, os comprimidos são um dos produtos que mais desafios colocam quando da concepção e produção:

por exemplo, a dificuldade de se conseguir uma biodisponibilidade do fármaco completa e fiável, para fármacos com molhabilidade reduzida e uma dissolução lenta (BANKER, 2001), que é caso da ETA já que é classificada pelos compêndios oficiais como praticamente insolúvel em água.

Algumas vantagens podem ser identificadas e apontadas para a escolha desta forma farmacêutica como: fácil de manusear, menor custo, fácil precisão de dosagem, entre outros (BANKER, 2001; CONWAY, 2008)

Um processo de fabricação típico de um comprimido inclui pesagem, moagem, granulação e secagem, mistura e lubrificação, compressão e revestimento. Cada passo de transformação envolve vários parâmetros do processo. A compressão direta é um processo simples, mais económico e menos estressante para ingredientes dos comprimidos em termos de calor e de humidade, principalmente para o insumo farmacêutico ativo (IFA). Contudo, existem limitações reguladas pelas propriedades físicas dos ingredientes que deve ser cuidadosamente controlada, sendo um desafio desenvolver comprimidos por compressão direta contendo dose elevada de IFA e se este ainda for fracamente compressível. A granulação pode ser empregue para melhorar as características de compactação e fluidez do pó, além de reduzir a tendência para a segregação da mistura, devido a um tamanho mais uniforme das partículas e a densidade do granel. Os grânulos podem ser produzidos pelo métodos úmido (granulação úmida) ou seco (granulação seca) com base na estabilidade da droga e excipientes (BANKER, 2001; CONWAY, 2008).

Além do IFA, as formas de dosagem orais sólidas também irão conter uma variedade de substâncias chamadas excipientes. O papel dos excipientes é essencial para assegurar que o processo de fabricação seja bem sucedido, e que a qualidade da formulação resultante possa ser garantida. A selecção apropriada de excipientes e as suas concentrações é crítica no desenvolvimento de um produto bem sucedido (BANKER, 2001; CONWAY, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar o insumo etionamida e propor uma ou mais formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos, em escala de bancada, elegíveis para futuros ensaios em escala industrial e registro nos órgãos regulatórios pertinentes.

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar por métodos físicos e físico-químicos o insumo farmacêutico ativo ETA.
- Propor formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos e processos de fabricação, por compressão direta e granulação úmida, utilizando o insumo farmacêutico ativo com diferentes características físicas.
- Avaliar as formulações propostas quanto às suas características físicas e físico-químicas, com foco na dissolução.
- Estabelecer uma proposta das melhores especificações físicas para o insumo farmacêutico ativo ETA.
- Indicar entre formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos a serem testadas aquelas que seriam promissoras para continuidade dos trabalhos, que envolveriam fabricação de lotes pilotos e estudos de estabilidade, equivalência farmacêutica e bioequivalência.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- Agitador de peneiras Produtest modelo Granutest
- Agitador mecânico IKA modelo Eurostar Power Control Visc
- Agitador magnético multiposicional IKA modelo RT 15 Power
- Micronizador a jato de ar Zellus, modelo Airjet 50
- Centrífuga Fanen modelo Baby 206
- Compactador de rolo Vector Freund modelo TF-Mini
- Prensa ICL modelo 1 Ton E-Z™
- Analiador de umidade por infravermelho Gehaka modelo IV2000
- Analisador de Dureza, Espessura e Diâmetro Erweka modelo TBH310MD
- Analisador termogravimétrico (TGA) Mettler Toledo modelo 851^e
- Balança Semi-Analítica Mettler Toledo, modelo PB 8001
- Balança Analítica Mettler Toledo modelo AL204
- Balança Semi-Analítica Shimadzu modelo UX4200H
- Bomba Peristáltica Watson Marlow modelo 323 UD
- Calorímetro exploratório diferencial (DSC) Mettler Toledo modelo 822^e
- Compressora rotativa Fette modelo 102i
- Desintegrador de comprimidos e capsulas Erweka modelo ZT-71
- Difrátômetro Bruker D8 Advance
- Dissolutor Distek Evolution 6100
- Equipamento para determinação do ângulo de repouso e fluxo através de orifícios Erweka, modelo GTB
- Espectrômetro de infravermelho próximo Perkin Elmer modelo Spectrum One NTS
- Espectrômetro Shimadzu modelo IR Prestige 21
- Espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1800

- Estufa VWR BRAND modelo 1400E
- Friabilômetro Erweka modelo TAR-200
- Granulador oscilante Erweka modelo AR-400
- Leito fluidizado Glatt modelo GPCG-3
- Medidor de pH Marte modelo MB10
- Medidor de ponto de fusão BUCHI modelo B-545
- Metalizador Detom Vacuum modelo Desck IV
- Microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV
- Microscópio óptico Olympus BX50
- Misturador “V” Lawes modelo 10L
- Misturador/Granulador de alto cisalhamento Diosna modelo P1/6
- Moinho tipo facas/martelos Fitzpatrick modelo FitzMill D6A
- Mufla Fornitec modelo 1646
- Prensa ICL modelo CE 03
- *Tapped Density Tester* Erweka modelo SVM 22
- Titulador automático Metrohm modelo 836

4.1.2 Insumos

- ETA, lote 20110411, fabricante Henan Baijia chemical CO., LTD
- Dióxido de silício coloidal, fabricante Cabot
- Povidona K30, fabricante Jiaozuo Media Fine
- Celulose Microcristalina 102, fabricante Blanver
- Celulose Microcristalina 101, fabricante Blanver
- Lactose *spray-dried*, fabricante DMV Fonterra
- Croscarmelose de sódio, fabricante Blanver
- Estearato de magnésio, fabricante Mallinckodt

4.2 Métodos

4.2.1 Redução do tamanho de partícula da ETA matéria-prima

4.2.1.1 Moagem (ETA-MOÍDA)

Foram pesados 6,0 Kg de ETA em balança Mettler Toledo, modelo PB 8001, e posteriormente submetidos a duas moagens sucessivas em moinho tipo facas/martelos, marca Fitzpatrick, modelo FitzMill D6A, ajustado com martelos à frente, velocidade alta (aproximadamente 4.600 rpm) e chapa de furos redondos com 0,5 mm de diâmetro.

4.2.1.2 Micronização (ETA-MICRO)

Foram pesados, em balança Mettler Toledo modelo PB 8001, 15 frações de 100 g de ETA, totalizando 1,5 Kg, sendo as frações submetidas a micronização em Micronizador da marca Zellus, modelo Airjet 50, ajustado para 5,0 bar de pressão de arraste da amostra e 2,0 bar de pressão de processo de micronização. Todas as frações micronizadas foram transferidas para um único saco plástico e homogeneizadas manualmente por 30 segundos.

4.2.2 Caracterização da ETA matéria-prima

4.2.2.1 Determinação de densidade aparente e compactada

A densidade aparente do lote de matéria-prima de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, e da mistura final das formulações propostas, foi determinada com a introdução de aproximadamente 10 g de cada amostra em uma proveta graduada; o volume ocupado pelo pó foi então registrado e a densidade calculada pela equação 1 a seguir:

$$D = m / V$$

Equação 1

onde:

D= densidade em g/mL

m= massa da amostra (em g)

v= volume ocupado pela amostra (em mL)

Posteriormente as mesmas amostras foram utilizadas para determinação da densidade compactada utilizando-se equipamento *Tapped Density Tester* da marca Erweka, modelo SVM 22, que opera com batidas de 3 mm $\pm 10\%$ (ou seja, $\pm 0,3$ mm) de altura com uma frequência de 250 batidas/minuto (método II da farmacopéia americana – USP36/NF31). As amostras foram submetidas a 500 batidas e registrado o volume após esta compactação; em seguida foram realizadas mais 750 batidas e verificado o volume ocupado pelo pó. Para as amostras onde a diferença entre os volumes, após estas duas sequências de batidas, foi superior a 2 % o teste foi continuado com intervalos de 1250 batidas até que a diferença de volume entre a batida anterior e a final fosse inferior a 2 % (USP36/NF31, 2013).

Após os ensaios a densidade compactada foi calculada conforme equação 2 abaixo:

$$D_c = m / V_f$$

Equação 2

onde:

D_c= densidade compactada em g/mL

m= massa da amostra (em g)

V_f= volume ocupado pela amostra (em mL) após compactação

4.2.2.2 Determinação da fluidez

4.2.2.2.1 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

As amostras do lote de matéria-prima de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, e da mistura final das formulações propostas, foram avaliadas utilizando-se o equipamento para determinação do ângulo de repouso e fluxo através de orifícios da marca Erweka, modelo GTB, que faz esta determinação para pós e granulados.

Para análise do fluxo por orifícios foi determinada a taxa de escoamento (segundos/100 g), calculada pelo próprio equipamento, pesando-se 100 g de cada amostra e posteriormente submetendo-as ao escoamento no equipamento por três vezes (triplicata). Todas as amostras foram submetidas a escoamento pelo funil com orifício de 10 mm com e sem agitação.

Para determinação do ângulo de repouso foi utilizada 100 g de cada amostra que foi submetida ao escoamento pelo funil que promovesse o melhor fluxo do material analisado sem a quebra constante do cone formado, podendo esta quebra gerar um falso resultado. O ângulo de repouso foi calculado pelo próprio equipamento a partir de três determinações (triplicata), e as amostras foram classificadas conforme Tabela 5 a seguir.

Tabela 5 - Escala de fluidez de acordo com o ângulo de repouso

CLASSIFICAÇÃO DE FLUXO	ÂNGULO DE REPOUSO (°)
Excelente	25-30
Bom	31-35
Razoável	36-40
Aceitável	41-45
Pobre	46-55
Muito Pobre	56-65
Péssimo	> 66

Fonte: <1174>Powder Flow (USP36/NF31, 2013)

4.2.2.2.2 Determinação do índice de compressibilidade (IC) e razão de Hausner (RH)

Estes dados foram obtidos após a realização dos testes de densidade aparente e compactada através das equações 3 e 4 a seguir e, posteriormente, a fluidez das amostras foi classificada de acordo com a Tabela 6.

$$IC (\%) = 100 \cdot (V_0 - V_f) / V_0$$

Equação 3

onde:

IC: índice de compressibilidade

V0: volume aparente antes da compactação

V_f: volume aparente após a compactação

$$RH = V_0 / V_f$$

Equação 4

onde:

RH: razão de Hausner

V₀: volume aparente antes da compactação

V_f: volume aparente após a compactação

Tabela 6 - Escala de fluidez de acordo com o índice de compressibilidade e razão de Hausner

CLASSIFICAÇÃO DE FLUXO	ÍNDICE DE COMPRESSIBILIDADE	RAZÃO DE HAUSNER
Excelente	< ou = 10	1,00-1,11
Bom	11-15	1,12-1,18
Razoável	16-20	1,19-1,25
Aceitável	21-25	1,26-1,34
Pobre	26-31	1,35-1,45
Muito Pobre	32-37	1,46-1,59
Péssimo	>38	>1,60

Fonte: QIU *ET al.*, 2009; <1174>Powder Flow (USP36/NF31, 2013)

4.2.2.3 Determinação da distribuição granulométrica

4.2.2.3.1 Determinação da distribuição granulométrica pelo método de agitação de peneiras

A avaliação da distribuição granulométrica da ETA antes e após processo de redução do tamanho de partícula, além das amostras das misturas finais das formulações testadas, foi realizada pelo método de agitação de peneiras em 25 g de amostras em peneiras de 200 mm de

diâmetro. O tamanho da abertura da malha das peneiras, tempo e amplitude de agitação foram definidos de acordo com os procedimentos descritos no capítulo <786> *Particle Size Distribution Estimation By Analytical Sieving* da Farmacopéia Americana 35ª. Edição (USP36/NF31, 2013).

4.2.2.3.2 Determinação da distribuição granulométrica por difração de LASER

Para a avaliação da distribuição granulométrica das amostras de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, utilizou-se o analisador de distribuição granulométrica por difração de LASER (da marca Beckman Coulter) e o módulo de tornado, gentilmente cedido pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha (LFM). Para a realização das análises utilizou-se o modelo ótico de Fraunhofer, vácuo na faixa de 18 a 21”H₂O, tempo de leitura entre 15 e 27 segundos e a obscuração de aproximadamente 4%. Conforme preconizado pela USP 36 (2013) e ISO 13320 (1999), realizou-se análise em quintuplicada (5 amostragens) tanto para amostra original como para aquelas obtidas após o processo de redução do tamanho das partículas. Cada amostragem foi pesada em balança analítica (Marca: Sartorius – Modelo: CP2245) devidamente calibrada, sendo que a faixa utilizada para a amostra original foi de 6,3 a 6,5 g, para a amostra obtida após processo de moagem foi de 1,1 a 1,4 g e para a amostra obtida após processo de micronização foi de 1,0 a 1,1 g. Posteriormente, os resultados referentes a $d_{Médio}$, d_{Moda} , d_{10} , d_{50} e d_{90} , foram compilados e os valores de desvio padrão relativo das cinco replicatas foram calculados, confrontando-os com os limites estabelecidos pela USP 36 (2013): $d_{10} < \text{ou} = 15\%$, $d_{50} < \text{ou} = 10\%$ e $d_{90} < \text{ou} = 15\%$; sendo que nos casos em que a amostra apresentar valores menores que 10 micras estes limites dobram. Os valores de distribuição granulométrica obtidos foram utilizados para confecção de gráficos utilizando-se software adequado (Excel®).

A massa utilizada para a realização das análises com as amostras obtidas após o processo de redução dos tamanhos de partícula necessitou ser menor do que aquele utilizado para a amostra original com o intuito de obter valor adequado de obscuração.

4.2.2.4 Avaliação morfológica dos cristais de ETA

As amostras de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, foram avaliadas por microscopia óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV) para avaliação do tamanho e morfologia das partículas.

Para obtenção das microfotografias por MO utilizou-se um microscópio da marca Olympus, modelo BX50. Pequenas quantidades de amostra foram depositadas em lâminas de vidro devidamente higienizadas. O material preparado foi analisado nas ampliações: 50x a 500x.

Para a realização das análises de MEV as amostras foram depositadas sobre stub's metálicos contendo na superfície uma fita dupla face de carbono. Posteriormente, stub's contendo as amostras foram metalizados com uma fina camada de ouro à temperatura ambiente e a vácuo, utilizando um metalizador BAL-TEC SCD 005. As análises foram realizadas, à temperatura ambiente e a vácuo, em microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 400 no setor de caracterização tecnológica da coordenação de análise mineral do centro de tecnologia mineral da Universidade Federal do Rio de Janeiro (SCT/COAM – CETEM/UFRJ).

4.2.2.5 Análise térmica da ETA

4.2.2.5.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises de DSC foram realizadas em um calorímetro exploratório diferencial (DSC) Mettler Toledo modelo 822^e. Amostras em duplicata da ETA antes e após redução do tamanho de partícula, além do medicamento de referência Trecator[®], foram pesadas em cadinhos de alumínio com tampa perfurada no momento de cada experimento pelo amostrador automático. As curvas de DSC foram realizadas em taxas de aquecimento de 2,5 K.min⁻¹, 10 K.min⁻¹, e 40 K.min⁻¹, e faixa de temperatura de 25°C a 200°C, utilizando atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 80 mL.min⁻¹. O equipamento foi previamente calibrado utilizando Índio e Zinco metálicos.

4.2.2.5.2 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises foram realizadas em um analisador termogravimétrico (TGA) marca Mettler Toledo modelo 851^o. Amostras em duplicata da ETA antes e após redução do tamanho de partícula, além do medicamento de referência Trecator[®], foram pesadas em cadinhos de óxido de alumínio com tampa. As curvas de TGA foram obtidas a uma taxa de aquecimento de 10 K.min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, a uma faixa de temperatura de 25°C a 1000 °C. O equipamento foi previamente calibrado utilizando Índio e Alumínio metálicos.

4.2.2.6 Difratometria de raios X de pó (DRXP)

As análises de DRXP foram realizadas nas amostras da ETA antes e após redução do tamanho de partícula, além do medicamento de referência Trecator[®], no Laboratório de Cristalografia (LDRX) do Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense (UFF). Os padrões de difração de raios X foram coletados no difratômetro Bruker D8 Advance (Bruker, Alemanha), utilizando radiação Cu K α (λ para K α 1 = 1,54060 Å; λ para K α 2 = 1,54438 Å) e operando com 40 kV e 40 mA de tensão e corrente de tubo, respectivamente. As medidas foram realizadas no intervalo 2 θ de 5-60°, com velocidade de varredura de 0,2°/segundo.

4.2.2.7 Espectroscopia no infravermelho

As amostras de ETA, antes e após processo de redução de tamanho de partícula, foram avaliadas e comparadas em espectrômetro de infravermelho próximo (FT-NIR) da marca Perkin Elmer, modelo Spectrum One NTS, entre 4000 a 10000 cm⁻¹, e espectrômetro de infravermelho médio (FT-IR) da marca Perkin Elmer, modelo Frontier, entre 650 a 2000 cm⁻¹.

4.2.2.8 Avaliação da molhabilidade de ETA

As amostras de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, tiveram sua molhabilidade avaliada através da determinação do ângulo de contato pelo método da gota sésil em equipamento da marca Krüss (Alemanha) modelo DAS 100.

Preparo das pastilhas: Com o auxílio de uma prensa da marca ICL, modelo 1 Ton E-Z™, foram preparadas pastilhas planas com 10 mm de diâmetro pesando-se 300mg de amostra e submetendo esta massa pesada a pressão de 2000 psi por 2 minutos. O conjunto punção e matriz, utilizado para obtenção das pastilhas, foi previamente lubrificado mergulhando os mesmos em solução de 0,1% (p/V) de Estearato de Magnésio em Metanol, deixando secar a temperatura ambiente antes da utilização para produção da pastilha. O ângulo de contato foi determinado na face da pastilha que não teve contato com o punção lubrificado. As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação do ângulo de contato: Aproximadamente 8 μ L de líquido (meios de dissolução saturados com etionamida), à temperatura ambiente, foram aplicados na superfície da pastilha a 100 μ L/min. As imagens foram capturadas imediatamente após a aplicação do líquido e o ângulo de contato foi medido pelo equipamento por expressão matemática adequada para o formato da gota.

4.2.2.9 Ensaio de solubilidade da ETA

4.2.2.9.1 Curvas de calibração analíticas

Para preparo das curvas de calibração analíticas foi preparada uma solução estoque de ETA pesando-se 25 mg de padrão secundário de ETA (potência 101,1%), sendo dissolvida e diluída com metanol PA em balão volumétrico de 25 mL, obtendo-se concentração final de 1mg/mL. Desta solução estoque de ETA foram tomadas 07 alíquotas (0,1000 mL, 0,1500 mL, 0,2500 mL, 0,5000 mL, 0,7500 mL, 1,0000 mL e 2,0000 mL), utilizando micropipetas volumétricas, e preparadas 07 soluções em balão volumétrico de 10 mL, para cada meio a ser utilizado no ensaio de solubilidade (ácido clorídrico 0,1 M pH 1,2, tampão acetato pH 4,5 e

tampão fosfato pH 6,8), obtendo-se as concentrações teóricas finais de: 0,0010 mg/mL; 0,0015 mg/mL; 0,0025 mg/mL; 0,0050 mg/mL; 0,0075 mg/mL; 0,0100 mg/mL e 0,0200 mg/mL. As absorvâncias das soluções obtidas foram aferidas em espectrofotômetro UV-Vis do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – Farmanguinhos/FIOCRUZ (marca Shimadzu, modelo UV-1800), utilizando como branco os meios de solubilidade, e as curvas de calibração analíticas foram determinadas pelo método de regressão linear. Os comprimentos de onda utilizados para cada meio foram determinados previamente a partir de uma verredura na região do ultravioleta (entre 190 nm e 350 nm) realizada no mesmo espectrofotômetro, obtendo-se picos máximos de absorção em 275 nm para as soluções de ETA em ácido clorídrico 0,1M pH 1,2, 284 nm para as soluções de ETA em tampão acetato pH 4,5 e 288nm para as soluções de ETA em tampão fosfato pH 6,8.

4.2.2.9.2 Ensaio de Solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado somente com a amostra de ETA original, ou seja, antes do processo de redução do tamanho de partícula.

Quantidade de fármaco suficiente para a formação de uma suspensão foi adicionada, em triplicata, a béquer de 50 mL contendo 10 mL dos meios: ácido clorídrico (0,1M) pH 1,2, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8; preparados conforme descrito na USP 36. Como a ETA é fotossensível os béqueres foram envolvidos com papel alumínio, além de vedados com Parafilm[®] para evitar a evaporação dos meios durante a realização do ensaio. As suspensões foram mantidas sob agitação, em agitador magnético multiposicional IKA[®] modelo RT15 Power, por 48 horas à temperatura ambiente e alíquotas de 1 mL foram retiradas nos intervalos de 3, 6, 24 e 48 horas. As alíquotas foram centrifugadas a 3600 rpm por 45 minutos em centrífuga da marca Fanen modelo Baby 206e os sobrenadantes foram filtrados. Dos sobrenadantes filtrados foram tomadas alíquotas de 0,1 mL, para as amostras dos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8, e 0,01 mL para as amostras do meio ácido clorídrico 0,1M, sendo posteriormente diluídas, com mesmo solvente, em balão volumétrico de 10 mL. As absorvâncias das soluções obtidas foram aferidas em espectrofotômetro UV-Vis da marca Shimadzu, modelo UV-1800, utilizando como branco os meios do ensaio de solubilidade, e as concentrações finais (Cf), em mg/mL, foram determinadas utilizando as equações resultante das curvas analíticas previamente obtidas, conforme descrito no item 4.2.2.9.1. A partir do

resultado das concentrações finais obtidas, foram calculadas as concentrações de saturação (C_{sat}) da ETA, em mg/mL, em cada meio utilizando-se as equações 5 e 6 a seguir:

- para as amostras submetidas ao meio ácido clorídrico 0,1N

$$C_{sat} = (C_f \times 10 \times 10) \div 0,01 \quad \text{Equação 5}$$

- para as amostras submetidas aos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8

$$C_{sat} = (C_f \times 10 \times 10) \div 0,1 \quad \text{Equação 6}$$

Onde,

C_{sat} = concentração de saturação (mg/mL)

C_f = concentração final (mg/mL)

10 = volume de meio na suspensão no béquer de 50 mL

10 = volume final da solução obtida no balão de 10 mL

0,01 = alíquota tomada das suspensões das amostras submetidas ao meio HCl 0,1 M

0,1 = alíquota tomada das suspensões das amostras submetidas aos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8

4.2.2.10 Ensaios de dissolução

4.2.2.10.1 Dissolução por dispersão

Neste ensaio, foi utilizado o dissolutor Distek Evolution 6100 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – Farmanguinhos/FIOCRUZ. A dissolução por dispersão das amostras foi realizada após a introdução das amostras de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula, diretamente na cuba de dissolução. Foram pesados, quantitativamente, cerca de 250,0 mg de cada amostra e, então, estas foram adicionadas às cubas contendo 900 mL dos meios de dissolução, a 37°C: ácido clorídrico (0,1M) pH 1,2, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8. A agitação do meio foi obtida com o ajuste da pá a 50 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra testada. Foram retiradas alíquotas de 11 mL após 5, 10, 15, 30,

45 e 90 minutos de ensaio. A quantidade de fármaco dissolvida foi calculada pela diluição e leitura das alíquotas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 nos comprimentos de onda 275 nm para as soluções de ETA em ácido clorídrico 0,1M pH 1,2, 284 nm para as soluções de ETA em tampão acetato pH 4,5 e 288 nm para as soluções de ETA em tampão fosfato pH 6,8, utilizando-se curvas de calibração analítica preparadas conforme descrito no item 4.2.2.9.1.

4.2.2.10.2 Dissolução intrínseca

Para a dissolução intrínseca em disco fixo, também foi utilizado o dissolutor Distek Evolution 6100 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – Farmanguinhos/FIOCRUZ. Os ensaios de dissolução intrínseca em disco foram realizados com auxílio de um aparato para dissolução intrínseca (Distek, Estados Unidos) que consiste em uma matriz e uma base de aço (Figura 4). A matriz foi fixada à base e em sua cavidade cilíndrica central, de 0,8 cm de diâmetro, foi adicionada quantidade aproximada de 250 mg de amostra à cavidade da matriz. Posteriormente foi encaixado um punção nesta cavidade, compactando-se as amostras de ETA antes e após redução do tamanho de partícula a 800 psi/minuto em prensa da marca ICL modelo 1 Ton E-Z™, obtendo-se um compactado não desintegrante com área exposta de 0,5 cm². A matriz foi encaixada a uma tampa plástica e, com o compactado para cima, introduzida na cuba de dissolução com fundo plano (Figura 4), contendo 900 mL dos meios de dissolução a 37°C: de ácido clorídrico (0,1 M) pH 1,2, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8. A agitação do meio foi obtida com o ajuste da pá a 50 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra testada. Foram retiradas alíquotas de 11 mL após 1, 2, 3, 4, 5 e 10 minutos para o ensaio realizado em ácido clorídrico 0,1M pH 1,2 e 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 e 90 minutos para os ensaios realizados em tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8.

A quantidade de fármaco dissolvida foi calculada pela diluição e leitura das alíquotas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 nos comprimentos de onda 275 nm para as soluções de ETA em ácido clorídrico 0,1M pH 1,2, 284 nm para as soluções de ETA em tampão acetato pH 4,5 e 288nm para as soluções de ETA em tampão fosfato pH 6,8, utilizando-se as curvas de calibração analítica conforme descrito no item 4.2.2.9.1.

A taxa de dissolução intrínseca (mg/cm²/min) para cada amostra foi determinada através de regressão linear dos resultados de dissolução obtidos.

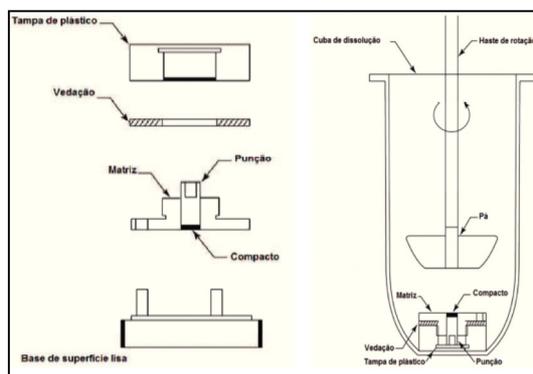


Figura 4 - Desenho esquemático do aparato para dissolução intrínseca de disco estacionário (ROSA, 2012)

4.2.2.11 Avaliação da ETA conforme critérios farmacopeicos

A ETA está descrita nas farmacopéias brasileira, americana, internacional e européia, conforme apresentado na Tabela 1, item 2.2. Como é intenção futura de Farmanguinhos qualificar o produto na Organização Mundial de Saúde, é importante que além dos ensaios preconizados na Farmacopéia Brasileira sejam avaliados aqueles que não constam neste compêndio, mas são descritos nos demais. As análises serão realizadas nas amostras de ETA, antes e após redução do tamanho de partícula. As análises de cinzas sulfatadas, metais pesados e selênio, contaminantes provenientes do processo de obtenção da ETA durante a síntese, não foram realizadas por se julgar desnecessário. Os demais ensaios foram realizados para determinar se o processo de redução do tamanho de partícula promoveu alteração significativa nas características iniciais da ETA original.

4.2.2.11.1 Identificação

Os espectros de absorção no infravermelho (item 4.2.2.7) e no ultravioleta (equipamento Shimadzu, modelo UV-1800) das amostras serão comparados com espectro de padrão de ETA. Também serão determinados os pontos de fusão (equipamento BUCHI, modelo B-545) das amostras e confrontados com a especificação farmacopeica, 158°C a 164°C.

4.2.2.11.2 pH

Foram preparadas suspensões aquosas a 1% (m/v) das amostras de ETA, antes e após o processo de redução do tamanho das partículas, e o pH foi determinado em medidor de pH Marte, modelo MB10, confrontado os valores obtidos com a especificação, pH entre 6,0 e 7,0, da Farmacopéia Brasileira 5ª. edição.

4.2.2.11.3 Água

Foi determinado o teor de água em 200 mg das amostras de ETA, antes e após o processo de redução do tamanho das partículas, pelo método de Karl Fischer, utilizando titulador automático da marca Metrohm, modelo KFP 784, confrontado os valores obtidos com a especificação, menor ou igual a 2,0%, da Farmacopeica Americana (USP 36).

4.2.2.11.4 Perda por secagem

Foi determinada a perda por secagem em estufa da marca VWR BRAND, modelo 1400E, a 105 °C por 3 horas em 1 g das amostras de ETA, antes e após o processo de redução do tamanho das partículas, confrontado os valores obtidos com a especificação, menor ou igual a 0,5%, da Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição.

4.2.2.11.5 Substâncias relacionadas

As análises de substâncias relacionadas foram realizadas conforme método descrito na Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição, conforme descrito a seguir:

- Foram preparadas três soluções em acetona de cadauma das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, obtendo-se as concentrações de 20 mg/mL (S1), 0,1 mg/mL (S2) e 0,04 mg/mL (S3).
- 10 µL de cada solução (1, 2 e 3) foram aplicados em placa de cromatografia em camada delgada, utilizando sílica-gel GF₂₅₄ como suporte, e solução de clorofórmio e metanol (90:10) como fase móvel.
- após desenvolver os cromatogramas, as placas foram secas à temperatura ambiente e examinadas sob luz ultravioleta a 254 nm.

Conforme especificação Farmacopeia Brasileira 5^a. Edição, nenhuma mancha secundária obtida no cromatograma com a solução 1, diferente da mancha principal, deverá ser mais intensa que aquela obtida com a solução 2 (0,5%), e não mais que uma mancha secundária obtida com a solução 1 deverá ser mais intensa que aquela obtida com a solução 3 (0,2%).

4.2.2.11.6 Teor

Foi determinado o teor nas amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, conforme método de potenciometria em meio não aquoso da Farmacopeia Brasileira 5^a. edição.

Foram dissolvidos 0,25 g da amostra em 50 mL de ácido acético glacial, sendo a solução obtida titulada com ácido perclórico 0,1 M. O ponto final será determinado potenciométricamente em titulador automático da marca Metrohm, modelo 836. Será realizada a titulação de ácido acético glacial para correções necessárias (branco). O teor de ETA será determinado a partir da relação de que cada mL de ácido perclórico 0,1 M, gasto na titulação, equivale a 16,624 mg de ETA. O ensaio foi realizado em duplicata e descontado o valor de perda por dessecação calculando-se o teor de ETA na base anidra de todas as amostras

4.2.3 Preparo das formulações de ETA250 mg comprimidos revestidos

Como já abordado no item 2.2.2, as formulações de Farmanguinhos e do medicamento de referência Trecator[®] possuem diferenças significativas de excipientes, tanto qualitativa quanto quantitativamente.

Conforme patente requerida pela empresa Wyeth (WYETH, 2006), citada no item 2.2.2, o medicamento Trecator® possui peso médio de núcleo dos comprimidos revestidos de aproximadamente 600 mg e utiliza processo de fabricação por compressão direta. Isto sugere que o insumo farmacêutico ativo ETA utilizado possui fluxo no mínimo aceitável, ou o processo de fabricação e excipientes utilizados são capazes de prover fluxo também no mínimo aceitável à mistura final que é submetida ao processo de compressão.

Já a formulação de Farmanguinhos possui peso médio de núcleo dos comprimidos revestidos de aproximadamente 414 mg e processo de granulação por via úmida. Uma desvantagem deste processo seria o tempo e energia gastos para realização das etapas adicionais de granulação e secagem, que não seriam realizadas pelo fabricante do medicamento de referência, porém se obteria um número maior de comprimidos em uma mesma batelada de produto, o que poderia compensar a desvantagem produtiva da granulação úmida. Outra vantagem seria o tamanho reduzido dos comprimidos com peso menor (Figura 5), que atribuiria uma vantagem a sua deglutição se comparado a um comprimido de 600 mg, aumentando a aceitabilidade ao produto e, conseqüentemente, a adesão ao tratamento, este último um dos maiores problemas para a eficácia do tratamento da tuberculose.

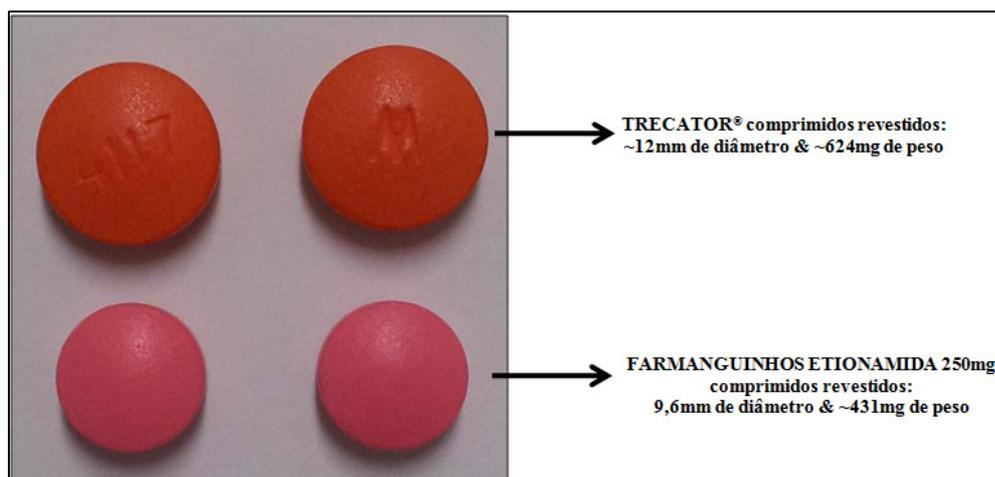


Figura 5 – Fotografia dos comprimidos revestidos de Farmanguinhos Etionamida 250mg e do Trecator®

Portanto, foram planejados e executados inicialmente a fabricação de 10 experimentos, formulações F01 a F10 (Tabela 7 e Tabela 8), buscando estudar o impacto no processo de fabricação e qualidade do produto final com a utilização da ETA, tal qual fornecida pelo fabricante em estudo, após processo de moagem e micronização. Foram planejadas formulações reproduzindo a do medicamento de referência, inclusive seu peso médio de 600 mg, e tentativas de se manter o peso atual dos comprimidos de Farmanguinhos, não alterando a apresentação do

produto atualmente registrado, já que os consumidores no Brasil já estão familiarizados com a mesma. Uma alteração significativa nesta apresentação atual poderia confundir e, até mesmo, causar rejeição do produto no mercado nacional. Também foi utilizada água como solvente no lugar do solvente orgânico no processo por granulação úmida, o que representaria um ganho significativo com relação à segurança operacional e ao custo do produto final.

Por questões de confidencialidade não estão apresentadas na Tabela 7 e Tabela 8 as quantidades utilizadas para cada excipiente da formulação.

Tabela 7 - Composição qualitativa das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos fabricados pelo processo de compressão direta.

Núcleos dos comprimidos revestidos					
Insumo	F01	F02	F03	F04	F09
ETA	X	---	X	X	---
ETA-MOÍDA	---	X	---	---	---
ETA-MICRO	---	---	---	---	X
Dióxido de silício coloidal	X	X	X	X	X
Povidona K30	X	X	X	X	X
Celulose microcristalina 102	X	X	X	X	X
Lactose <i>spray-dried</i>	---	---	---	X	---
Croscarmelose de sódio	X	X	X	X	X
Estearato de magnésio	X	X	X	X	X
Peso Médio (mg)	600	600	414	414	600
Revestimento					
Insumo	F01	F02	F03	F04	F09
Sistema de revestimento	X	X	X	X	X
Água Purificada (q.s.p.)	X	X	X	X	X
Peso Médio	624	624	431	431	624

Tabela 8 - Composição qualitativa das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos fabricados pelo processo de granulação úmida.

Núcleos dos comprimidos revestidos					
Insumo	F05	F06	F07	F08	F10
ETA	X	---	X	---	---
ETA-MOÍDA	---	X	---	X	---
ETA-MICRO	---	---	---	---	X
Dióxido de silício coloidal	X	X	X	X	X
Povidona K30	X	X	X	X	X
Celulose microcristalina 101	X	X	X	X	X
Lactose malha 200	---	---	X	X	X
Croscarmelose de sódio	X	X	X	X	X
Estearato de magnésio	X	X	X	X	X
Água purificada (qsp)	X	X	X	X	X
Peso Médio (mg)	414	414	414	414	414
Revestimento					
Insumo	F05	F06	F07	F08	F10
Sistema de revestimento	X	X	X	X	X
Água Purificada (q.s.p.)	X	X	X	X	X
Peso Médio	431	431	431	431	431

Devido à complexidade na determinação de qual sistema de revestimento e quais parâmetros seriam necessários para o revestimento, além da demanda de tempo e material para finalização desta tese, as formulações testadas não foram submetidas ao processo de revestimento, sendo somente os núcleos fabricados submetidos às análises para seleção da melhor formulação a dar prosseguimento futuro ao desenvolvimento.

4.2.3.1 Processo de fabricação

4.2.3.1.1 Processo de fabricação pelo método de mistura para compressão direta

Os experimentos F01, F02, F03, F04e F09 foram fabricados por compressão direta conforme fluxograma apresentado na Figura 6 a seguir.

Todos os experimentos foram manipulados para obtenção de 1,5 Kg de mistura final de pós, com exceção do experimento F09, pois, devido ao quantitativo reduzido de ETA-MICRO este experimento foi manipulado para obtenção de 0,300 Kg de mistura final de pós.

Para compressão foram utilizados punções 12 mm côncavos lisos (F01, F02 e F09) e punções 9,6 mm côncavos lisos (F03 e F04). As misturas foram realizadas em misturador “V” Lawes (modelo 10L) e a compressão em compressora rotativa Fette (modelo 102i).

Para o experimento F09, devido à pequena quantidade de mistura final, a compressão foi realizada no modo mono-compressão com alimentação manual das matrizes, para obtenção dos comprimidos suficientes e realização das análises. Os demais experimentos foram realizados com a máquina de compressão em funcionamento rotativo normal.

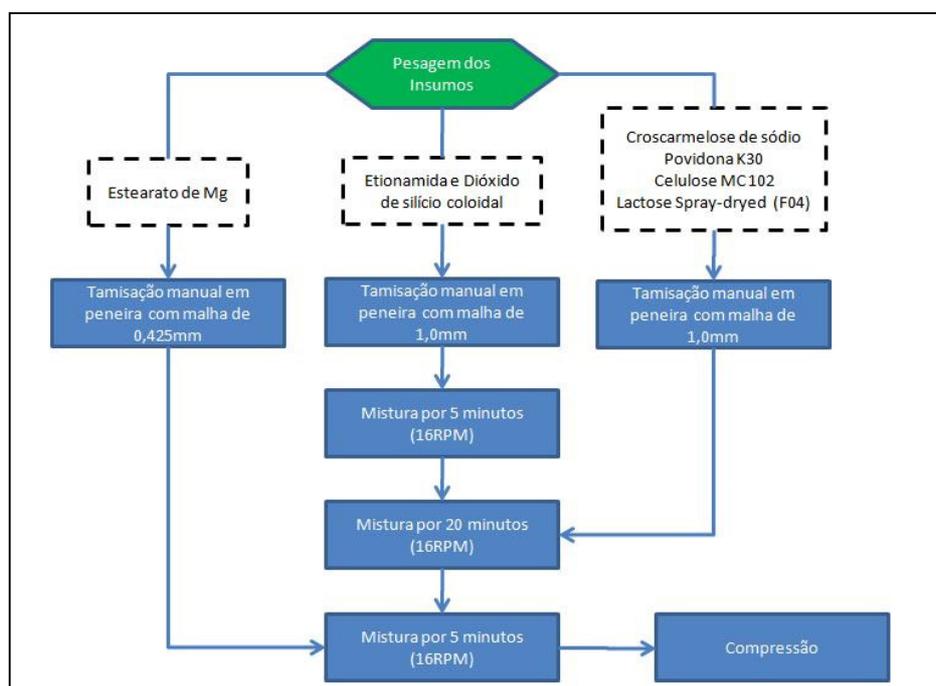


Figura 6 - Fluxograma do processo de fabricação dos experimentos F01, F02, F03, F04 e F09

4.2.3.1.2 Processo de fabricação dos experimentos pelo método de granulação úmida

Os experimentos F05, F06, F07, F08 e F10 foram fabricados por granulação úmida com secagem em leito fluidizado conforme fluxograma apresentado na Figura 7 a seguir.

Todos os experimentos foram manipulados para obtenção de 1,5 Kg de comprimidos, com exceção do experimento F10, pois, devido ao quantitativo reduzido de ETA-MICRO este experimento foi manipulado para obtenção de 0,750 Kg de mistura final de pós.

Para compressão foram utilizados punções 9,6 mm côncavos lisos. A pré-mistura e a granulação úmida foram realizadas em misturador/granulador de alto cisalhamento da marca

Diosna (modelo P1/6), a secagem em leito fluidizado da marca Glatt (modelo GPCG-3), a calibração do granulado seco em granulador oscilante da marca Erweka (modelo AR-400), as misturas em misturador “V” da marca Lawes (modelo 10 L), a compressão em compressora rotativa da marca Fette (modelo 102i).

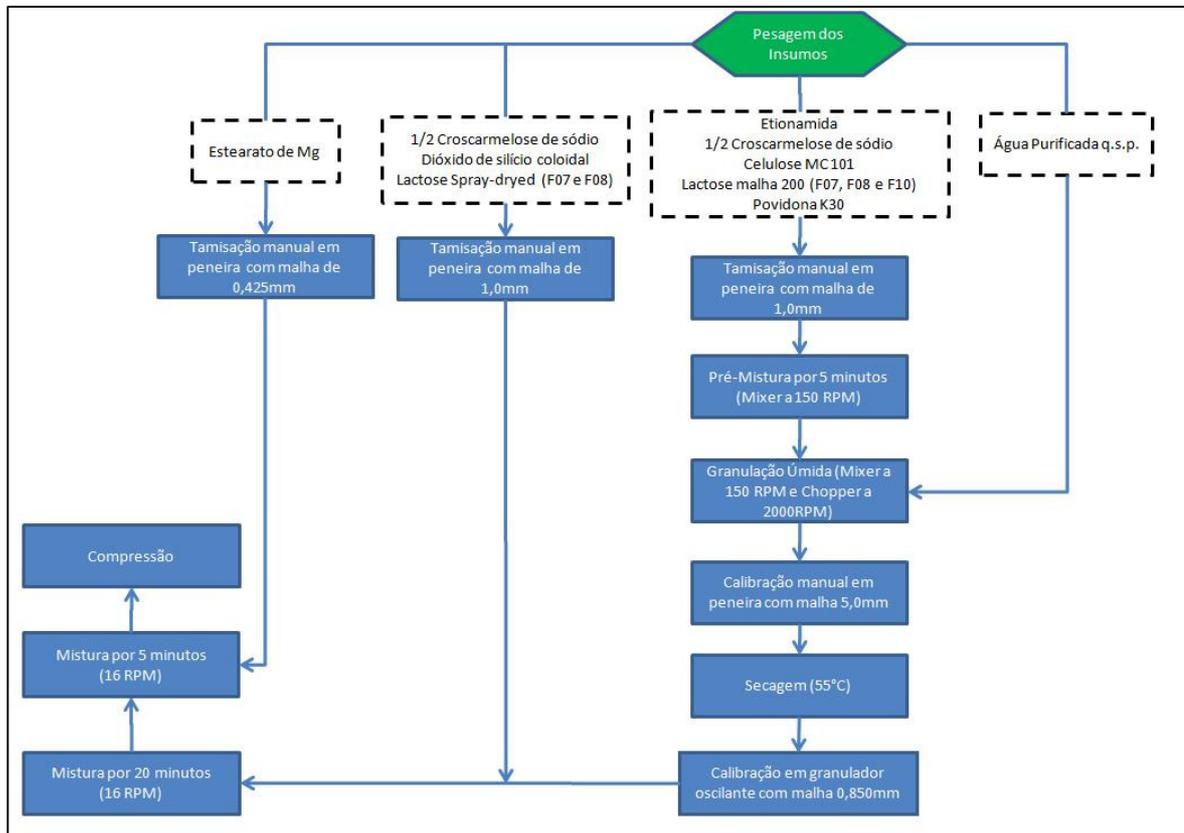


Figura 7 - Fluxograma do processo de fabricação dos experimentos F05, F06, F07, F08 e F10

4.2.4 Avaliação das formulações de ETA250 mg comprimidos revestidos

4.2.4.1 Avaliação física das misturas finais

As misturas finais de todas as formulações foram avaliadas quanto à densidade aparente, densidade compactada, fluidez e distribuição granulométrica, conforme metodologias descritas nos itens 4.2.2.1, 4.2.2.2 e 4.2.2.3.1, respectivamente.

4.2.4.2 Avaliação dos comprimidos obtidos após processo de compressão

4.2.4.3 Avaliação do processo de compressão

As formulações foram comprimidas em compressora rotativa instrumentada da marca Fette (modelo 102i), montada com rotor de 06 estações, e os valores médios e de variações obtidos para os parâmetros de força de compressão (em KN) e força de ejeção (em KN) foram registrados para comparação e discussão da performance do processo.

4.2.4.3.1 Avaliação do peso dos comprimidos

O peso individual de 60 núcleos de comprimidos revestidos de cada formulação foi determinado em amostras coletadas no início (n=20), meio (n=20) e final (n=20) do processo de compressão, em balança analítica da marca Mettler Toledo (modelo AL204). De posse dos resultados obtidos foi determinada a variação de peso segundo procedimento da Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição para o início, meio e final do processo de compressão.

4.2.4.3.2 Avaliação da dureza e espessura dos comprimidos

A dureza e espessura, expressas em Newton (N) e milímetros (mm), respectivamente, foram determinadas em 30 núcleos de comprimidos revestidos de cada formulação, em amostras coletadas no início (n=10), meio (n=10) e final (n=10) do processo de compressão, utilizando analisador de dureza, espessura e diâmetro da marca Erweka (modelo TBH310MD).

4.2.4.3.3 Avaliação da friabilidade dos comprimidos

A friabilidade foi determinada em 20 comprimidos coletados aleatoriamente no início, meio e final do processo de compressão, utilizando friabilômetro da marca Erweka (modelo TAR-200). O método utilizado para determinação da friabilidade seguiu as recomendações da Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição, submetendo-se 20 comprimidos, previamente pesados, a 100 rotações. Após este procedimento os 20 comprimidos foram avaliados quanto ao aspecto, limpos com pincel e novamente pesados, calculando-se o percentual de perda de massa dos mesmos.

4.2.4.3.4 Avaliação da desintegração dos comprimidos

A desintegração, em água deionizada e ácido clorídrico 0,1 N, foi determinada em 06 comprimidos coletados aleatoriamente no início, meio e final do processo de compressão, utilizando desintegrador de comprimidos e cápsulas da marca Erweka (modelo ZT-71). O método utilizado para determinação da desintegração seguiu as recomendações da Farmacopéia Brasileira 5ª. Edição, mantendo o meio de desintegração a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, utilizando disco e determinando os tempos de desintegração mínimo e máximo obtidos.

4.2.4.3.5 Avaliação do perfil de dissolução dos comprimidos

O perfil de dissolução dos comprimidos revestidos das formulações testadas foi realizado em ácido clorídrico 0,1 M, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8 conforme condições descritas na Tabela 9 a seguir.

Tabela 9 - Condições que serão utilizadas para determinação do perfil de dissolução dos comprimidos nas formulações testadas

CONDIÇÕES	TESTE 1*	TESTE 2	TESTE 3
Aparato	Cesta	Cesta	Cesta
Velocidade	100 rpm	100 rpm	100 rpm
Tempos de Coleta	5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos	5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos	5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos
Meio	Ácido clorídrico 0,1 N pH 1,2	Tampão acetato pH 4,5	Tampão fosfato pH 6,8
Volume do meio	900 mL	900 mL	900 mL
Temperatura do meio	37°C ± 0,5°C	37 °C ± 0,5°C	37°C ± 0,5°C
Tolerância em 45 minutos	Q = 75%	Não se aplica	Não se aplica
Método de Detecção	Espectrofotometria no Ultravioleta $\lambda=275$ nm	Espectrofotometria no Ultravioleta $\lambda=284$ nm	Espectrofotometria no Ultravioleta $\lambda=288$ nm

*Condição de ensaio preconizada na Farmacopéia Brasileira 5^a. Edição para comprimidos de ETA

Para o ensaio das formulações F01, F02, F03, F04, F05, F06, F07, F08 e do medicamento de referência Trecator[®] lote 448475, foi utilizado o dissolutor da marca Varian modelo VK7010 e espectrofotômetro marca Varian modelo Cary50 do Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica – Farmanguinhos/FIOCRUZ.

Para o ensaio das formulações F09 e F10, foi utilizado o dissolutor da marca Distek modelo Evolution 6100 e espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-1800 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – Farmanguinhos/FIOCRUZ.

O perfil de dissolução das amostras foi realizado com 06 comprimidos de ETA de cada formulação. Foram retiradas alíquotas de 11 mL após 5, 10, 15, 30, 45 e 90 minutos de ensaio. A quantidade de fármaco dissolvida foi calculada pela diluição e leitura das alíquotas em um espectrofotômetro nos comprimentos de onda 275 nm para as soluções de ETA em ácido clorídrico 0,1 M pH 1,2, 284 nm para as soluções de ETA em tampão acetato pH 4,5 e 288 nm para as soluções de ETA em tampão fosfato pH 6,8, utilizando-se curvas de calibração analítica preparadas conforme descrito no item 4.2.2.9.1.

De posse dos resultados médios de perfil de dissolução das formulações testadas, foram calculados os fatores de diferença (fator F1) e semelhança (fator F2) frente ao perfil de dissolução médio do medicamento de referência Trecator[®].

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.1 Redução do tamanho de partícula da ETA matéria-prima

A redução do tamanho de partícula da etionamida foi avaliada por meio de dois tipos de processos: moagem em moinho de faca/martelo e micronização em micronizador a jato de ar. Primeiramente, decidiu-se por apresentar os resultados com base em uma breve discussão sobre as observações realizadas durante o processamento, com foco no rendimento apresentado por cada um. Em seguida, serão apresentados os resultados da caracterização das matérias-primas, comparando o insumo derivado dos dois processos com o insumo não processado; tal comparação agrupará todas as amostras para facilidade de interpretação e discussão.

5.1.1.1 Moagem

O processo de redução do tamanho das partículas pelo método de moagem em moinho faca/martelo ocorreu conforme planejado, obtendo-se, após as duas moagens previstas, um quantitativo de 5,7 Kg, ou seja, 95% do rendimento teórico de 6,0 Kg esperado. Esta perda de 5% seria indesejada em uma escala industrial, devendo o processo ser estudado com mais cautela no momento do escalonamento. Isto não quer dizer que seja inviável a incorporação do processo de moagem, pois pode acontecer de ser mantida a magnitude da perda em quilogramas, que foi de 0,3 Kg no experimento realizado, sendo esta, em um processo 10 vezes maior, considerada pequena, pois representaria apenas 0,5% de perda: $0,3 \text{ Kg} / 60,0 \text{ Kg} \times 100 = 0,5\%$. Com isso, seria esperado um rendimento de 99,5%, bastante razoável para este tipo de processamento em âmbito farmacêutico.

Uma forma de aperfeiçoar o processo, reduzindo as perdas, seria a redução do número de moagens para se obter o tamanho de partícula desejado. Esta otimização não foi considerada no presente estudo, pois as condições utilizadas para a moagem já estavam no limite disponível no laboratório, ou seja, velocidade de 4.600 rpm do moinho (máxima do equipamento utilizado) e chapa perfurada de 0,5 mm de diâmetro (menor disponível no laboratório). Para futuro escalonamento industrial, se o processo de moagem for incorporado à fabricação do produto,

pode-se investir: a) na aquisição de moinho faca/martelo mais eficiente, que atinja maiores velocidades; b) na aquisição de chapa perfurada de 0,25 mm de diâmetro, utilizando o moinho já existente; ou c) em ambas as aquisições citadas.

5.1.1.2 Micronização

O processo de redução do tamanho das partículas pelo método de micronização ocorreu com alguns inconvenientes referentes ao entupimento da tubulação de micronização com perda praticamente total de algumas frações para o filtro. Com isso, o processo foi interrompido algumas vezes para limpeza total do equipamento e desentupimento das tubulações. Este inconveniente resultou em rendimento final baixo de Etionamida micronizada (ETA-MICRO), em torno de 63,7 % (956 g de ETA-MICRO frente ao 1,5 Kg de material de partida).

Algumas hipóteses referentes à causa do entupimento da tubulação foram levantadas, como umidade da amostra, altas pressões de processo e arraste, além da umidade do ar comprimido. A umidade foi avaliada por perda por dessecação (LOD) e Karl Fisher (KF), conforme já havia sido previsto na caracterização da própria amostra, e os resultados demonstraram que a ETA não possuía uma umidade alta (LOD = 0,02 % e KF = 0,04 %). Avaliou-se também a pressão de processo e arraste e concluiu-se que, para o equipamento em questão, aquelas que estavam sendo utilizadas (5,0 bar e 2,0 bar, respectivamente) eram as mínimas necessárias para se obter um vácuo que promovesse a sucção da amostra, não sendo possível reduzi-las. Portanto, para as condições utilizadas não foi possível reduzir a perda para obtenção de maiores rendimentos. Avaliando-se o quantitativo obtido no final da micronização de toda a amostra, julgou-se que o mesmo era suficiente para a realização dos testes necessários para estudo do impacto do tamanho de partícula frente ao perfil de dissolução, já que foi obtido material significativamente diferente do obtido com o processo de moagem, a ser discutido no decorrer desta dissertação.

5.1.2 Caracterização da ETA matéria-prima

5.1.2.1 Determinação da densidade aparente e compactada

As densidades, aparente e compactada, da ETA antes e após o processo de redução do tamanho de partícula (ETA-MOÍDA e ETA-MICRO) foram determinadas em 10 g das amostras, sendo necessárias duas sequências de 1250 batidas no equipamento tanto para ETA quanto para ETA-MICRO, e apenas uma sequência de 1250 batidas para ETA-MOÍDA, para atingir a variação de volume menor que 2,0%, conforme metodologia descrita no item 4.1.2.1.

Os volumes ocupados na proveta de 100 mL pelas amostras de 10 g, antes de se iniciar as batidas no equipamento (V_0), foram: 18 mL para ETA, 25 mL para ETA-MOÍDA e 53 mL para ETA-MICRO. Estes valores foram utilizados para calcular a densidade aparente das amostras, obtendo-se os resultados de 0,56 g/mL, 0,40 g/mL e 0,19 g/mL, respectivamente. Nota-se uma redução significativa do valor da densidade aparente após a redução do tamanho de partícula, aproximadamente 28% para ETA-MOÍDA e 66% para ETA-MICRO, sendo maior o volume ocupado na proveta pela ETA após a redução do tamanho da partícula, aproximadamente 39% maior para ETA-MOÍDA e 194% maior para ETA-MICRO. Estes dados são importantes para cálculos e estimativas futuras da taxa de ocupação nos equipamentos industriais e dimensionamento adequado do processo de fabricação de lotes comerciais.

As amostras de 10 g, contidas no interior das provetas de 100 mL, foram então submetidas ao ensaio de densidade compactada, obtendo-se os volumes finais (V_F) de 13 mL para a ETA, 20 mL para ETA-MOÍDA e 40 mL para ETA-MICRO. Estes valores foram utilizados para calcular a densidade compactada das amostras, obtendo-se os resultados de 0,77 g/mL, 0,50 g/mL e 0,25 g/mL, respectivamente. Nota-se também uma redução significativa do valor da densidade compactada após os processos de redução de tamanho da partícula, aproximadamente 35% para ETA-MOÍDA e 67% para ETA-MICRO, sendo maior o volume ocupado na proveta pela ETA após a redução do tamanho da partícula, aproximadamente 54% maior para ETA-MOÍDA e 208% para ETA-MICRO.

Os resultados compilados de densidade aparente e batida podem ser visualizados na Tabela 10 a seguir.

Tabela 10 - Resultados de densidade aparente e densidade batida obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

AMOSTRA	Volume Inicial V_0 (mL)	Volume Final V_F (mL)	Densidade Aparente (g/mL)	Densidade Compactada (g/mL)
ETA	18	13	0,56	0,77
ETA-MOÍDA	25	20	0,40	0,50
ETA-MICRO	53	40	0,19	0,25

Com base nos resultados de densidade obtidos, pode-se concluir que ambos os processos de redução de tamanho de partícula reduziram significativamente os valores de densidade aparente e densidade batida da ETA. Esta redução tem impacto importante no cálculo das taxas de ocupação dos equipamentos a serem utilizados no processo de fabricação, como já discutido anteriormente. Além disso, os valores extremamente baixos obtidos com o processo de micronização podem inviabilizar a utilização do processo de fabricação do produto final via mistura para compressão direta, pois a concentração da ETA no produto final é relativamente alta (entre 41,6 % e 60,4 %, nas formulações testadas neste trabalho), portanto, influenciando sobremaneira no fluxo da mistura de pós e enchimento das matrizes durante a compressão (FIESE, 2001; MARSHALL, 2001).

5.1.2.2 Determinação da fluidez

5.1.2.2.1 Determinação do índice de compressibilidade e razão de Hausner

A fluidez das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, foi avaliada pela determinação do índice de compressibilidade (IC%) e da razão de Hausner (RH) a partir dos resultados de densidade aparente e compactada, conforme descrito no item 4.2.2.2. Os resultados estão apresentados na Tabela 11 a seguir.

Tabela 11 - Índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (RH) e classificação do fluxo, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

AMOSTRA	IC%	RH	CLASSIFICAÇÃO DO FLUXO ^a
ETA	28	1,38	Pobre
ETA-MOÍDA	20	1,25	Razoável
ETA-MICRO	25	1,33	Aceitável

^aOrdem decrescente (melhor para o pior) de classificação de fluxo: Excelente, Bom, Razoável, Aceitável, Pobre, Muito Pobre e Péssimo

Os resultados de fluidez obtidos indicam fluxo ruim para ETA, razoável para ETA-MOÍDA e aceitável para ETA-MICRO, ferindo o senso comum na área, pelo qual poder-se-ia prever o contrário. Além disso, contrastam com os resultados obtidos pelos métodos de ângulo de repouso e fluxo por orifícios (apresentados a seguir), principalmente para a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Este contraste demonstra a importância da avaliação da fluidez de insumos por mais de um método durante a etapa de pré-formulação, sendo que, neste caso, o método de fluxo por orifícios pareceu ser mais realista. Isso comprova a necessidade de utilização de mais de um método de avaliação da fluidez de pós, considerando-se que os mesmos são materiais muito complexos e porque nenhum método sozinho é capaz de avaliá-los perfeitamente. Apenas após a avaliação do sistema específico é que se pode determinar qual método é mais indicado para uma amostra específica (RIOS, 2006).

De qualquer forma, os resultados de fluidez de ambos os métodos podem sugerir bastante dificuldade de fluxo de formulações do produto final pelo método de compressão direta. Isto se deve pela dosagem significativamente alta da ETA (250 mg/comprimido) e proporção da mesma na formulação, sendo talvez viável a obtenção de comprimidos por compressão direta somente em formulações de peso médio mais alto, onde a boa fluidez dos excipientes utilizados pode mitigar o péssimo fluxo da ETA.

5.1.2.2.2 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

As amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO foram submetidas ao ensaio de fluxo por orifícios, sendo que todas não apresentaram escoamento pelo funil do equipamento

em nenhum dos orifícios testados (10 mm, 11,3 mm, 15 mm e 25 mm de diâmetro). Quando utilizado o aparato de agitação e repetido o ensaio, as amostras apresentaram escoamento incompleto, mesmo no orifício de maior abertura (25 mm de diâmetro), ficando grande parte do material aderido às paredes do funil, impedindo a determinação tanto do tempo de escoamento (em segundos/100 g) como do ângulo de repouso pelo equipamento.

Este resultado demonstra alta coesão das partículas de ETA, antes e após o processo de redução do tamanho de partícula, levando a concluir que as mesmas possuem fluxo péssimo, sugerindo problemas futuros de escoamento quando utilizadas em altas concentrações em formulações de mistura para compressão direta. Obviamente, com a utilização de excipientes adequados, que possuam a função de melhoria de fluxo de misturas de pós (deslizantes), além da redução da proporção do insumo farmacêutico na formulação, ainda pode ser obtido um processo de fabricação de compressão direta passível de ser realizado.

5.1.2.3 Determinação da distribuição granulométrica

5.1.2.3.1 Determinação da distribuição granulométrica pelo método de agitação de peneiras

Foram realizados os ensaios de distribuição granulométrica pelo método de agitação de peneiras nas amostras, na tentativa de caracterizar a diferença dos tamanhos de partícula entre elas e a eficiência dos processos de redução de tamanho de partícula utilizados.

Devido às características de coesividade observadas nos ensaios de determinação de fluidez e, neste caso, ser permitido pelos procedimentos descritos no capítulo <786> *Particle Size Distribution Estimation By Analytical Sieving* da Farmacopéia Americana (USP36/NF31, 2013), foram realizados ensaios em 25 g das amostras originais e em 25 g das amostras adicionadas de 0,5% de dióxido de silício coloidal (SiO_2), este último misturado manualmente em saco plástico com as amostras de ETA por 5 minutos. De posse dos valores de distribuição granulométrica, foi calculado o tamanho de partícula médio (PARROTT, 2001).

Os resultados obtidos para a ETA (Tabela 12, Figura 8 e Figura 9) demonstram que não houve diferença significativa quando se utiliza ou não a adição do SiO_2 para realização do ensaio, apresentando tamanho médio das partículas de 169,92 μm e 170,16 μm (sem e com adição de SiO_2 , respectivamente). Os resultados demonstram também que 90% das partículas

teriam um tamanho inferior a um valor entre 250 μm e 355 μm , e 10% das partículas teriam um tamanho inferior a um valor entre 75 μm e 106 μm . Pelos gráficos é visível uma distribuição bimodal do tamanho.

Tabela 12 - Resultados de distribuição granulométrica antes do processo de redução de tamanho de partículas.

Abertura da malha da peneira	ETA		ETA + SiO ₂	
	% Retida	% Acumulada	% Retida	% Acumulada
355 μm	1,80	1,80	1,80	1,80
250 μm	10,56	12,36	12,87	14,67
180 μm	25,95	38,30	23,22	37,89
150 μm	14,87	53,18	13,67	51,56
106 μm	26,27	79,45	27,06	78,62
75 μm	17,43	96,88	16,15	94,76
Passou por 75 μm^*	2,60	99,48	5,23	100,00
Média		169,92 μm		170,16 μm

*Representa a quantidade retida no recipiente abaixo da peneira 75 μm , conhecido corriqueiramente como “prato”

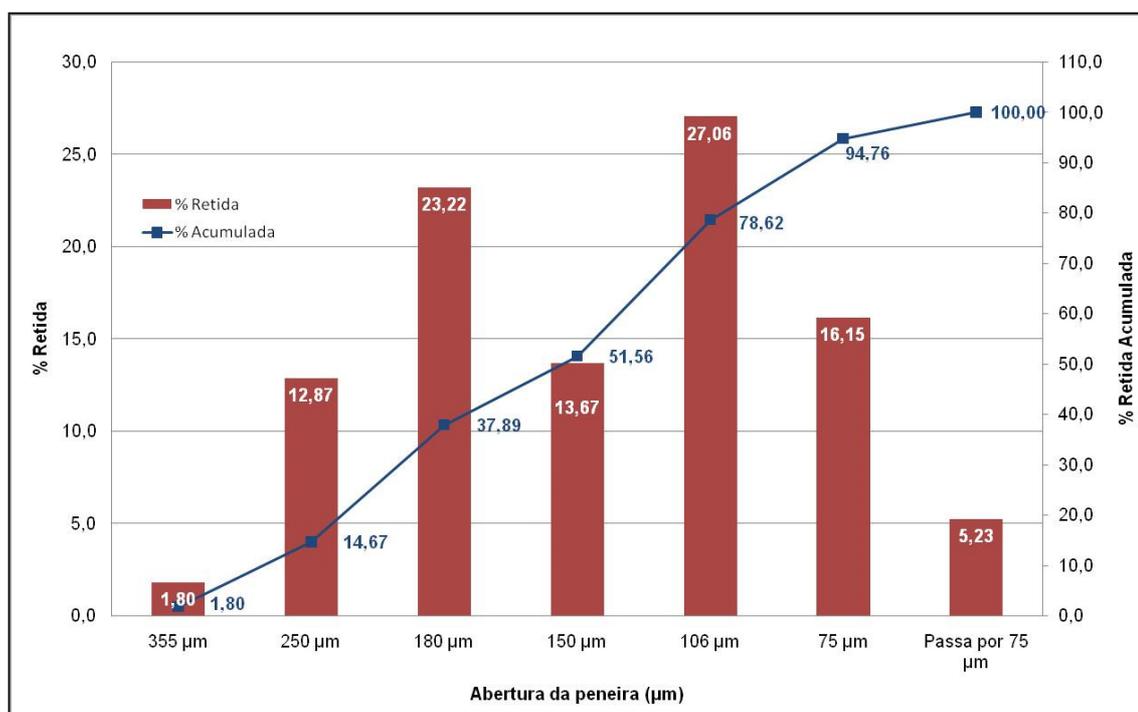


Figura 8 - Distribuição granulométrica da Etionamida antes do processo de redução de tamanho de partículas (ETA) sem adição de SiO₂.

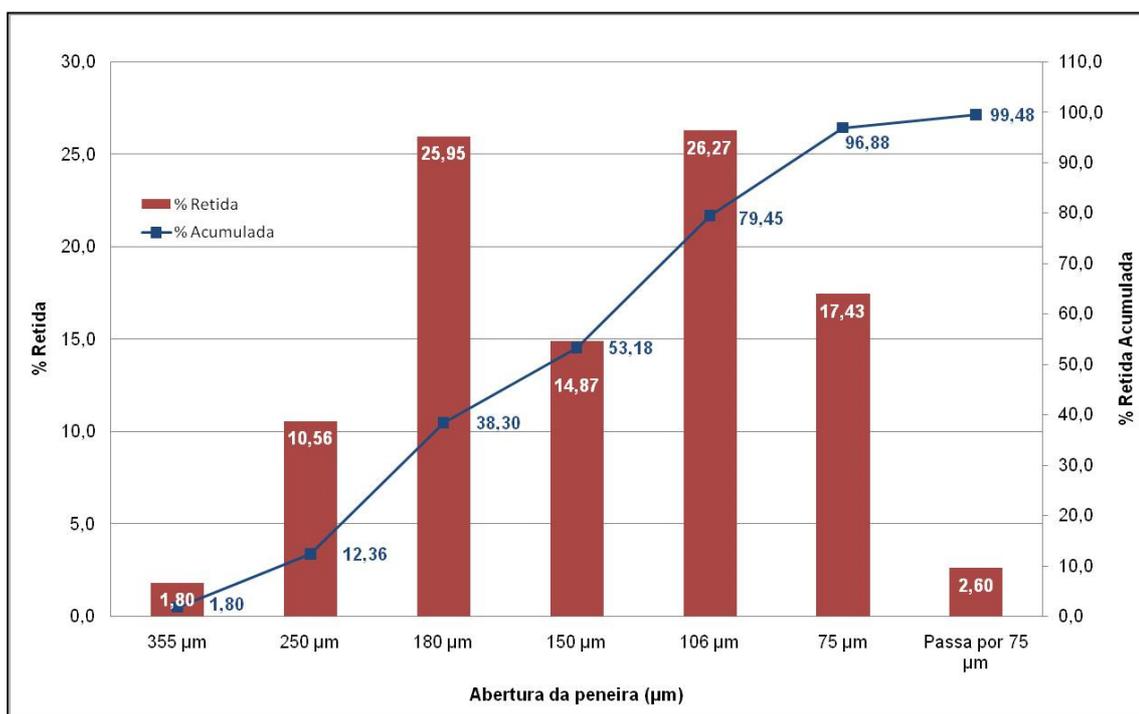


Figura 9 - Distribuição granulométrica da Etionamida antes do processo de redução de tamanho de partículas (ETA) com adição de SiO₂.

Os resultados obtidos para a ETA-MOÍDA (Tabela 13, Figura 10 e Figura 11) demonstram uma diferença significativa quando se utiliza ou não a adição do SiO₂ para realização do ensaio, apresentando tamanho médio das partículas de 91,64 μm e 52,60 μm (sem e com adição de SiO₂, respectivamente). Esta diferença poderia ser explicada pela aglomeração das partículas de ETA-MOÍDA observada nas peneiras no ensaio sem a adição do SiO₂ (Figura 12). Esta aglomeração poderia estar associada a uma maior adsorção de umidade devido ao aumento da área superficial da amostra promovido pela redução do tamanho das partículas e uma energia estática obtida após o processo de moagem devido ao atrito gerado pelo mesmo (JOSHI, 2011). A primeira hipótese, maior adsorção de umidade, poderia ser descartada já que os resultados de umidade e materiais voláteis obtidos por perda por dessecação, Karl Fisher e TGA, para a ETA-MOÍDA, se mostraram significativamente baixos (0,03 %, 0,03% e 0,004%, respectivamente). Portanto, a segunda hipótese, ganho de energia estática seria a mais viável de explicar esta aglomeração, porém este parâmetro não foi avaliado neste trabalho para confirmação da mesma. Por fim, os parâmetros de execução do método em questão (amplitude e tempo de agitação) não foram suficientes para promover a desaglomeração das partículas. Esta aglomeração não foi observada, a olho nu, no ensaio com a adição do SiO₂, levando à

conclusão de que este promoveria um resultado mais realista da distribuição do tamanho de partícula.

Tabela 13 - Resultados de distribuição granulométrica, da Etionamida, após o processo de moagem (ETA-MOÍDA).

Abertura da malha da peneira	ETA-MOÍDA		ETA-MOÍDA + SiO ₂	
	% Retida	% Acumulada	% Retida	% Acumulada
125 µm	8,78	8,78	1,60	1,60
106 µm	18,68	27,46	2,72	4,32
75 µm	51,26	78,72	9,84	14,16
53 µm	9,78	88,50	14,56	28,72
45 µm	7,66	96,17	20,64	49,36
38 µm	3,83	100,00	38,56	87,92
Passou por 38 µm*	0,00	100,00	10,08	98,00
Média	91,64 µm	---	52,60 µm	---

*Representa a quantidade retida no recipiente abaixo da peneira 38 µm

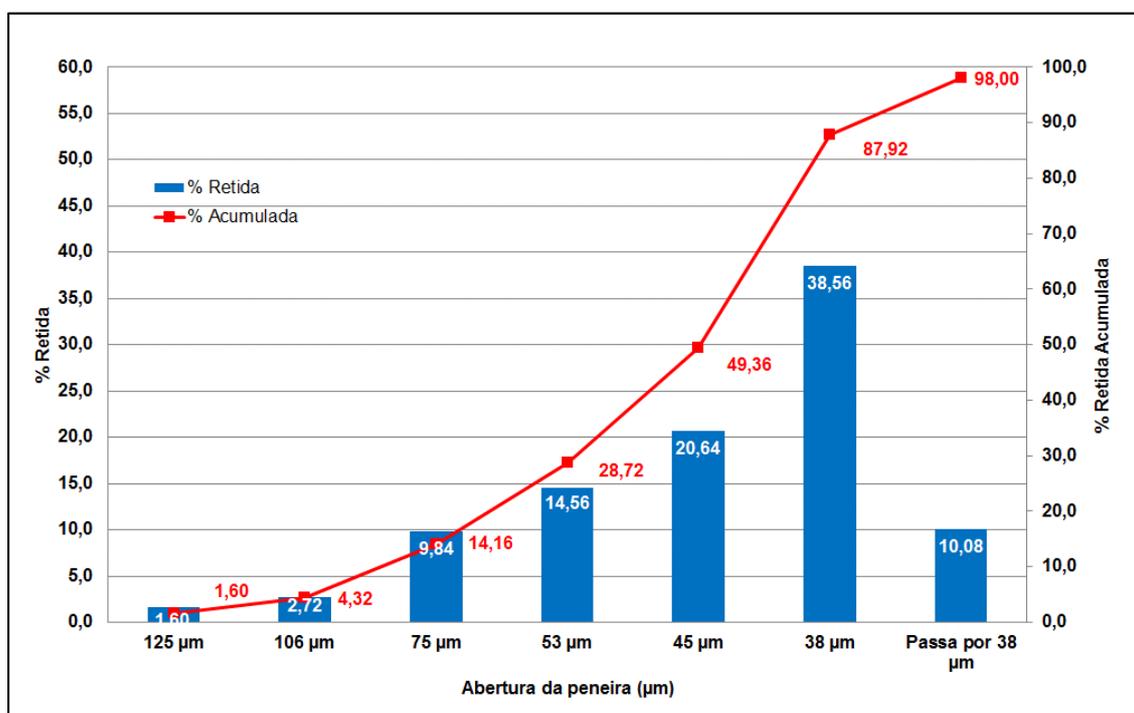


Figura 10 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de moagem (ETA-Moída) sem adição de SiO₂

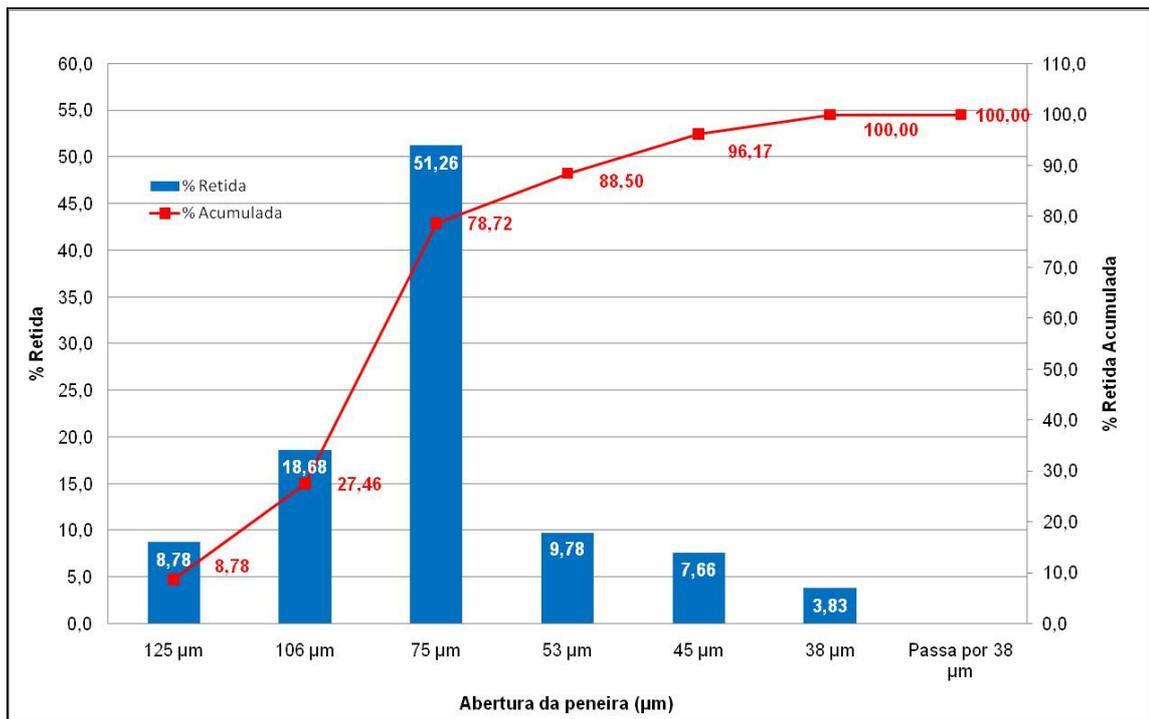


Figura 11 - Distribuição granulométrica, da Etionamida, após do processo de moagem (ETA-Moída) com adição de SiO_2

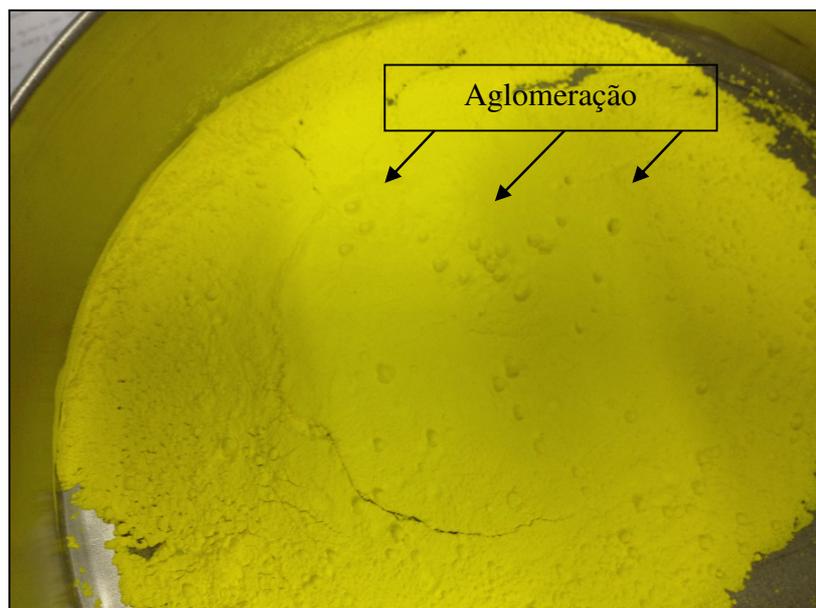


Figura 12 – Peneira com abertura de malha de 75 μm . Ensaio de distribuição granulométrica da ETA-Moída sem adição de SiO_2

Portanto, considerando-se somente os resultados do ensaio com a adição do SiO₂, pode-se sugerir que o tamanho médio das partículas de ETA-MOÍDA seria de 52,60 µm, sendo que 90% das partículas teriam um tamanho inferior a um valor entre 75 µm e 106 µm, e 10% das partículas teriam um tamanho inferior a 38 µm.

Os resultados obtidos para a ETA-MICRO (Tabela 14, Figura 13 e Figura 14) também demonstram uma diferença significativa quando se utiliza ou não a adição do SiO₂ para realização do ensaio, mas não tão grande quando comparado ao resultado da ETA-MOÍDA, apresentando tamanho médio das partículas de 128,04 µm e 117,64 µm (sem e com adição de SiO₂, respectivamente). Porém, neste caso foi possível observar, a olho nu, aglomeração das partículas de ETA-MICRO nas peneiras (Figura 15), em ambas as condições de ensaio (com e sem a adição do SiO₂). A causa desta aglomeração pode ser a mesma discutida anteriormente para a ETA-MOÍDA, porém com maior intensidade para a ETA-MICRO, não sendo suficiente a adição do SiO₂ para mitigá-la neste caso. Portanto, qualquer tentativa de concluir sobre parâmetros relacionados à distribuição do tamanho das partículas levaria a valores que certamente não representariam a realidade da amostra em questão.

Tabela 14 - Resultados de distribuição granulométrica, da Etionamida, após o processo de micronização (ETA-MICRO)

Abertura da malha da peneira	ETA-MICRO		ETA-MICRO + SiO ₂	
	% Retida	% Acumulada	% Retida	% Acumulada
125 µm	63,84	63,84	35,69	35,69
106 µm	31,6	95,44	47,88	83,57
75 µm	3,84	99,28	13,49	97,06
53 µm	0,36	99,64	1,30	98,36
45 µm	0,12	99,76	0,40	98,76
38 µm	0,00	99,76	0,04	98,80
Passou por 38 µm*	0,00	99,76	0,00	98,80
Média	128,04µm	---	117,64µm	---

*Representa a quantidade retida no recipiente abaixo da peneira 38 µm

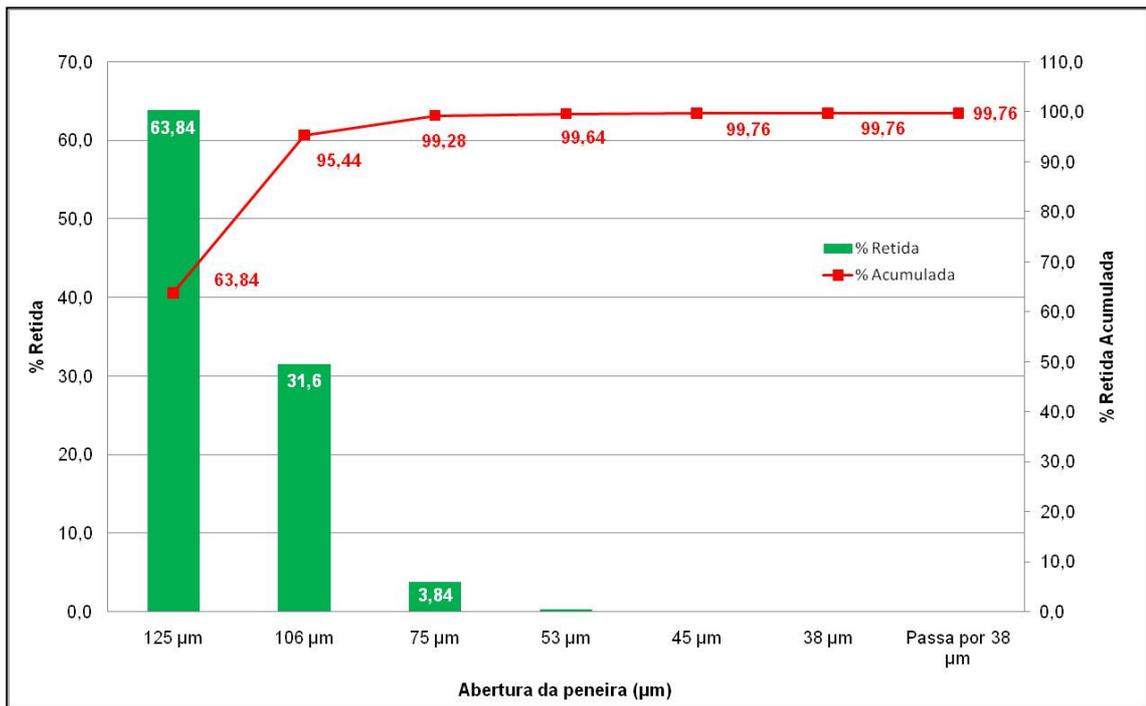


Figura 13 - Distribuição granulométrica da Etionamida, após do processo de micronização (ETA-MICRO) sem adição de SiO₂

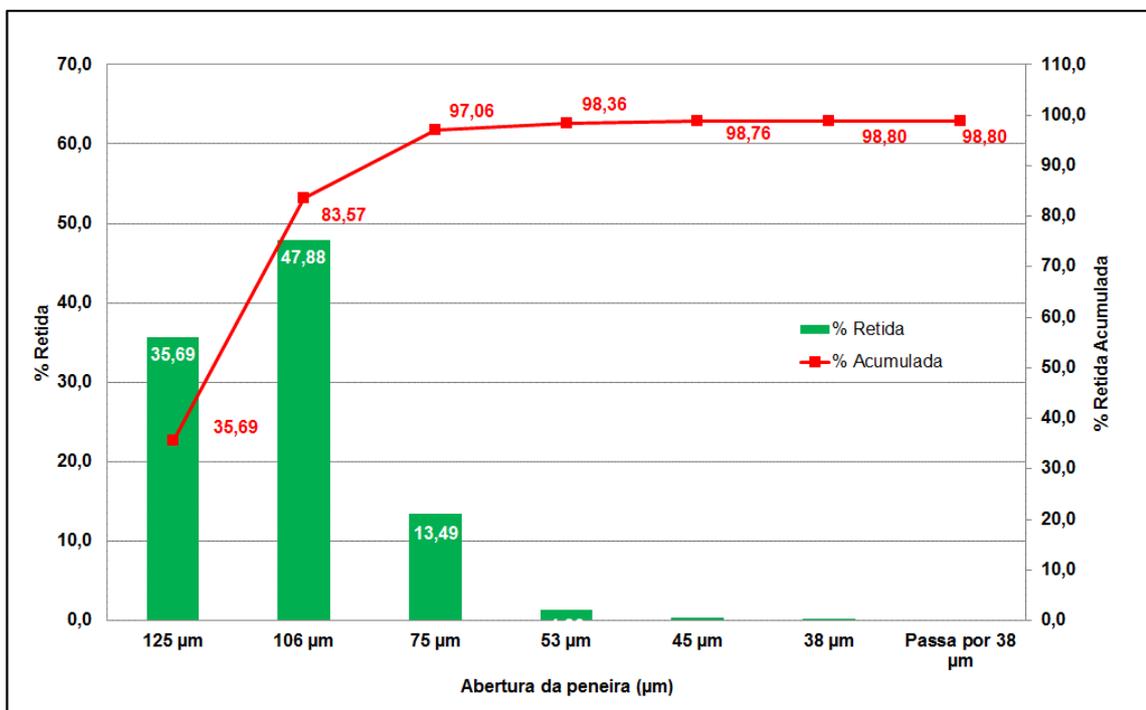


Figura 14 - Distribuição granulométrica da Etionamida, após do processo de micronização (ETA-MICRO) com adição de SiO₂

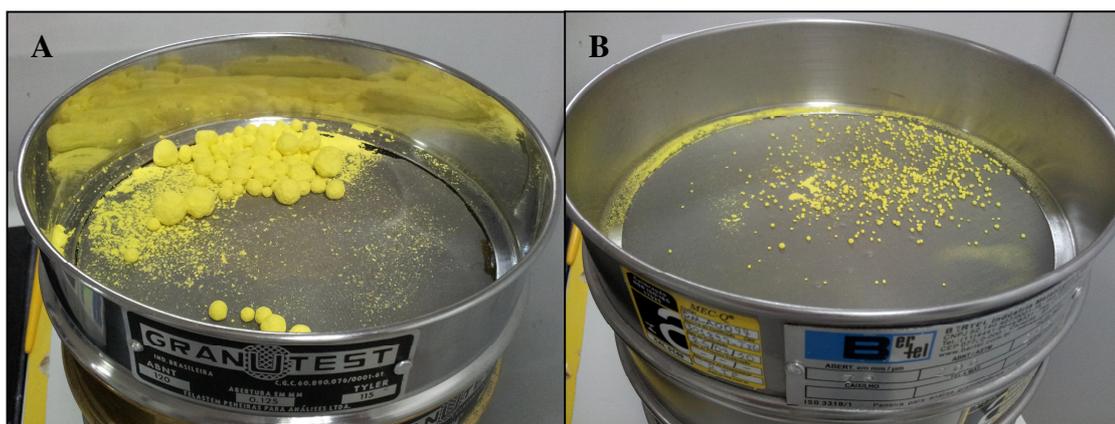


Figura 15 – Peneira com abertura de malha de 125 µm (A) e 75 µm (B). Ensaio de distribuição granulométrica da ETA-MICRO sem adição de SiO₂

5.1.2.3.2 Determinação da distribuição granulométrica por difração de LASER (LDS)

Assim como esperado, a técnica de tamisação não foi adequada para a análise de pós micronizados, devendo-se lançar mão, neste caso, de outra ferramenta analítica, a difração de LASER.

As análises de distribuição granulométrica por difração de LASER foram realizadas conforme descrito no item 4.2.2.3.2, e os resultados estão apresentados na Tabela 15 e na Figura 16, Figura 17 e Figura 18.

Os resultados obtidos para ETA demonstram baixa variação entre as replicatas ($n=5$), com valor de desvio padrão relativo (DPR) dentro dos limites estabelecidos pela USP 36 (d_{10} e $d_{90} \leq 15\%$ e $d_{50} \leq 10\%$). Comparando os resultados de distribuição granulométrica obtidos pelo método de agitação de peneiras e difração de LASER, pode-se verificar valores de tamanho de partícula significativamente diferentes; por exemplo, obteve-se um valor de diâmetro médio ($d_{\text{médio}}$) igual a 170,16 µm (amostra com adição de SiO₂) pelo método de agitação de peneiras e um $d_{\text{médio}} = 272,320$ µm pelo método de difração de LASER. Além do $d_{\text{médio}}$, pode-se também evidenciar essa diferença caso se considere que pelo método de agitação por peneiras 90% das partículas seriam inferiores a um valor entre 250 µm e 355 µm e pelo método de difração de LASER 90% das partículas teriam tamanho de até 544,640 µm ($d_{90} = 544,640$ µm). Comparando os resultados obtidos com as microfotografias obtidas na análise de morfologia, tanto por MO quanto por MEV, pode-se evidenciar que a ETA utilizada possui tamanho de partícula mais condizente com os valores obtidos pelo método de difração de LASER.

Os resultados obtidos para ETA-MOÍDA também demonstram baixa variação entre as replicatas (n=5), porém evidencia-se uma distribuição mais dispersa e menos homogênea quando observada graficamente (Figura 16 e Figura 17) e comparados os valores do índice de dispersividade (span) da mesma com a ETA (span = 2,168 para ETA e 3,356 para ETA-MOÍDA). Os valores obtidos também diferem dos valores encontrados pelo método de agitação por peneira, porém, em uma magnitude menor do que a diferença observada para a ETA. Neste caso, quando comparados os resultados de ambos os métodos, obteve-se um valor de diâmetro médio ($d_{\text{médio}}$) igual a 52,60 μm (amostra com adição de SiO_2) pelo método de agitação de peneiras e um $d_{\text{médio}} = 46,690 \mu\text{m}$ pelo método de difração de raios LASER. Adicionalmente, pode-se também evidenciar essa menor diferença entre os métodos quando se observa que pelo método de agitação por peneiras 90% das partículas da ETA-MOÍDA seriam inferiores a um valor entre 75 μm e 106 μm e pelo método de difração de LASER 90% das partículas teriam tamanho de até 113,260 μm ($d_{90} = 113,260 \mu\text{m}$).

Já os resultados obtidos para ETA-MICRO demonstraram alta variação entre as replicatas (n=5), com DPR acima dos limites estabelecidos pela USP 36. Esta variação pode também ser evidenciada graficamente (Figura 18) e pelo maior valor de span (8,318) quando comparado com os valores obtidos para ETA e ETA-MOÍDA. Este fato pode ser explicado pelo alto grau de aglomeração das partículas, evidenciado na análise pelo método de agitação de peneiras, o que indica que o método de dispersão utilizado (método seco) para análise de difração de LASER ou os parâmetros de análise utilizados não foram capazes de dispersar totalmente as partículas aglomeradas, medindo as mesmas como se fossem uma única partícula. Quanto aos parâmetros utilizados (quantidade de amostra e vácuo), algumas análises complementares foram realizadas variando os mesmos dentro dos limites disponíveis no equipamento utilizado, porém obtendo-se o mesmo padrão de resultados. Portanto, para análise da ETA-MICRO seria mais indicado a utilização do método úmido com dispersão das partículas realizada em um líquido adequado, porém o equipamento utilizado não dispunha deste aparato. Farmanguinhos possui um equipamento com o módulo líquido de dispersão de amostras, não estando disponível no período de realização deste trabalho para análise das amostras. No futuro, este equipamento será utilizado e um estudo mais detalhado para desenvolvimento e validação de um método para análise da ETA será realizado.

Tabela 15 - Distribuição granulométrica por difração de LASER, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO

	ETA µm (DPR %)^b	ETA-MOÍDA µm (DPR %)^b	ETA-MICRO µm (DPR %)^b
d_{médio}	272,320 (2,254)	46,690 (1,386)	27,474 (23,195)
d_{moda}	203,500 (0,000)	50,484 (10,896)	8,385 (4,059)
d₁₀	79,578 (1,479)	4,784 (4,212)	1,713 (12,714)
d₅₀	214,440 (0,855)	32,322 (1,714)	10,293 (13,524)
d₉₀	544,640 (3,227)	113,260 (1,221)	78,994 (34,308)
span	2,168 (3,030)	3,356 (1,150)	8,318 (18,961)

DPR % = desvio padrão relativo (n = 5)

A moagem ou a micronização diminuiu o tamanho de partícula, apenas confirmando o resultado esperado. Houve, entretanto, um aumento nos valores de dispersão dos tamanhos de partícula e, como complicador, os valores de desvio padrão também se mostraram extremamente altos. Isso pode ser um sinal de que o processo é eficaz, mas poderia ou deveria ser realizado por um tempo maior, o que provavelmente contribuiria para a uniformização do tamanho de partículas, diminuindo sua dispersão, o que seria detectado por menores valores de span. Há de se atentar, todavia, para o risco de alteração de fase cristalina no caso de prolongamento excessivo do processo. Logo, é possível concluir que os processos de cominuição aqui empregados são realmente efetivos na redução da granulometria das amostras, mas precisam ainda ser parametrizados em um estudo à parte.

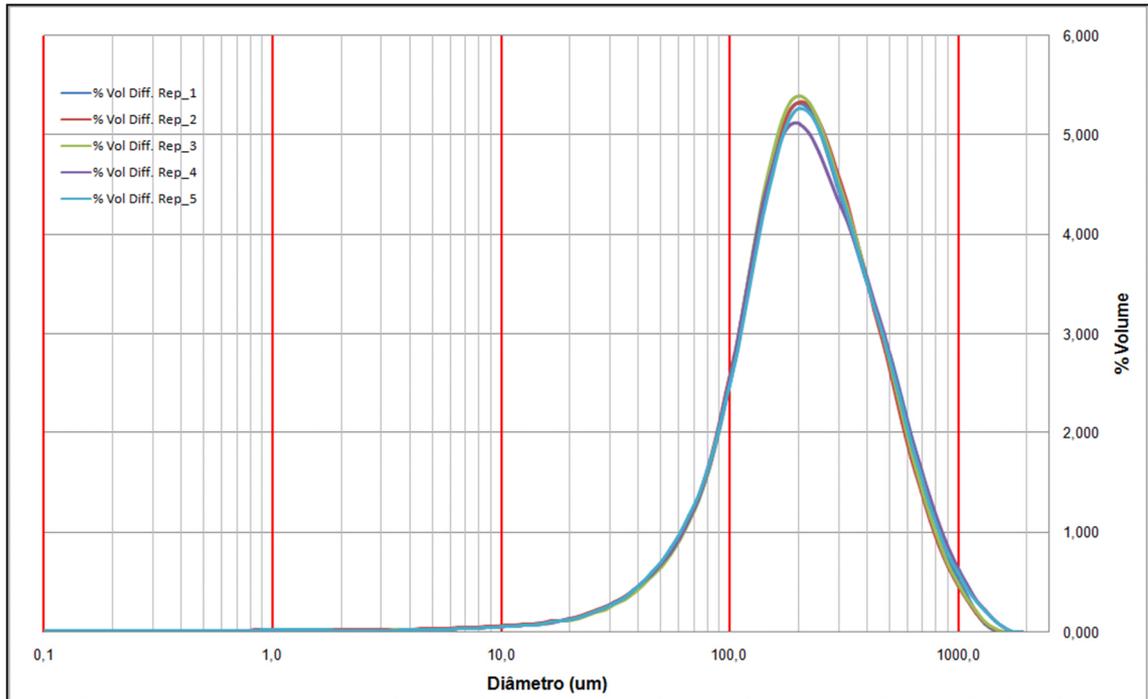


Figura 16 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA

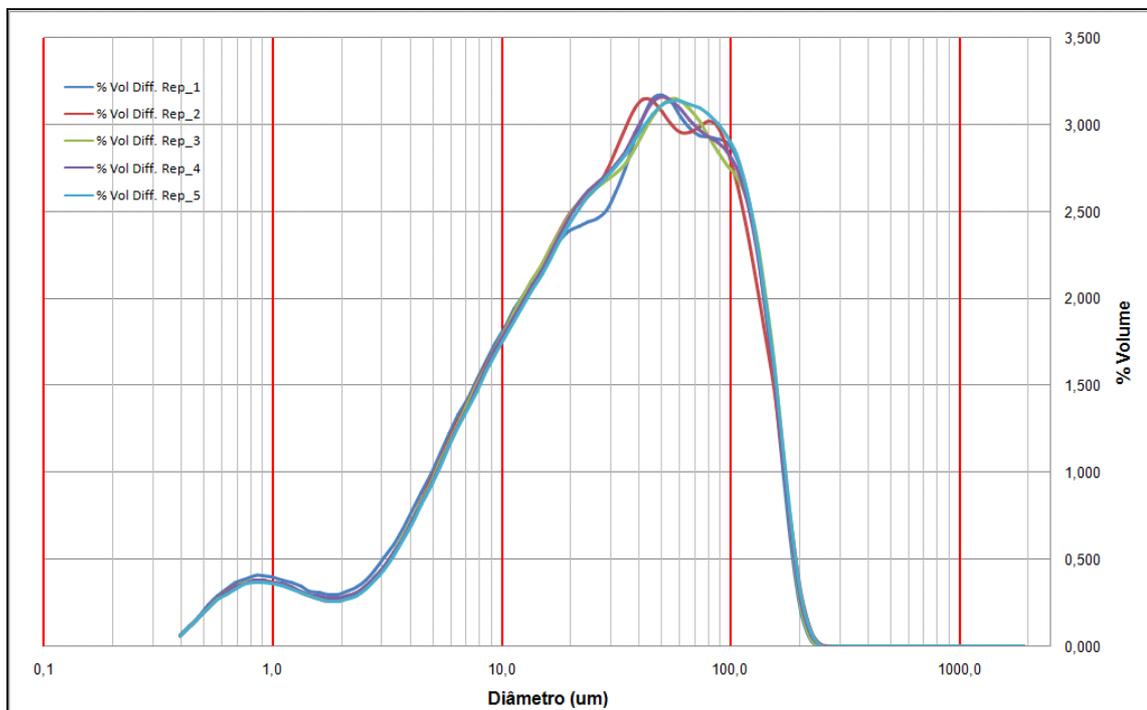


Figura 17 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA-MOÍDA

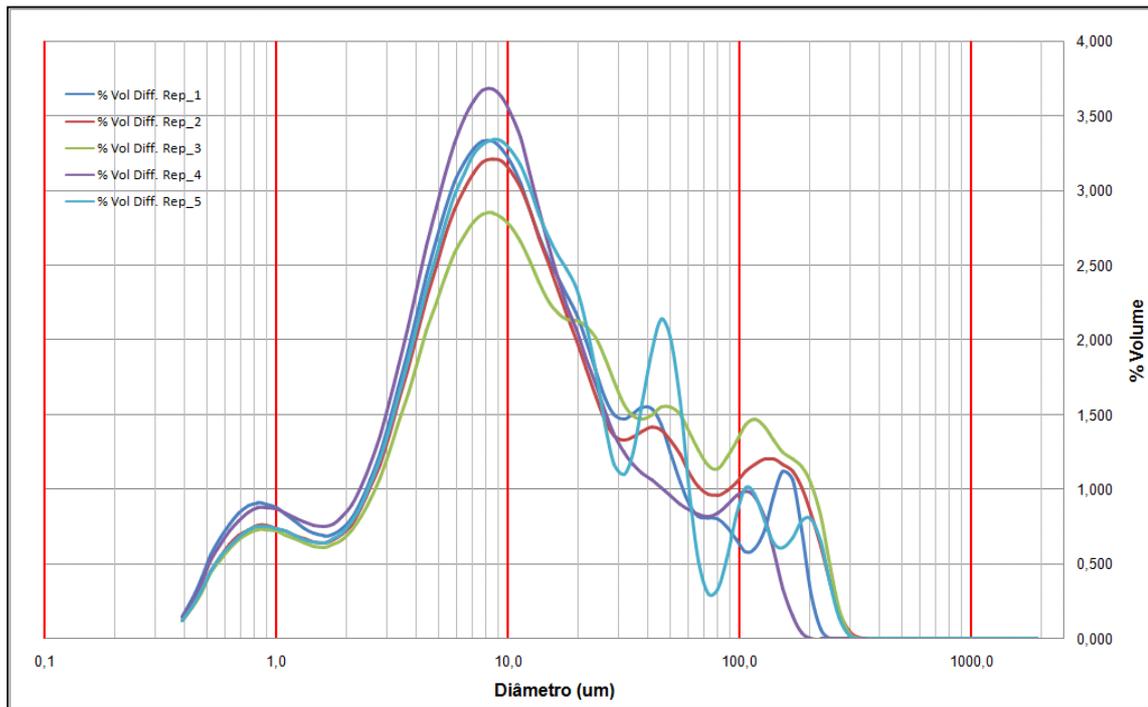


Figura 18 - Distribuição granulométrica por difração de LASER das 05 replicatas (Rep) da amostra de ETA-MICRO

5.1.2.4 Avaliação morfológica

As análises de morfologia, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica (MO), foram realizadas conforme descrito no item 4.2.2.4, e os resultados estão apresentados na Figura 19 e na Figura 20.

As microfotografias obtidas demonstram que os processos de moagem e micronização foram eficientes, reduzindo significativamente o tamanho das partículas em relação à amostra inicial.

Observa-se que a ETA possui partículas extremamente grandes, comparando o tamanho das mesmas frente às escalas das microfotografias, algumas com tamanho superior a 500 μm , em consonância com o resultado de d_{90} igual a 544,640 μm obtido nas análises de distribuição granulométrica por difração de LASER. As partículas apresentam-se em sua maioria na forma prismática ou tabular (FIESE, 2001).

As microfotografias da ETA-MOÍDA demonstram a obtenção de partículas de forma bastante irregular, ainda encontrando em pequena quantidade partículas prismáticas maiores, provavelmente provenientes da amostra original (ETA) que não foram quebradas no processo de moagem. Porém, pode-se concluir que a maior parte das partículas possui tamanho menor

do que 100 μm , validando de certa forma o valor de d_{90} igual a 113,260 μm obtido nas análises de distribuição granulométrica por difração de LASER.

As imagens obtidas para a ETA-MICRO demonstram também a obtenção de partículas bastante irregulares de difícil definição morfológica, aparentemente não se encontrando nenhuma com tamanho maior do que 50 μm . Este fato confirma a possível inadequação do método utilizado para análise de distribuição granulométrica por difração de LASER para esta amostra, como discutido anteriormente, onde se obteve um valor de d_{90} igual a 78,994, reforçando a importância da utilização de métodos complementares para validar as conclusões relativas ao tamanho de partículas de uma amostra.

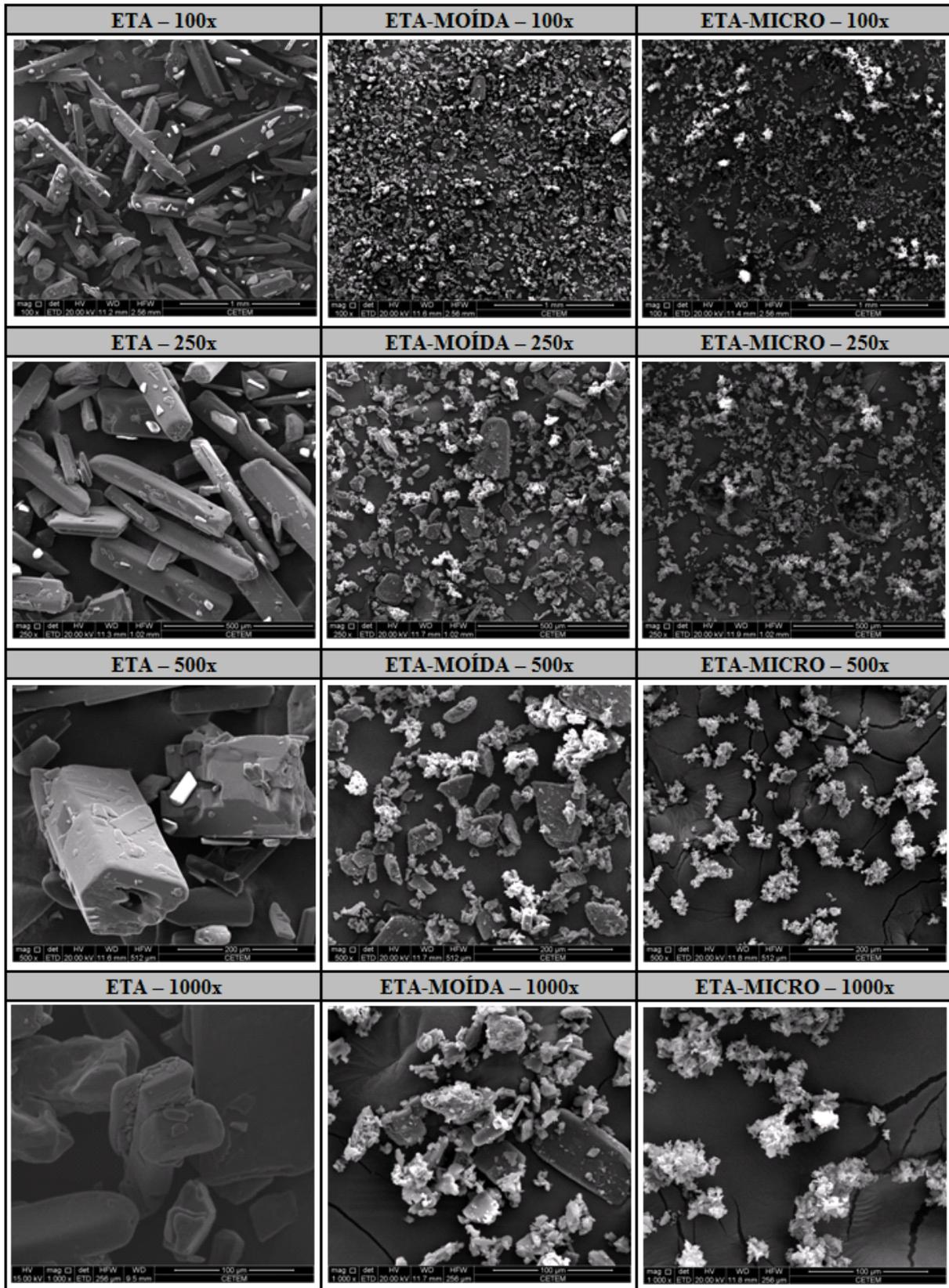


Figura 19 - Microfotografias obtidas por MEV de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (100x, 250x, 500x e 1000x)

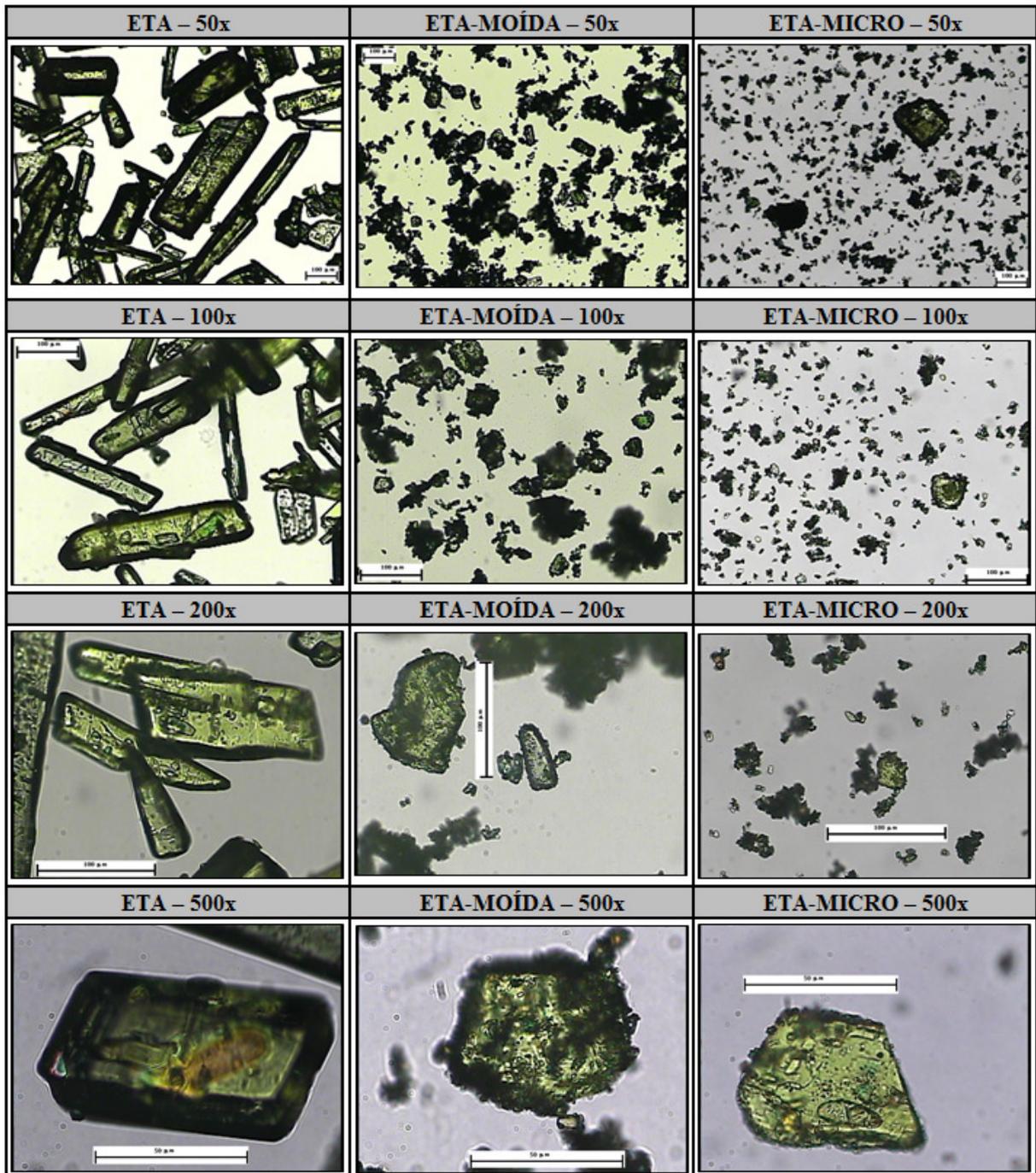


Figura 20 - Microfotografias obtidas por MO de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (50x e 100x). A escala mencionada nas imagens de 50x, 100x e 200x é de 100 µm, e nas imagens de 500x é de 50 µm.

5.1.2.5 Análise térmica da ETA

5.1.2.5.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As amostras de ETA foram submetidas aos ensaios de DSC em três taxas de aquecimento: 2,5 K.min⁻¹, 10 K.min⁻¹ e 40 K.min⁻¹. Na taxa de 40 K.min⁻¹ (Figura 21), as curvas de DSC não demonstraram diferenças significativas entre as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, apresentando apenas um evento endotérmico com picos de base larga. Já para a taxa de 2,5 K.min⁻¹ (Figura 22), as curvas de DSC não demonstram a mesma similaridade, identificando-se dois eventos endotérmicos para ETA e apenas um evento endotérmico para a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, com picos mais finos. Finalmente, para a taxa de 10 K.min⁻¹ (Figura 23), as curvas de DSC demonstraram uma similaridade entre a ETA e a ETA-MICRO, com dois eventos endotérmicos evidentes, e apenas um evento endotérmico para a ETA-MICRO.

A partir das curvas de DSC, na taxa de 10 K.min⁻¹, foram obtidos através de cálculos efetuados pelo software do equipamento, os parâmetros relativos aos eventos endotérmicos identificados (Tabela 16).

Os valores, apresentados na Tabela 16, de $T_{Onset-1}$, T_{pico-1} e $T_{Endset-1}$ para o primeiro evento endotérmico, não demonstram uma grande diferença para T_{pico-1} e $T_{Endset-1}$ entre a ETA e ETA-MOÍDA, porém uma diferença de 5,59 °C para $T_{Onset-1}$, aparentemente significativa. Já os valores de $T_{Onset-2}$, T_{pico-2} e $T_{Endset-2}$ para o segundo evento endotérmico não demonstram grande diferença entre as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

Noonam (2012), estudou as propriedades físico-químicas da ETA recristalizada em um grande número de solventes e também identificou a presença de dois eventos endotérmicos nas análises de DSC das amostras ensaiadas, coincidindo com os eventos obtidos para a ETA e ETA MOÍDA, com exceção de uma amostra de ETA recristalizada em iso-propanol, apresentando esta última apenas um evento endotérmico na mesma região de temperatura obtida para a ETA-MICRO. Em seu trabalho, Noonam sugere que as diferenças entre as curvas estariam relacionadas a diferentes hábitos e não a diferentes arranjos moleculares dentro da estrutura cristalina, o que caracterizaria diferentes polimorfos. Esta hipótese foi confirmada através da avaliação das amostras por outras técnicas (DRX de pó e FTIR), que não demonstraram diferenças entre as amostras. De forma análoga a Noonam, pode-se também

sugerir, no presente trabalho, que as diferenças entre as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO não poderiam caracterizar, inicialmente, alteração da forma cristalina provocada pelos processos de redução de tamanho de partícula. A diferença de morfologia é evidente nas análises de MO e MEV dos cristais de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, já discutidas no item anterior, e a confirmação da não alteração da estrutura interna será discutida mais adiante neste trabalho, a partir dos resultados das técnicas complementares ao DSC (DRX de pó, FT-IR e FT-NIR).

Tabela 16 - Parâmetros obtidos a partir das curvas de DSC na taxa de aquecimento de 10 K.min⁻¹, para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO

Parâmetros ^a	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
T _{Onset-1} (°C)	154,86	160,45	ND ^a
T _{pico-1} (°C)	162,30	162,55	ND
T _{Endset-1} (°C)	162,64	163,67	ND
T _{Onset-2} (°C)	163,91	164,08	162,31
T _{pico-2} (°C)	164,72	164,54	163,46
T _{Endset-2} (°C)	172,75	171,46	170,60

^aMédia de duas corridas; ^bND = Não detectado

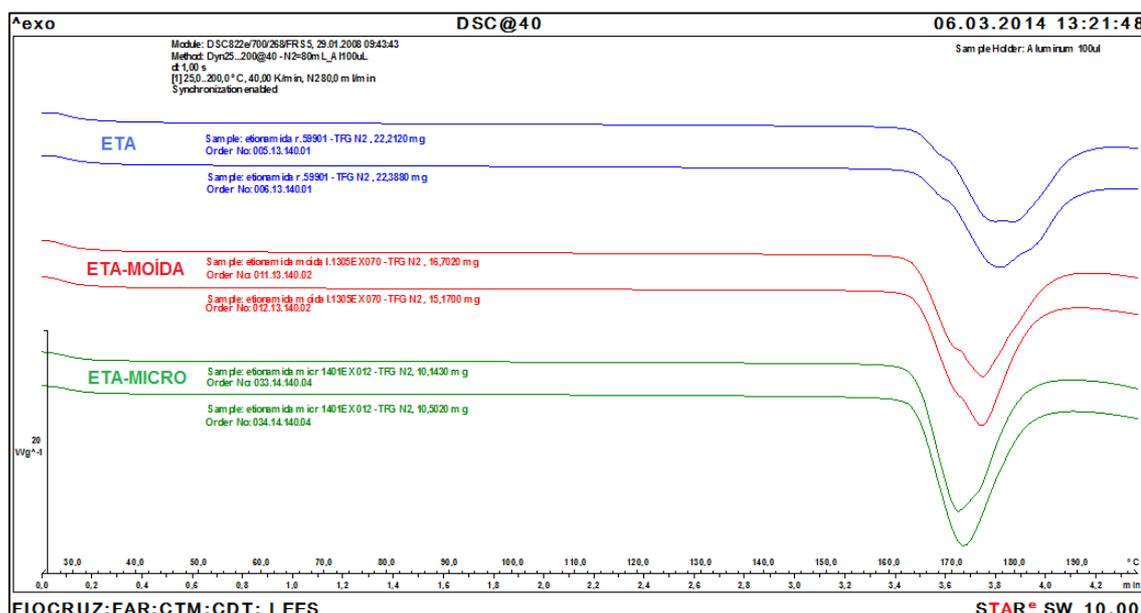


Figura 21 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 40 K.min⁻¹, 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min⁻¹.

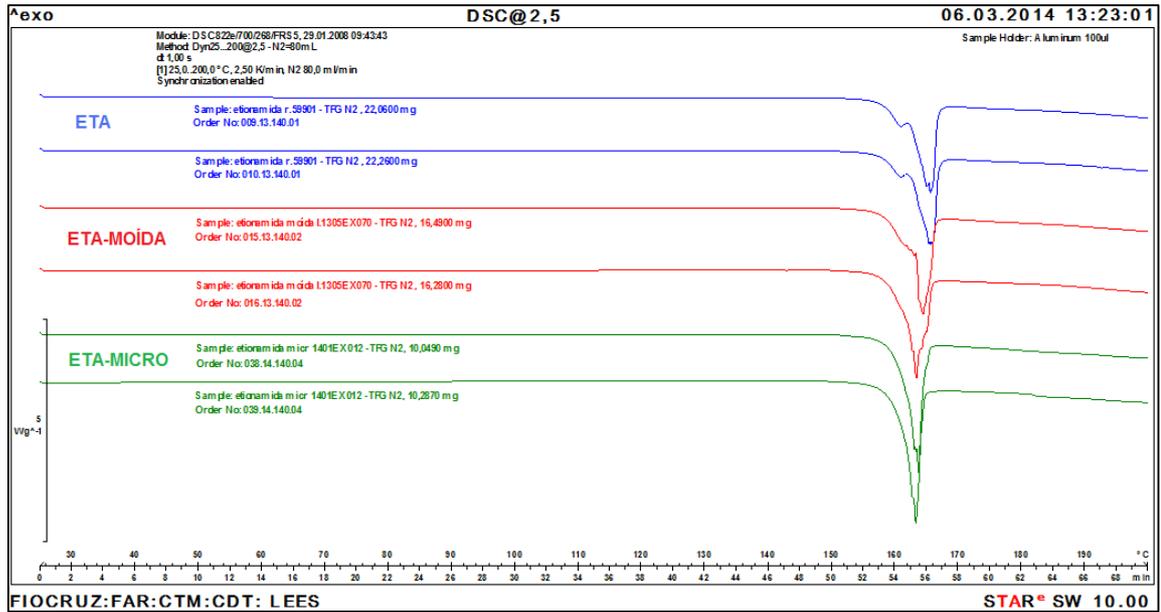


Figura 22 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 2,5 K.min⁻¹, 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min⁻¹.

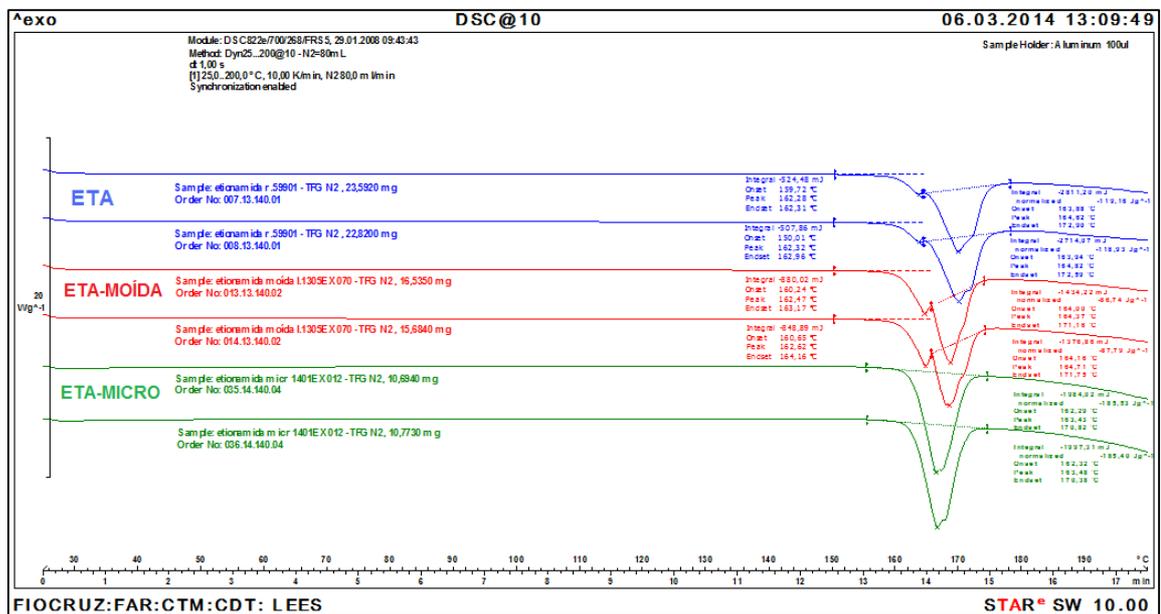


Figura 23 – Curvas de DSC das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 10 K.min⁻¹, 25 °C a 200°C, Nitrogênio a 80 mL.min⁻¹.

5.1.2.5.2 Análise termogravimétrica (TGA)

As curvas de TGA obtidas (Figura 24) não demonstraram diferenças significativas entre as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, sugerindo que o processo de redução de tamanho de partícula não alterou sua forma cristalina. Pode-se observar uma perda média de materiais voláteis, entre 25 °C e 150 °C, de 0,062% para a ETA, 0,004% para ETA-MOÍDA e 0,008% para ETA-MICRO, sugerindo que o processo de redução de tamanho de partícula não provocou a formação de solvatos já que a perda de materiais voláteis para a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO foi significativamente menor do que da ETA.

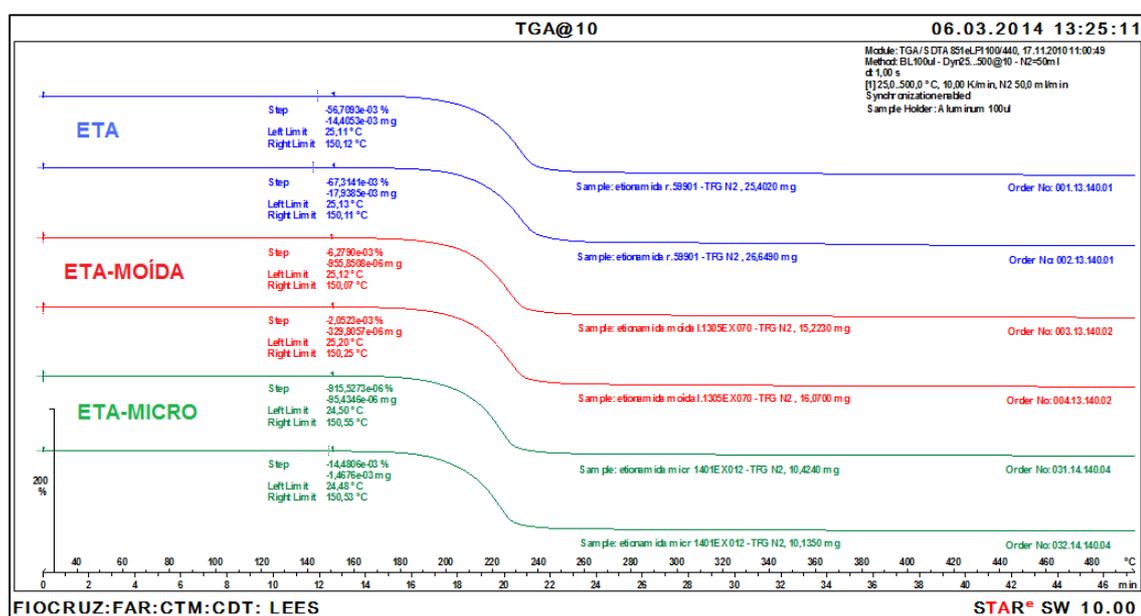


Figura 24 – Curvas de TGA das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Condições de análise: 10 K.min⁻¹, 25 °C a 1000°C, Nitrogênio a 50 mL.min⁻¹.

5.1.2.6 Difractometria de raios X de pó (DRXP)

Os padrões de difração obtidos para as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (Figura 25), demonstram uma similaridade na posição (2θ) dos picos obtidos, porém, com uma diferença significativa na intensidade dos mesmos. Noonam (2012), em seu estudo de recristalização da ETA também encontrou diferenças nas intensidades dos picos para os diversos cristais obtidos nos diferentes tipos de solventes utilizados. Porém, como as posições

dos picos coincidiram para todas as amostras Noonam conclui que não há diferença nos cristais obtidos. Portanto, nesta dissertação também é possível concluir que as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO não apresentam diferença cristalina. A diferença da intensidade dos picos pode ser explicada pelas diferenças do hábito cristalino e tamanho de partículas entre as amostras, principalmente da ETA em relação a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, que influencia na orientação dos cristais no porta-amostras do equipamento.

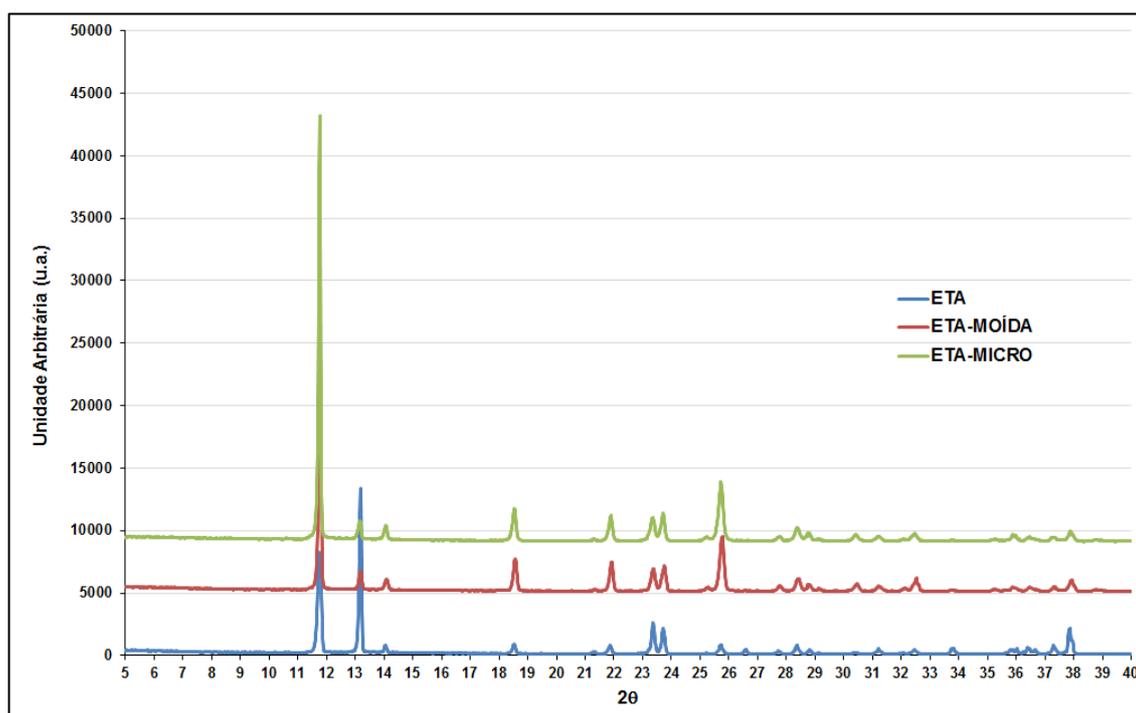


Figura 25 – Padrões de difração das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

5.1.2.7 Espectroscopia no infravermelho

Os espectros de FTIR obtidos (Figura 26) não demonstraram diferenças entre as amostras e também quando comparados visualmente ao da literatura apresentado anteriormente na Figura 2 (MOFFAT, 1986).

Os espectros de infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIR) obtidos (Figura 27) também não demonstraram alterações entre as amostras e quando comparados ao espectro de Etionamida padrão primário USP (lote HOB148), disponível na biblioteca do

equipamento utilizado, apresentaram valores de correlação iguais a 0,9921 para ETA, 0,9961 para ETA-MOÍDA e 0,9896 para ETA-MICRO.

Estes resultados sugerem que os processos de moagem e micronização não alteraram a estrutura química e cristalina interna da ETA, confirmados pelos demais métodos de caracterização e análises realizados neste trabalho.

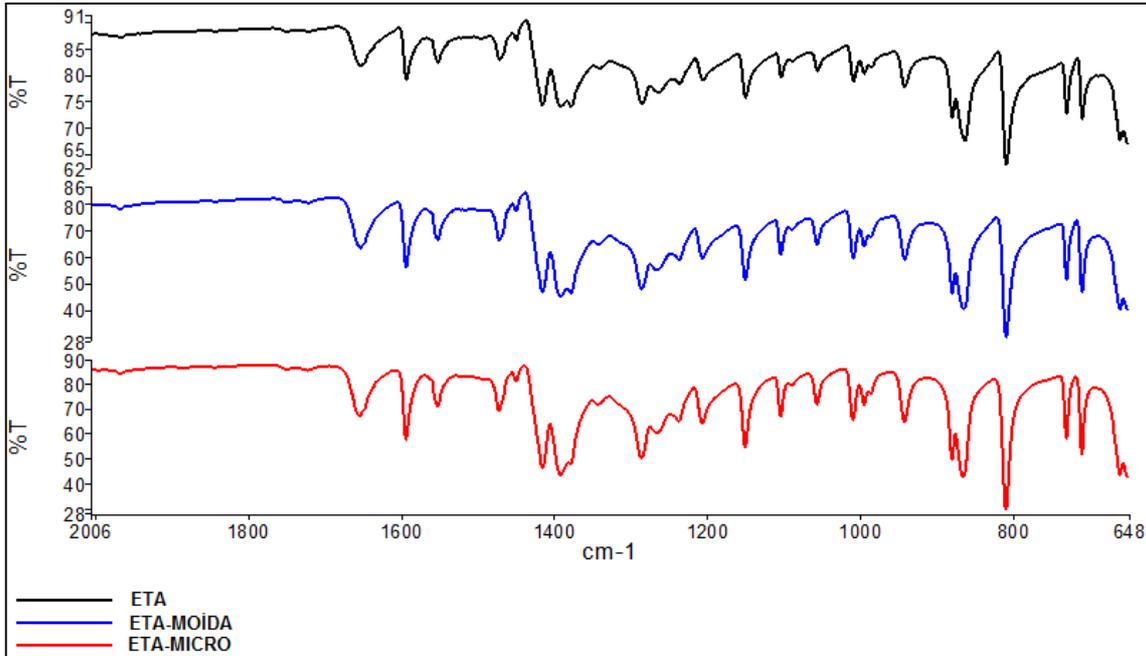


Figura 26 – Espectro de infravermelho médio (FT-IR) das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

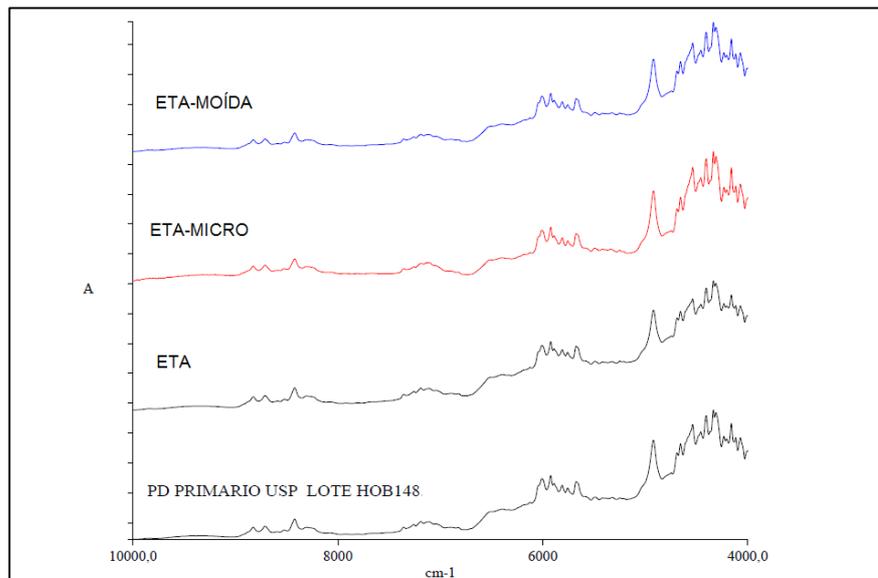


Figura 27 – Espectro de infravermelho próximo (FT-NIR) das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO frente a padrão primário USP.

5.1.2.8 Avaliação da molhabilidade

As análises de molhabilidade foram realizadas conforme descrito no item 4.2.2.8, e os resultados estão apresentados na Tabela 17 e Figura 28.

Os resultados demonstraram menor ângulo de contato, ou seja, melhor molhabilidade da ETA em relação a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO nas soluções tampões pH 6,8 e pH 4,5. Em HCl 0,1 N os resultados do ângulo de contato entre a ETA e ETA-MICRO não apresentaram grandes diferenças, sendo este menor do que da ETA-MOÍDA. Entre a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO os resultados nos tampões também não apresentaram grandes diferenças.

Entre as soluções utilizadas, os resultados indicam uma melhor molhabilidade das amostras com o decréscimo do pH. A ETA-MOÍDA apresentou valores de ângulo de contato semelhantes para os meios tampão acetato pH 4,5 e HCl 0,1 N pH 1,2, discrepante dos resultados obtidos para a ETA e ETA-MICRO.

Os resultados de ângulo de contato sugerem que a ETA teria melhor facilidade de romper a tensão superficial dos meios ensaiados e, portanto, no estudo de dissolução por dispersão, esta amostra teria maior facilidade de dispersão das partículas nos meios. Esta afirmação foi visualizada na prática durante a realização do ensaio de dissolução por dispersão, onde a ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, tendiam a ficar sobrenadantes nos meios de dissolução dificultando a solubilização das mesmas.

Tabela 17 - Ângulos de contato ($^{\circ}$) obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO

Solução	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	($^{\circ}$) (DPR %) ^a	($^{\circ}$) (DPR %) ^a	($^{\circ}$) (DPR %) ^a
Tampão Fosfato pH 6,8	62,3 (2,97)	68,2 (2,44)	68,5 (1,41)
Tampão Acetato pH 4,5	60,0 (2,60)	64,4 (1,95)	67,0 (1,08)
HCl 0,1 N pH 1,2	53,8 (3,26)	64,4 (1,84)	54,3 (1,67)

^aDPR (%) = desvio padrão relativo (n = 3).

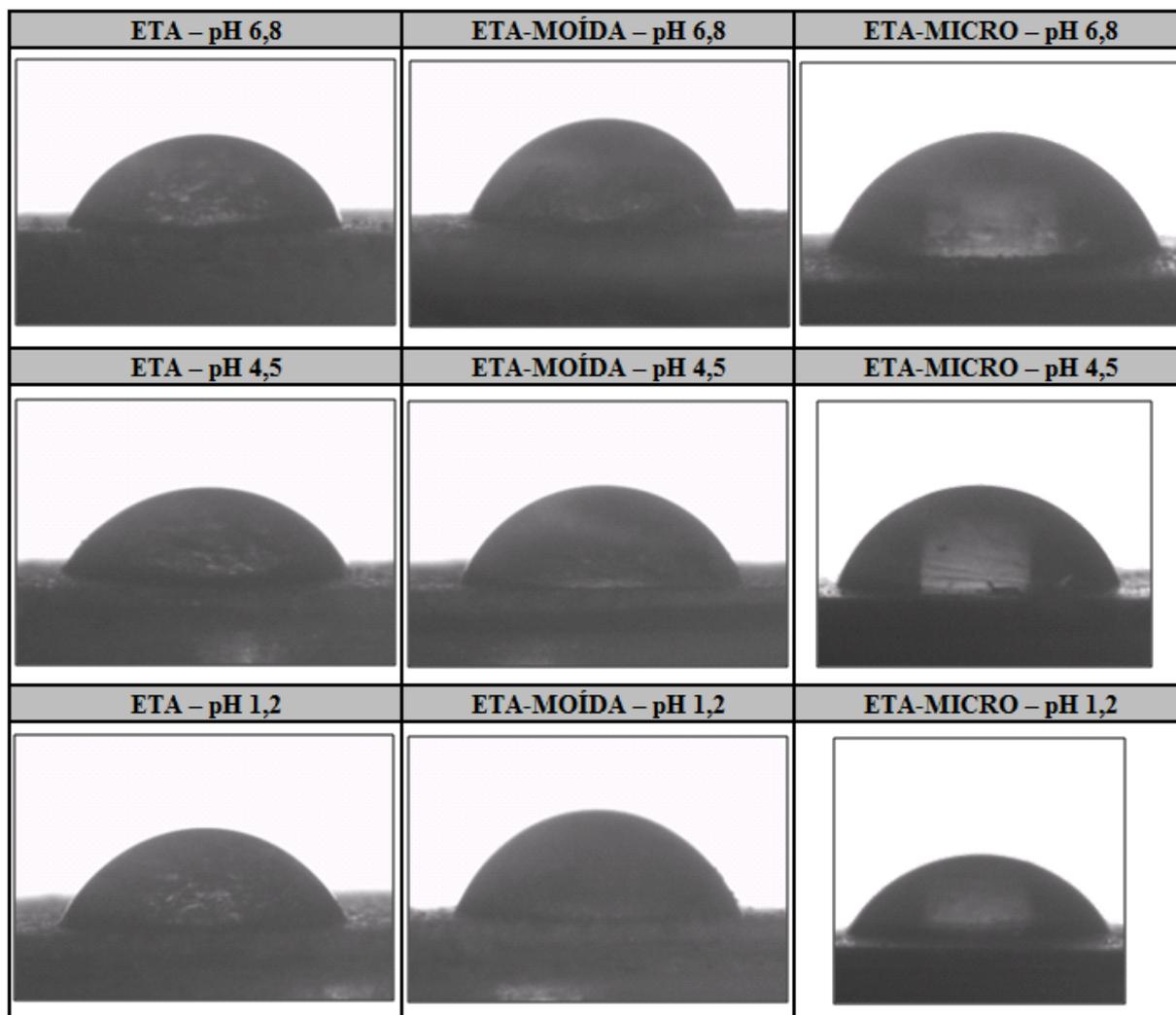


Figura 28 - Microfotografias obtidas no ensaio de ângulo de contato para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO (água, tampão fosfato pH6,8, tampão acetato pH 4,5 e HCl pH 1,2)

5.1.2.9 Ensaio de solubilidade da ETA

5.1.2.9.1 Curvas de calibração analíticas

As curvas de calibração analíticas foram preparadas conforme descrito no item 4.2.2.9.1, e os resultados estão apresentados na Tabela 18. Em todos os meios testados obteve-se linearidade adequada, já que todos os coeficientes lineares (R^2) obtidos apresentaram-se maiores ou iguais a 0,99, atendendo ao critério de aceitação de linearidade da legislação que trata de validação de métodos analíticos no Brasil, RDC 899/2003 (BRASIL, 2003).

Tabela 18 - Curvas analíticas obtidas para ETA

	HCl 0,1 N pH 1,2 (275 nm)	Tampão Acetato pH 4,5 (284 nm)	Tampão Fosfato pH 6,8 (288 nm)
Conc. (mg/mL)	ABS^a(DPR %)^b	ABS^a(DPR %)^b	ABS^a(DPR %)^b
0,0010	0,034 (11,765)	0,038 (8,534)	0,044 (5,763)
0,0015	0,059 (4,290)	0,064 (7,160)	0,076 (0,000)
0,0025	0,087 (7,178)	0,105 (6,667)	0,120 (4,099)
0,0050	0,178 (1,172)	0,206 (1,558)	0,241 (2,721)
0,0075	0,261 (2,768)	0,316 (1,199)	0,342 (7,884)
0,0100	0,357 (2,878)	0,420 (2,271)	0,485 (3,037)
0,0200	0,720 (2,410)	0,897 (4,565)	0,982 (0,561)
Equação	$y = 35,95x - 0,001$	$y = 44,90x - 0,012$	$y = 49,08x - 0,006$
R²	0,999	0,998	0,999

^aABS = Absorvância; ^bDPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

5.1.2.9.2 Ensaio de solubilidade da ETA em temperatura ambiente

Os ensaios de solubilidade foram realizados somente com ETA, conforme descrito no item 4.2.2.9.2, e os resultados estão apresentados na Tabela 19 e na Figura 29. Observa-se que em 6 horas já se atinge um valor de solubilidade que se mantém com pequenas variações até 48 horas de ensaio.

Os resultados obtidos demonstram que a solubilidade da ETA é dependente do pH podendo-se concluir que ela é mais solúvel em HCl 0,1 N (9,067 mg/mL em 48 horas), seguido do tampão acetato pH 4,5 (0,924 mg/mL em 48 horas) e, por último, em tampão fosfato pH 6,8 (0,574 mg/mL em 48 horas).

Um fármaco pode ser considerado altamente solúvel, segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, se sua maior dose administrada oralmente como uma formulação de liberação imediata (dose máxima por administração descrita na bula) solubiliza-se completamente em até 250 mL de cada uma das soluções tampão utilizadas dentro da faixa de pH fisiológico (1,2 a

6,8) (BRASIL, 2011). No caso da ETA, a maior dose administrada oralmente seria de 250 mg; portanto, para ser considerada altamente solúvel no SCB os valores de solubilidade obtidos no ensaio em questão deveriam ser iguais ou superiores a 1 mg/mL, maior dose oral (250 mg) dividido por 250 mL. Os resultados obtidos demonstram que esta condição só foi atendida na solução de HCl 0,1 N e, portanto, a ETA seria classificada como de baixa solubilidade pelo SCB. Cabe ressaltar que o ensaio foi realizado com as soluções a temperatura ambiente e que a literatura preconiza sua realização a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e, se esta última condição fosse atendida, talvez o valor de solubilidade na solução tampão acetato pH 4,5 pudesse ser superior a 1 mg/mL, pois é sabido que a solubilidade pode aumentar com o aumento da temperatura do sistema solvente-soluto (Toehwe, 2013) e o valor obtido para esta solução no ensaio a temperatura ambiente foi muito próximo de 1 mg/mL (0,924 mg/mL). Já para a solução tampão acetato pH 6,8 provavelmente a solubilidade a 37°C também seria menor do que 1 mg/mL pois o valor de solubilidade da ETA deveria ser 1,742 vezes maior do que o valor da solubilidade obtida à temperatura ambiente. Portanto, diante dos resultados obtidos espera-se que mesmo realizando-se o ensaio a temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ETA seja considerada de baixa solubilidade no SCB, devido ao possível não atendimento da condição de solubilidade maior ou igual a 1 mg/mL na solução tampão fosfato pH 6,8 também nesta temperatura. Porém, esta é uma hipótese que deve ser comprovada na prática em ensaios posteriores.

Tabela 19 - Resultados dos ensaios de solubilidade realizados em temperatura ambiente com a ETA.

Tempo (horas)	HCl 0,1 N pH 1,2 (275 nm)	Tampão Acetato pH 4,5 (284 nm)	Tampão Fosfato pH 6,8 (288 nm)
	Conc. (mg/mL) (DPR %) ^a	Conc. (mg/mL) (DPR %) ^a	Conc. (mg/mL) (DPR %) ^a
3	8,529 (6,215)	0,873 (0,820)	0,500 (2,008)
6	8,978 (5,161)	0,894 (3,592)	0,579 (10,305)
24	8,847 (3,191)	0,940 (1,428)	0,532 (3,042)
48	9,067 (5,846)	0,924 (1,189)	0,574 (12,199)

^aDPR = desvio padrão relativo (n = 3).

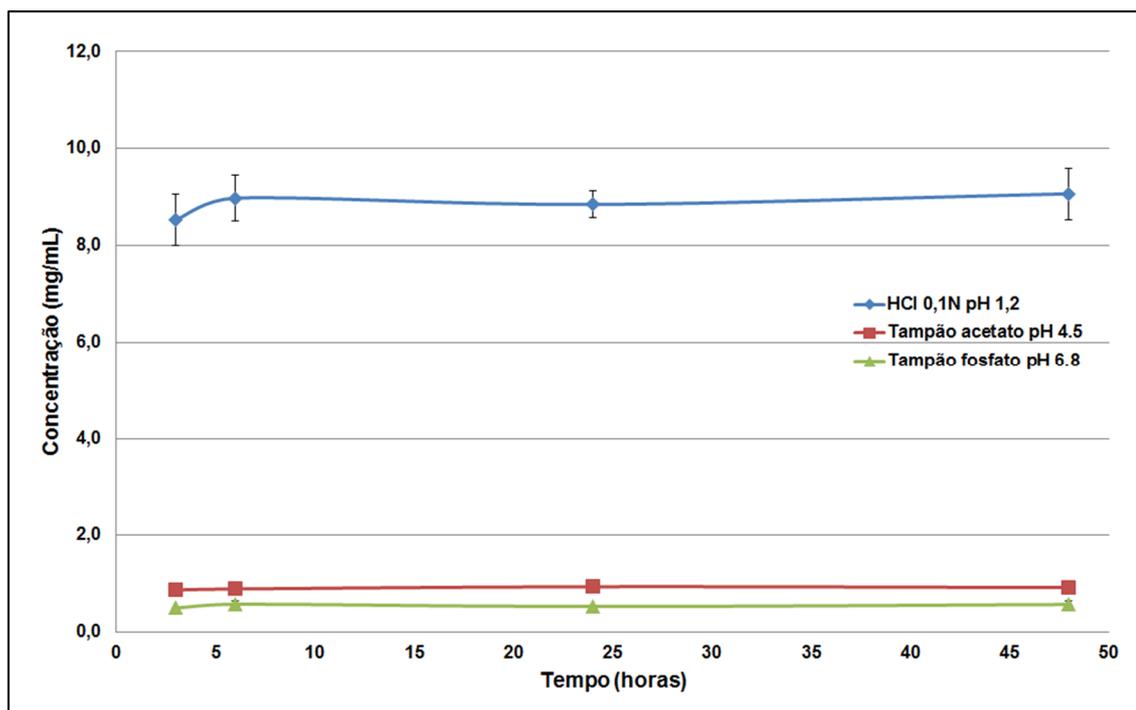


Figura 29 - Resultados de concentração de saturação à temperatura ambiente em 3, 6, 24 e 48 horas.

5.1.2.10 Ensaios de dissolução

5.1.2.10.1 Dissolução por dispersão

Os ensaios de dissolução por dispersão foram realizados com a ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, conforme descrito no item 4.2.2.10.1, e os resultados estão apresentados na Tabela 20, Tabela 21 e Tabela 22, e Figura 30, Figura 31 e Figura 32, respectivamente.

Avaliando-se os resultados obtidos no meio HCl 0,1 N pH 1,2 (Tabela 20 e Figura 30), observa-se que as amostras de ETA e ETA-MICRO atingem 100% de dissolução já em 10 minutos de ensaio, porém a ETA-MOÍDA só atinge este valor (100%) em 45 minutos de ensaio. Este resultado da ETA-MOÍDA pode ser explicado pelos valores obtidos no ensaio de ângulo de contato, pois neste último esta amostra demonstrou pior molhabilidade e, portanto, era de se esperar um resultado de dissolução por dispersão nos primeiros pontos de coleta menores do que da ETA e da ETA-MICRO.

Durante os ensaios de dissolução por dispersão em HCl 0,1 N, observou-se que a ETA se dispersava imediatamente no meio de dissolução ficando todas as partículas disponíveis para solubilização. Já as amostras de ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, após serem dispensadas sobre a superfície dos meios de dissolução no início do ensaio, permaneciam sobrenadantes na superfície do meio em forma de aglomerados que não se dispersavam e por isso não permitindo que todas as partículas estivessem disponíveis para a solubilização. No decorrer do ensaio a amostra de ETA-MICRO se dispersava lentamente, porém, mais rapidamente do que a amostra de ETA-MOÍDA. Esta dificuldade de dispersão de ambas as amostras (ETA-MOÍDA e ETA-MICRO), quando comparados a amostra de ETA, também podem ser explicados pelos resultados de ângulo de contato, onde a ETA obteve em todos os meios menores valores e, portanto, maior molhabilidade e facilidade de romper a tensão superficial dos meios para se dispersar.

Os resultados de dissolução por dispersão em tampão acetato pH 4,5 (Tabela 21 e Figura 31) e tampão fosfato pH 6,8 (Tabela 22 e Figura 32) reproduziram o ocorrido no meio HCl 0,1 N pH 1,2, porém com maior intensidade. As amostras de ETA-MOÍDA e ETA-MICRO não dispersaram completamente durante o ensaio de dissolução por dispersão e os valores foram significativamente mais baixos com desvios padrões relativos altos, principalmente para a ETA-MOÍDA. Já a amostra de ETA dispersou-se completamente apresentando dissolução mais rápida em tampão acetato pH 4,5 do que em tampão fosfato pH 6,8, o que era de se esperar devido à maior solubilidade da mesma no tampão acetato pH 4,5. Porém, a dissolução final em ambos os meios não foi completa, sendo 68,075% no tampão acetato pH 4,5 e 61,302% em tampão fosfato pH 6,8.

Por fim, os parâmetros utilizados no ensaio de dissolução por dispersão não apresentaram boa robustez na diferenciação das amostras de ETA, pois, após a redução do tamanho de partícula esperava-se que a dissolução aumentasse, ocorrendo o inverso quando se comparando as amostras de ETA-MOÍDA e ETA-MICRO com a amostra de ETA, pelo menos nos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8. Este fato não ocorreu quando as mesmas amostras foram utilizadas nas formulações testadas, resultados estes a serem apresentados e discutidos no decorrer deste trabalho. Portanto, para utilização da dissolução por dispersão como técnica para caracterização e correlação das amostras com a dissolução das formulações, devem ser mais bem estudados, futuramente, os parâmetros do ensaio (rotação, quantidade de amostra, entre outros) buscando aqueles que melhor dispersem a ETA de tamanho de partícula reduzido nos meios de dissolução. É possível também que o uso de um

aparato mais específico para testes de dissolução de pós traga resultados mais realistas e discriminativos, como é o caso do aparato 4 da USP (Beysac e Lavigne, 2005).

Tabela 20 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em HCl 0,1 N pH 1,2. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b
5	79,8 (0,87)	26,4 (30,15)	76,6 (6,47)
10	100,2 (1,04)	48,2 (16,58)	103,9 (3,83)
15	103,6 (0,33)	66,1 (14,83)	107,7 (2,89)
30	104,7 (0,22)	91,9 (12,05)	109,5 (1,06)
45	103,1 (0,59)	102,8 (4,93)	107,7 (0,23)
90	102,4 (0,32)	110,5 (0,71)	109,5 (1,39)

^a Qt. diss = Quantidade dissolvida (%); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

Tabela 21 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em tampão acetato pH 4,5. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b
5	10,612 (17,38)	0,952 (31,53)	2,564 (12,29)
10	18,051 (14,51)	1,977 (35,10)	4,352 (15,13)
15	24,418 (10,96)	3,110 (33,87)	7,042 (13,28)
30	39,160 (6,22)	6,200 (40,80)	13,086 (15,17)
45	49,863 (4,08)	9,302 (38,79)	19,532 (15,68)
90	68,075 (0,93)	16,146 (35,79)	37,461 (11,71)

^a Qt. diss = Quantidade dissolvida (%); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

Tabela 22 - Resultados de dissolução por dispersão realizados em tampão fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b	Qt. diss ^a (DPR %) ^b
5	7,831 (12,54)	0,524 (3,46)	1,697 (17,53)
10	12,847 (9,39)	1,159 (18,00)	3,128 (11,04)
15	17,188 (7,80)	1,828 (21,48)	4,513 (9,58)
30	28,151 (5,98)	3,441 (23,24)	8,415 (10,53)
45	36,529 (6,36)	5,135 (32,21)	12,725 (13,97)
90	61,302 (8,64)	9,573 (42,09)	23,342 (10,89)

^a Qt. diss = Quantidade dissolvida (%); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

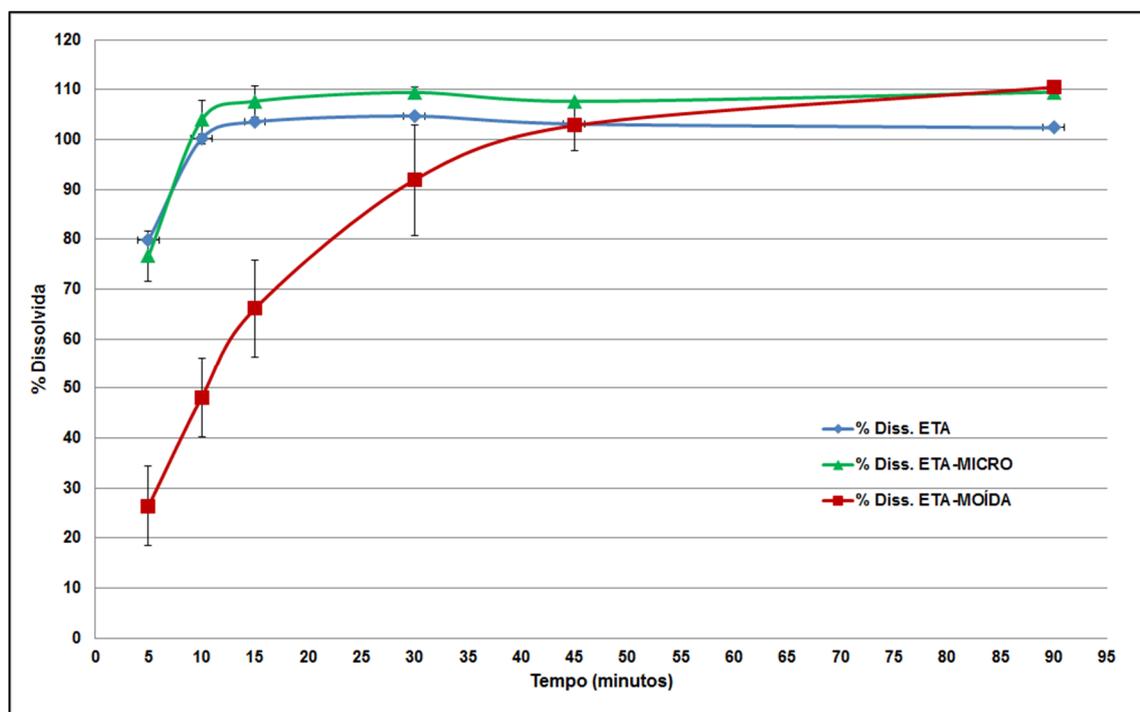


Figura 30 - Dissolução por dispersão realizada em HCl 0,1N pH 1,2. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

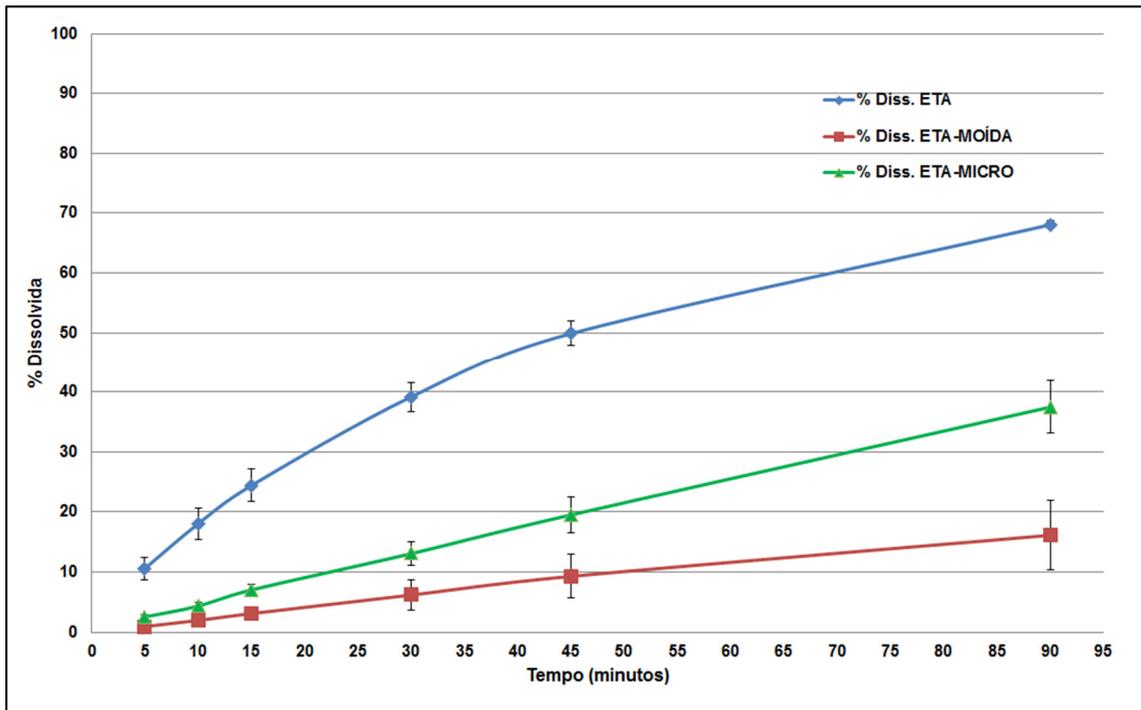


Figura 31 - Dissolução por dispersão realizada em Tampão Acetato pH 4,5. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

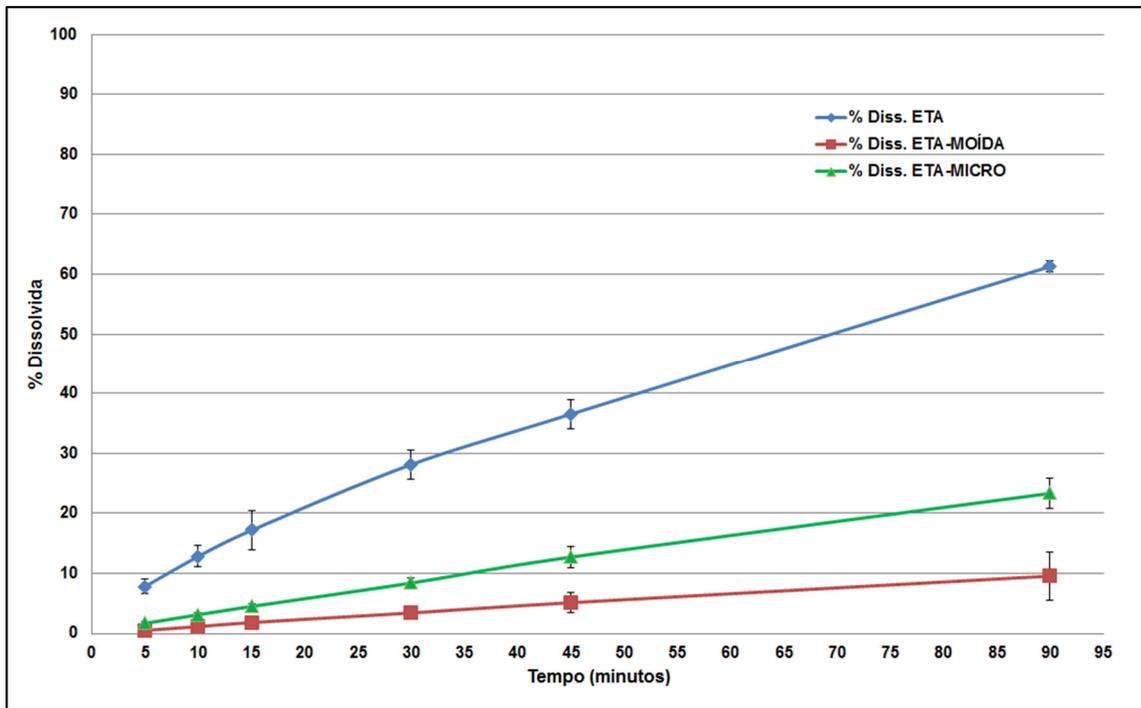


Figura 32 - Dissolução por dispersão realizada em Tampão Fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: Pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37 °C.

5.1.2.10.2 Dissolução intrínseca

Os ensaios de dissolução intrínseca foram realizados com a ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, conforme descrito no item 4.2.2.10.2, e os resultados estão apresentados nas Tabela 23, Tabela 24 e Tabela 25, e Figura 33, Figura 34 e Figura 35.

Os resultados do ensaio em HCl 0,1 N pH 1,2 não demonstraram diferenças significativas entre as amostras, obtendo-se taxas de dissolução intrínseca de 3,472 mg/cm²/min para a ETA, 3,689 mg/cm²/min para ETA-MOÍDA e 3,624 mg/cm²/min para a ETA-MICRO. Como era de se esperar, com base nos resultados do ensaio de solubilidade da ETA nos meios tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8, a taxa de dissolução intrínseca foi menor nestes últimos do que em HCl 0,1 N pH 1,2, sendo a diferença entre as amostras mais significativa para o tampão acetato pH 4,5, taxa de dissolução intrínseca para a ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO de 0,094 mg/cm²/min, 0,101 mg/cm²/min e 0,177 mg/cm²/min, respectivamente. Esta pequena diferença contrasta com os trabalhos de HENDRIKSEN (2007) e ROSA (2012) onde relatam que diferenças no tamanho de partícula podem ser negligenciados para taxa de dissolução intrínseca, já que no disco compactado a área pode ser considerada constante. Já no tampão fosfato pH 6,8 as diferenças entre as taxas foram menores, 0,065mg/cm²/min para a ETA, 0,067 mg/cm²/min para ETA-MOÍDA e 0,078 mg/cm²/min para a ETA-MICRO.

Segundo DYAS e SHAH (2007) a taxa de dissolução intrínseca é um indicador de biodisponibilidade. Segundo estes autores se a taxa de dissolução intrínseca for $\geq 1,0$ mg/min/cm² sugere-se que a dissolução não será o fator limitante para a absorção; entretanto, caso a taxa de dissolução intrínseca for $< 1,0$ mg/min/cm² a dissolução será a etapa limitante da absorção. Os valores de dissolução intrínseca para todas as amostras mostraram-se maiores do que 1 em HCl 0,1 N pH 1,2 e menores do que 1 para o tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8. Estes resultados demonstram que apenas em HCl seria atendida a premissa que levaria a concluir que a dissolução não seria o fator limitante para a absorção. Porém, os resultados nas outras duas condições indicam o contrário e, portanto, os estudos de dissolução intrínseca levam a concluir que a ETA seria classificada como de baixa solubilidade no SCB, sendo portanto a dissolução fator limitante para a absorção da mesma.

Tabela 23 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em HCl 0,1 N pH 1,2. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm² de área exposta.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b
1	1,974 (6,38)	2,575 (2,97)	2,408 (7,30)
2	6,137 (10,49)	6,747 (4,04)	6,599 (2,41)
3	10,083 (8,99)	10,816 (4,10)	10,702 (1,47)
4	13,670 (7,32)	14,667 (4,46)	14,523 (2,49)
5	17,148 (6,43)	18,481 (3,94)	18,116 (3,42)
10	33,568 (6,06)	35,997 (3,98)	35,307 (4,06)
Taxa (mg/cm²/min)	3,472±0,198	3,689±0,161	3,624 ± 0,178

^a Qt. diss./área = Quantidade dissolvida por área (mg/cm²); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

Tabela 24 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em tampão acetato pH 4,5. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm² de área exposta.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b
5	1,128 (7,40)	1,035 (2,24)	1,235 (14,63)
10	1,669 (8,98)	1,550 (3,90)	1,748 (10,21)
15	2,143 (8,23)	2,039 (3,99)	2,365 (2,24)
20	2,606 (8,25)	2,554 (3,81)	2,940 (10,33)
25	3,094 (8,02)	3,017 (1,46)	3,500 (9,07)
30	3,531 (7,56)	3,518 (2,83)	4,057 (9,15)
45	4,921 (6,45)	5,069 (1,27)	5,825 (9,59)
60	6,371 (3,92)	6,567 (1,40)	7,581 (9,96)
90	9,215 (3,56)	9,709 (0,64)	11,216 (10,20)
Taxa (mg/cm²/min)	0,094±0,002	0,101±0,001	0,177 ± 0,013

^a Qt. diss./área = Quant. dissolvida por área (mg/cm²); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

Tabela 25 - Resultados de dissolução intrínseca realizados em tampão fosfato pH 6,8. Condições do ensaio: pá, 50 rpm, 900 mL de meio, 37°C. Pastilha: 800 psi/minuto, 0,5 cm² de área exposta.

Tempo (minutos)	ETA	ETA-MOÍDA	ETA-MICRO
	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b	Qt. diss./área ^a (DPR %) ^b
5	0,707 (2,99)	0,744 (7,53)	0,548 (13,37)
10	1,097 (3,81)	1,158 (8,28)	0,940 (10,19)
15	1,489 (6,05)	1,620 (4,60)	1,274 (9,86)
20	1,859 (2,90)	1,930 (3,81)	1,859 (22,27)
25	2,126 (4,34)	2,324 (7,56)	2,056 (11,87)
30	2,409 (4,95)	2,547 (2,70)	2,420 (10,87)
45	3,397 (5,29)	3,522 (2,79)	3,658 (11,08)
60	4,381 (4,35)	4,593 (3,18)	4,749 (12,15)
90	6,374 (3,96)	6,583 (5,80)	7,223 (10,31)
Taxa (mg/cm²/min)	0,065±0,003	0,067±0,005	0,078±0,009

^a Qt. diss./área = Quant. dissolvida por área (mg/cm²); ^b DPR % = desvio padrão relativo (n = 3).

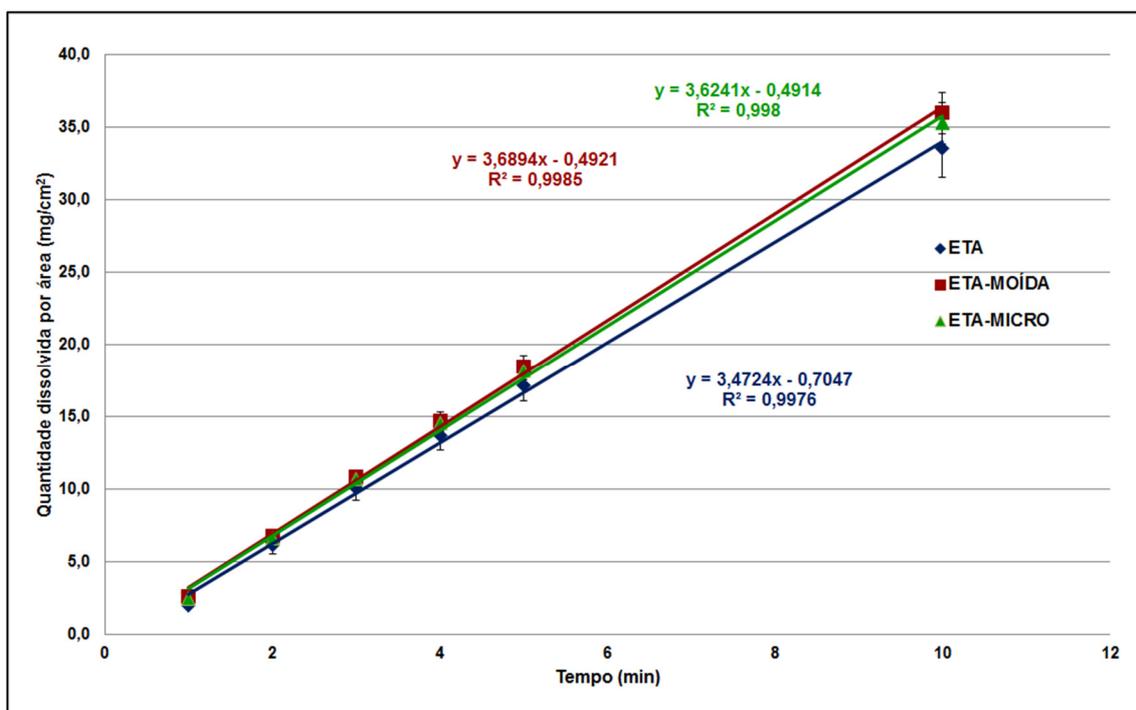


Figura 33 - Dissolução intrínseca realizada em HCl 0,1N pH 1,2.

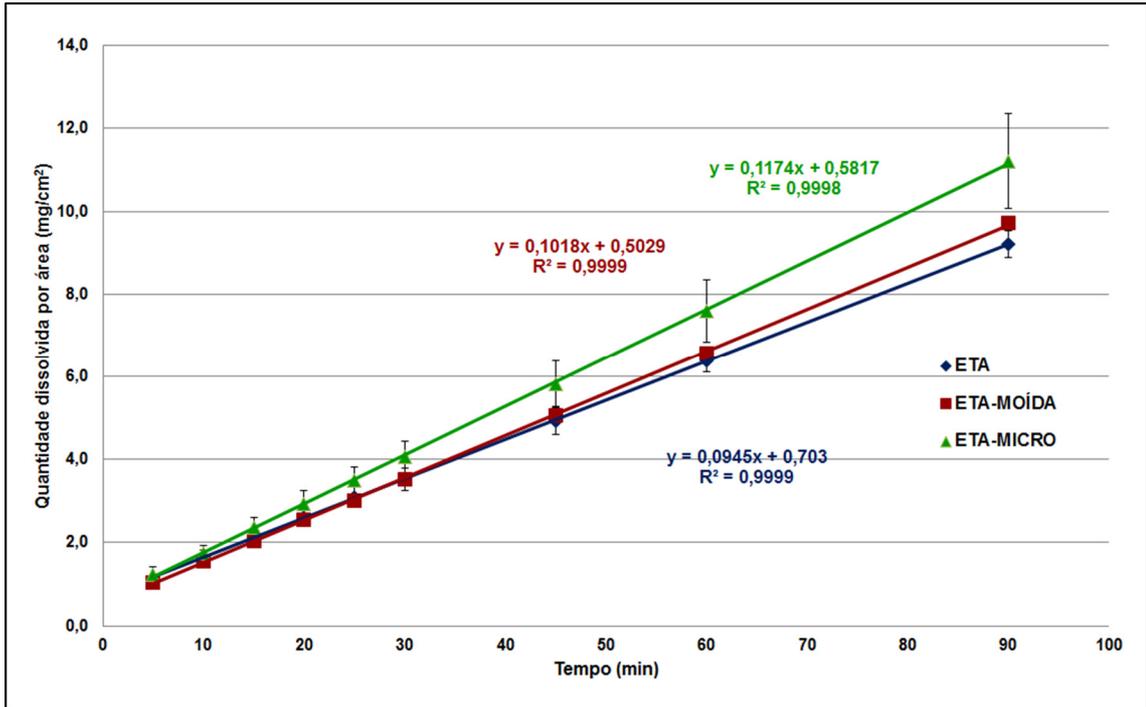


Figura 34 - Dissolução intrínseca realizada em tampão acetato pH 4,5.

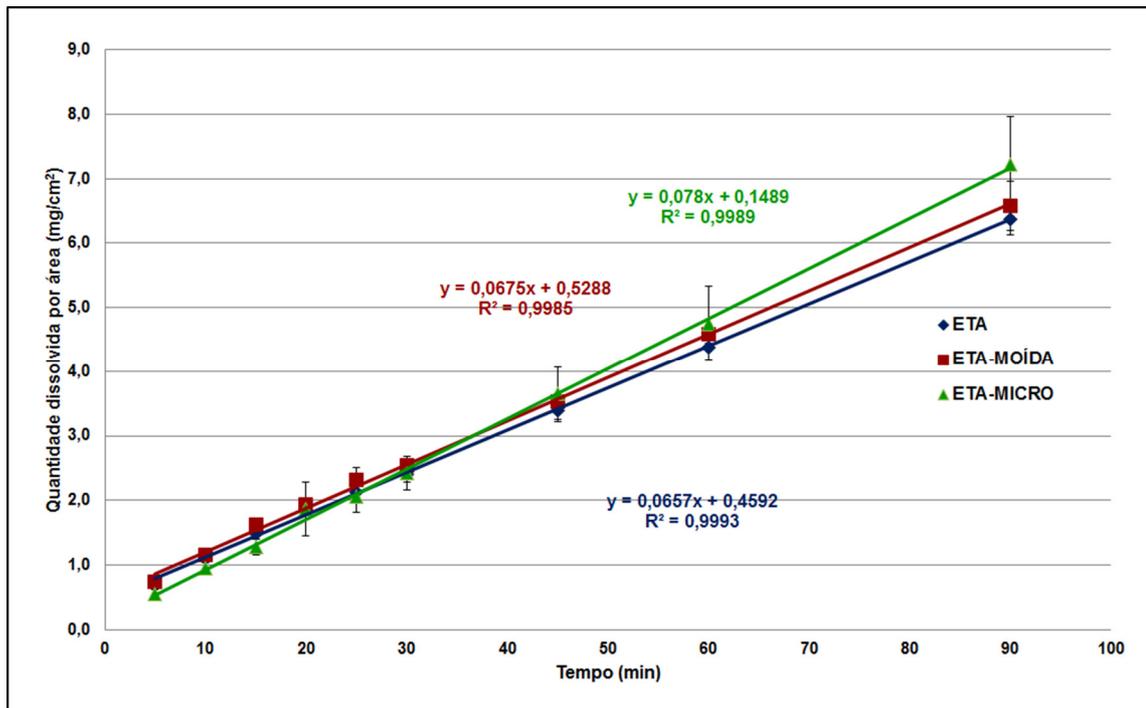


Figura 35 - Dissolução intrínseca realizada em tampão fosfato pH 6,8.

5.1.2.10.3 Determinação do pH, água e perda por secagem

As amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO foram submetidas às análises de determinação do pH, água pelo método de Karl Fischer e perda por dessecação, e os resultados estão apresentados na Tabela 26. Nenhuma alteração fora das especificações farmacopeicas foi detectada nas amostras testadas.

Tabela 26 - Resultados da determinação do pH, água e perda por dessecação, obtidos para ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO.

AMOSTRA	pH ^a	Água (%) ^b	Perda por Dessecação (%) ^c
ETA	6,380	0,04	0,02
ETA-MOÍDA	6,447	0,04	0,02
ETA-MICRO	6,472	0,03	0,03

^a Especificação: entre 6,0 e 7,0 (FB5ed, 2012; USP36/NF31, 2013)

^b Especificação: menor ou igual a 2,0% (USP36/NF31, 2013)

^c Especificação: menor ou igual a 0,5% (FB5ed, 2012)

5.1.2.10.4 Substâncias relacionadas

O ensaio de substâncias relacionadas foi realizado conforme descrito no item 4.2.2.11.5, e o resultado pode ser visualizado na Figura 36.

Para todas as amostras (ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO), nenhuma mancha secundária foi visualizada no cromatograma com a solução S1 (20 mg/mL), porém também não foram visualizadas as manchas principais das soluções S2 e S3, demonstrando uma certa inadequabilidade do método. Por este motivo, o ensaio foi repetido dobrando-se as concentrações de todas as soluções, ficando a solução S1 com concentração de 40 mg/mL (Figura 37). Com estas novas concentrações foi possível visualizar as manchas principais das soluções S2 (0,5% de S1) e S3 (0,2% de S1), não se visualizando manchas secundárias mais intensas que elas no cromatograma da nova solução S1 e, portanto, pode-se concluir que todas as amostras cumpriram com a especificação Farmacopeia Brasileira 5^a. Edição, e que os processos de moagem e micronização não promoveram degradação química da ETA.

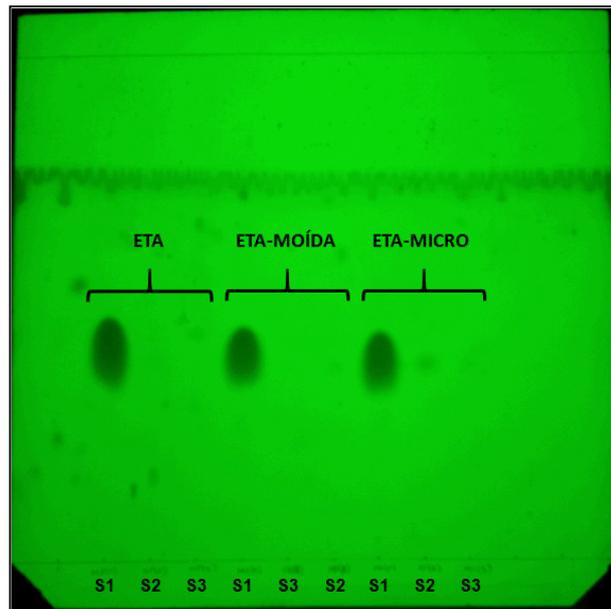


Figura 36 – Placa cromatográfica das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, revelada sob luz UV de 254 nm. Concentrações das soluções: S1 = 20 mg/mL; S2 = 0,1 mg/mL; S3 = 0,04 mg/mL.

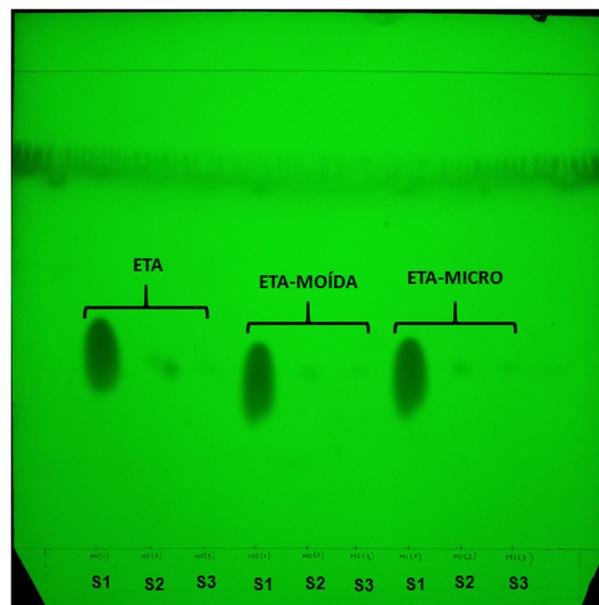


Figura 37 - Placa cromatográfica das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, revelada sob luz UV de 254 nm. Concentrações das soluções: S1 = 40 mg/mL; S2 = 0,2 mg/mL; S3 = 0,08 mg/mL.

5.1.2.10.5 Teor

Foi determinado o teor nas amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, conforme método de potenciometria em meio não aquoso da Farmacopeia Brasileira 5^a. Edição, conforme metodologia descrita no item 4.2.2.11.6.

Os resultados apresentados na Tabela 27 demonstram uma pequena queda no teor quando comparadas as amostras de ETA-MOÍDA e ETA-MICRO com a ETA, porém todas muito próximas do limite inferior da especificação da Farmacopeia Brasileira 5^a. Ed que preconiza um limite de especificação de 98,0 % a 102,0 % de ETA na base anidra. Os resultados sugerem que os processos de redução de tamanho de partícula não causariam um impacto extremamente negativo no teor da matéria-prima de origem, porém, quando considerado estes processos em escala industrial, essas diferenças podem aumentar tornando-se significativas. Portanto, o monitoramento não só do teor, mas também de substâncias relacionadas, devem ser realizados quando da transposição destes processos para a escala industrial.

Tabela 27 – Resultados de teor das amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO

AMOSTRA	Teor Médio ^a	DPR (%) ^b
ETA	98,3	0,20
ETA-MOÍDA	98,1	0,23
ETA-MICRO	98,0	0,49

^a Especificação: entre 98,0 e 102,0 (FB5ed, 2012)

^bDPR (%) = desvio padrão relativo (n = 2)

5.1.3 Avaliação das formulações de ETA 250 mg comprimidos revestidos

5.1.3.1 Avaliação física das misturas finais

5.1.3.1.1 Determinação da densidade aparente e compactada

Com relação aos resultados de densidade, pode-se observar na Tabela 28 que os valores de densidade aparente e batida são ligeiramente maiores quando comparados os processos de compressão direta aos de granulação úmida. Esta diferença entre os processos é de se esperar já que a granulação úmida é utilizada justamente para promover uma aglomeração dos pós em vista de aumentar a densidade e fluidez dos mesmos.

Porém, é possível detectar alguns resultados ainda sim baixos para algumas das formulações fabricadas por granulação úmida (F05, F06 e F10). No caso da formulação F10, quando comparada com as formulações F08 e F07 onde foram utilizados exatamente os mesmos excipientes, esta baixa densidade pode ser atribuída à baixa densidade da ETA-MICRO, utilizada na mesma, necessitando o processo ou formulação ser revisto para promover maior aglutinação, a qual não se desfaça tão facilmente após a secagem e calibração do granulado seco, mitigando a baixa densidade da ETA-MICRO. No caso das formulações F05 e F06, utilizou-se somente celulose microcristalina como diluente da formulação, sendo este excipiente de baixa solubilidade em água, assim como a ETA. Com isso, foi necessária a utilização de quantidade maior de água para se atingir um ponto de granulação úmida visualmente aceitável, porém, provavelmente, esta foi insuficiente para promover uma aglutinação satisfatória.

Com relação às formulações de compressão direta, fica evidente que no caso da formulação F09 a densidade aparente foi extremamente baixa devido à utilização da ETA-MICRO. Este fato foi extremamente impactante no processo de compressão desta formulação, inviabilizando a realização do mesmo, pois, mesmo com o equipamento de compressão ajustado no limite de profundidade da matriz e o enchimento da mesma feito de forma manual, não se obteve o peso médio desejado (600 mg), pois o volume ocupado pelo pó foi maior do que o volume da matriz. Além disso, ao se tentar comprimir a quantidade de pó que foi possível introduzir na matriz, ocorreu o travamento da compressora, demonstrando que essa formulação possui elevada coesividade e abrasividade.

Por fim, também é possível concluir que as densidades mais elevadas das formulações F03 e F04, entre aquelas de compressão direta, devem-se pela maior proporção e a ETA utilizada nas mesmas.

Tabela 28 - Resultados de densidade aparente e densidade batida obtidos em 10g de cada formulação testada.

Formulação ^a		Volume Inicial V ₀ (mL)	Volume Final V _F (mL)	Densidade Aparente (g/mL)	Densidade Compactada (g/mL)
Compressão Direta	F01	23	18	0,43	0,56
	F02	23	18	0,43	0,56
	F03	20	17	0,50	0,59
	F04	19	16	0,53	0,63
	F09	34	24	0,29	0,42
Granulação Úmida	F05	20	18	0,50	0,55
	F06	21	16	0,47	0,62
	F07	18	16	0,55	0,62
	F08	19	16	0,53	0,63
	F10	23	18	0,43	0,55

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F09 e F10.

5.1.3.1.2 Determinação da fluidez

5.1.3.1.2.1 Determinação do índice de compressibilidade e razão de Hausner

A partir dos resultados de densidade aparente e compactada das misturas finais das formulações, foram calculados o índice de compressibilidade e razão de Hausner, e os fluxos classificados de acordo com a literatura (QIU, 2009; USP36/NF31, 2013), sendo os resultados apresetados na Tabela 29.

De forma geral, as formulações de granulação úmida apresentam melhor classificação de fluxo que as formulações de compressão direta, o que era de se esperar pois o processo de granulação úmida tem como um dos objetivos promover a melhoria da fluidez de formulações. Entretanto, a classificação de fluxo das formulações de compressão direta, com exceção da formulação F09, que utilizou a ETA-MICRO, foram classificadas no mínimo como aceitáveis, sugerindo que as mesmas poderiam ser utilizadas sem maiores problemas.

Tabela 29 - Índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (RH) e classificação de fluxo, calculados a partir dos resultados de densidade das formulações testadas.

	Formulação ^a	IC%	RH	CLASSIFICAÇÃO DE FLUXO ^b
Compressão Direta	F01	22	1,28	Aceitável
	F02	22	1,28	Aceitável
	F03	15	1,18	Bom
	F04	16	1,19	Razoável
	F09	29	1,42	Pobre
Granulação Úmida	F05	10	1,11	Excelente
	F06	24	1,31	Aceitável
	F07	11	1,12	Bom
	F08	16	1,19	Razoável
	F10	22	1,28	Aceitável

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F09 e F10.^bOrdem decrescente (melhor para o pior) de classificação de fluxo: Excelente, Bom, Razoável, Aceitável, Pobre, Muito Pobre e Péssimo.

5.1.3.1.2.2 Determinação do ângulo de repouso e fluxo por orifícios

Os resultados de fluidez obtidos pelo método do ângulo de repouso (Tabela 30) também demonstraram melhor fluxo das formulações fabricadas por granulação úmida. Porém, estes resultados contrastam com a classificação de fluxo obtida pelo índice de compressibilidade e razão de hausner. A classificação de fluxo pelo método do ângulo de repouso mostrou-se um pouco mais criteriosa, classificando na maioria dos casos com um fluxo pior do que aquele obtido pelo método anterior. A partir destes resultados, formulações de compressão direta que teriam fluxos considerados aceitáveis passaram a ser classificadas como de fluxo pobre (F01 e F02), o que as desabilitaria, precocemente, como candidatas a formulações definitivas. Cabe ressaltar que mais uma vez a formulação F09 foi classificada como de fluxo pobre, certamente pela utilização da ETA-MICRO, o que confirma a inadequação do processo de compressão

direta se a mesma fosse confirmada como a mais adequada para obtenção de uma formulação equivalente a do medicamento de referência.

Tabela 30 - Ângulo de repouso e classificação de fluxo determinadas a partir do mesmo para as formulações testadas.

	Formulação ^a	Ângulo de Repouso	DPR (%) ^b	CLASSIFICAÇÃO DE FLUXO ^c
Compressão Direta	F01	46,2	0,50	Pobre
	F02	46,2	2,19	Pobre
	F03	44,3	2,04	Aceitável
	F04	43,2	1,75	Aceitável
	F09	48,1	0,43	Pobre
Granulação Úmida	F05	44,8	0,77	Aceitável
	F06	39,4	1,01	Razoável
	F07	41,3	1,11	Aceitável
	F08	39,9	4,40	Razoável
	F10	42,5	3,20	Aceitável

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F09 e F10. ^bDPR = Desvio padrão relativo (n = 3); ^cOrdem decrescente (melhor para o pior) de classificação de fluxo: Excelente, Bom, Razoável, Aceitável, Pobre, Muito Pobre e Péssimo.

Quando avaliadas pelo método de fluxo por orifício, mais uma vez as formulações obtidas pelo processo de granulação úmida demonstraram melhores resultados, apresentando menores tempos de escoamento (Tabela 31), destaque para as formulações F07 e F08 que apresentaram os menores tempos de escoamento. Entre as obtidas pelo método de compressão direta as formulações F01 e F02 não apresentaram fluxo pelo orifício de 10 mm quando ensaiadas sem agitação o que sugere uma grande dificuldade de fluidez para enchimento das matrizes de compressão se utilizadas compressoras rotativas que apresentem apenas o sistema de grade de distribuição. Neste trabalho foi utilizada compressoras rotativa que dispunha do sistema de distribuição forçada para enchimento das matrizes de compressão, portanto o processo foi realizado sem grandes variações de peso dos comprimidos também para estas formulações (F01 e F02). Cabe ressaltar que a escala de fabricação utilizada é experimental, podendo o problema de fluxo para estas formulações ser evidenciado na prática em escalas maiores de produção e maiores velocidades da compressoras.

Tabela 31 - Tempo de escoamento (segundos/100g) obtido para o orifício de 10 mm de diâmetro.

	Formulação ^a	Sem Agitação	DPR (%) ^b	Com Agitação ^c	DPR (%)
Compressão Direta	F01	∞^d	NA ^e	35,2	1,74
	F02	∞	NA	49,5	4,93
	F03	27,4	1,48	31,2	4,35
	F04	24,5	1,08	28,3	1,84
	F09	∞	NA	∞	NA
Granulação Úmida	F05	20,5	0,28	21,8	1,61
	F06	26,9	2,36	26,8	2,54
	F07	14,3	1,07	15,0	0,77
	F08	14,3	1,76	14,9	1,69
	F10	∞	NA	42,2	2,26

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F09 e F10. ^bDPR = Desvio padrão relativo (n = 3); ^cVelocidade 1 da haste de agitação do equipamento; ^d ∞ = infinito; ^eNA = Não se aplica.

Fazendo uma comparação entre os resultados dos métodos utilizados para se avaliar a fluidez das formulações (Tabela 32), pode-se observar um menor contraste entre os mesmos, diferente da comparação realizada para as amostras da matéria-prima pura, discutidos anteriormente. De forma geral, todos indicam melhores características de fluxo das formulações fabricadas por granulação úmida. Ainda assim, as diferenças entre os resultados obtidos reforçam a importância da utilização de mais de um método para avaliação da fluidez, e análise criteriosa dos resultados obtidos, para posterior tomada de decisão com relação à adequação de processabilidade das formulações estudadas.

Tabela 32 – Comparação dos resultados de classificação de fluxo pelos métodos de índice de compressibilidade (IC%), razão de Hausner (HR), ângulo de repouso e fluxo por orifícios.

	Excelente	Bom	Razoável	Aceitável	Pobre
IC%	F05	F07 e F03	F04 e F08	F01, F02, F06 e F10	F09
HR	F05	F07 e F03	F04 e F08	F01, F02, F06 e F10	F09
Ângulo de Repouso	---	---	F06 e F08	F03, F04, F05, F07 e F10	F01, F02 e F09
Fluxo por Orifícios (tempo de escoamento)					
Sem Agitação^a	F08 = F07 < F05 < F04 < F06 < F03 < F01 ^b = F10 ^b = F02 ^b = F09 ^b				
Com Agitação^a	F08 < F07 < F05 < F06 < F04 < F03 < F01 < F10 < F02 < F09 ^b				

^a Orifício de 10mm; ^b Não ocorreu escoamento.

5.1.3.1.3 Determinação da distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica das misturas finais foi determinada pelo método de agitação por peneiras conforme metodologia descrita no item 4.2.2.3.1, em 25 g de amostra de cada formulação. Para as formulações fabricadas pelo método de compressão direta foram utilizadas peneiras com aberturas de 355 µm, 180 µm, 125 µm, 75 µm, 53 µm e 38 µm, sendo os resultados apresentados na Tabela 33 e Figura 38. Para as formulações fabricadas pelo método de granulação úmida foi incluída uma peneira com abertura de 600 µm e retirada a de 38 µm, sendo os resultados apresentados na Tabela 34 e Figura 39. Esta diferença fez-se necessária, pois, algumas formulações fabricadas por granulação úmida apresentaram porcentagem retida relativamente alta na peneira de abertura de 355 µm, sendo importante determinar frente a qual elas seriam menores o suficiente. Após alguns testes selecionou-se então a peneira de abertura de 600 µm e, por questão de padronização para melhor comparação, todas as formulações fabricadas por granulação úmida foram ensaiadas com esta peneira adicional, mesmo aquelas que não tinham apresentado porcentagem retida alta na peneira de abertura de 355 µm. Por fim, houve então a necessidade de retirada de uma peneira para também manter o padrão e optou-se pela retirada da menor abertura (38 µm).

A distribuição granulométrica das formulações fabricadas pelo método de compressão direta (F01, F02, F03, F04 e F09) apresentaram característica bimodal, se assemelhando a

distribuição obtida com a ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Isso era de se esperar já que a proporção da ETA nas formulações é alta (41,667% em F01 e F02; e 60,386% em F03, F04 e F09). Quando comparadas entre si, as diferenças observadas também traduzem as diferenças da ETA utilizada, obtendo-se, portanto, distribuição de partículas predominantemente menores que 125 μm para as formulações F02 e F09, que utilizaram ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, respectivamente. Essa predominância pode ser evidenciada pelo valor da porcentagem retida acumulada (%AC) na peneira 125 μm para estas formulações (Tabela 33), que foi de 19,20% para F02 e 16,19% para F09, ou seja, 80,0% das partículas menores que 125 μm para F02 e 83,81% das partículas menores que 125 μm para F09. Este corte de 125 μm é importante, pois, a Farmacopeia brasileira 5^a. edição classifica como pó finíssimo os pós cujas partículas passam em sua totalidade pela peneira de malha 125 μm e, segundo Marshall (2001), a velocidade de escoamento de misturas de pós decresce rapidamente quando a fração de partículas de menores dimensões, que ele chama de finos mas não determina exatamente um valor, ultrapassa 40% da mistura. Este fato corrobora o pior fluxo das formulações F02 e F09 quando comparados ao das outras formulações nos ensaios de fluidez, discutidos anteriormente neste trabalho. Portanto, estes resultados sugerem que o processo de fabricação pelo método de compressão direta para as amostras de ETA-MOÍDA e ETA-MICRO, com as formulações propostas, poderiam não ser viáveis. Na prática dos experimentos executados, atestou-se a inviabilidade da utilização da ETA-MICRO (F09) por este processo. Já para a formulação com a ETA-MOÍDA (F02) foi possível a realização do processo de compressão dentro dos limites aceitáveis de variação, resultados a serem apresentados e discutidos mais adiante neste trabalho.

Com relação às formulações fabricadas pelo método de granulação úmida destacam-se a F07 e F08 que utilizaram ETA e ETA-MOÍDA, respectivamente, apresentando aumento significativo na granulometria, 63,26% (F07) e 62,28% (F08) das partículas acima de 180 μm , sendo 58,66% (F07) e 49,88% (F08) das partículas retidas na peneira de 180 μm , observando-se nos gráficos (Figura 39) uma distribuição unimodal. Esta característica de distribuição granulométrica de ambas as formulações, certamente refletiu positivamente na fluidez da mistura, como observado, principalmente, nos resultados de tempo de escoamento discutidos anteriormente.

As formulações F05 e F06 que utilizaram ETA e ETA-MOÍDA, respectivamente, e também foram fabricadas pelo método de granulação úmida, apresentaram resultados de distribuição granulométrica baixa, 52,52 % das partículas maiores que 125 μm para F05 e apenas 21,90% para F06. Este fato sugere que o processo de granulação de F05 e F06 foi ineficiente, indicando que não se obteve uma boa aglomeração e/ou aglutinação durante o

processo de umectação dos pós, não se obtendo granulado rígido o suficiente para resistir ao processo de secagem e posterior calibração. A diferença destas para as formulações F07 e F08 é a utilização nestas últimas de um sistema diluente composto não somente por celulose, mas por uma proporção igualitária de celulose e lactose. Este último excipiente contribuiu sobremaneira para uma boa umectação e, conseqüentemente, aglutinação dos pós durante a granulação, visualizada na prática da manipulação de F07 e F08, já que a lactose é solúvel em água, solvente utilizado na granulação de todas as formulações.

Analisando os resultados obtidos para a formulação F10 que utilizou ETA-MICRO e mesmos excipientes das formulações F07 e F08, observa-se uma granulometria, embora maior do que aquela formulação por compressão direta que também utilizou a ETA-MICRO (F09), muito desuniforme e com uma grande quantidade de partículas muito finas, 25,64% de partículas menores que 53 μm . Este fato certamente contribuiu para o baixo fluxo desta formulação evidenciado na avaliação de fluidez pelo tempo de escoamento.

Por fim, pode-se concluir pelos resultados de distribuição granulométrica que o processo de fabricação por granulação úmida cumpriu bem o seu papel para as formulações F07 e F08, promovendo um aumento e uniformização do granulado, visando à melhoria de fluidez da mistura. Para as formulações F05, F06 e F10, o processo de granulação deverá ser revisto com ajustes na quantidade ou qualidade de solvente necessário para aglomeração e aglutinação, assim como proporção dos excipientes utilizados, para obtenção de granulado de tamanho mais adequado e uniforme. No caso das formulações fabricadas por compressão direta, uma saída para melhorar a distribuição granulométrica e, conseqüentemente a fluidez da mistura, seria a diminuição significativa da proporção da ETA na formulação, com o aumento de peso do comprimido, trabalhando na escolha de um diluente, neste caso a celulose, de granulometria mais elevada.

Tabela 33 - Distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de compressão direta.

Abertura da Peneira	F01		F02		F03		F04		F09	
	%RT ^a	%AC ^b								
355 µm	0,80	0,80	0,00	0,00	1,08	1,08	0,96	0,96	0,00	0,00
180 µm	22,85	23,65	8,02	8,02	26,28	27,36	28,68	29,64	10,77	10,77
125 µm	25,45	49,10	11,18	19,20	24,28	51,64	25,48	55,12	5,42	16,19
75 µm	19,70	68,80	20,57	39,77	22,84	74,48	23,52	78,64	22,14	38,33
53 µm	8,15	76,95	10,06	49,83	6,79	81,27	6,32	84,96	6,26	44,59
38 µm	17,22	94,17	30,23	80,06	13,70	94,97	10,20	95,16	21,74	66,33
Passa por 38 µm^c	7,27	101,44	21,13	101,19	4,43	99,40	3,60	98,76	34,34	100,67
Média	137,19 µm		83,28 µm		145,79 µm		152,21 µm		79,64 µm	

^a%RT = porcentagem retida sobre a peneira; ^b%AC = porcentagem retida acumulada sobre a peneira; ^crepresenta a quantidade retida no recipiente abaixo da peneira de abertura de 38 µm, conhecido corriqueiramente como “prato”.

Tabela 34 - Distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de granulação úmida.

Abertura da Peneira	F05		F06		F07		F08		F10	
	%RT ^a	%AC ^b								
600 µm	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,47	4,47	0,99	0,99
355 µm	1,00	1,00	0,00	0,00	4,60	4,60	8,23	12,70	17,31	18,30
180 µm	25,68	26,68	4,75	4,75	58,66	63,26	49,98	62,68	23,89	42,19
125 µm	25,84	52,52	17,15	21,90	21,55	84,81	17,74	80,42	8,89	51,08
75 µm	29,40	81,92	45,14	67,04	10,24	95,05	10,23	90,65	16,35	67,43
53 µm	8,60	90,52	13,35	80,39	3,08	98,13	2,44	93,09	7,18	74,61
Passa por 53 µm^c	9,88	100,40	17,52	97,91	2,03	100,16	7,03	100,12	25,64	100,25
Média	150,40 µm		97,19 µm		224,49 µm		242,98 µm		194,34 µm	

^a%RT = porcentagem retida sobre a peneira; ^b%AC = porcentagem retida acumulada sobre a peneira; ^crepresenta a quantidade retida no recipiente abaixo da peneira de abertura de 38 µm, conhecido corriqueiramente como “prato”.

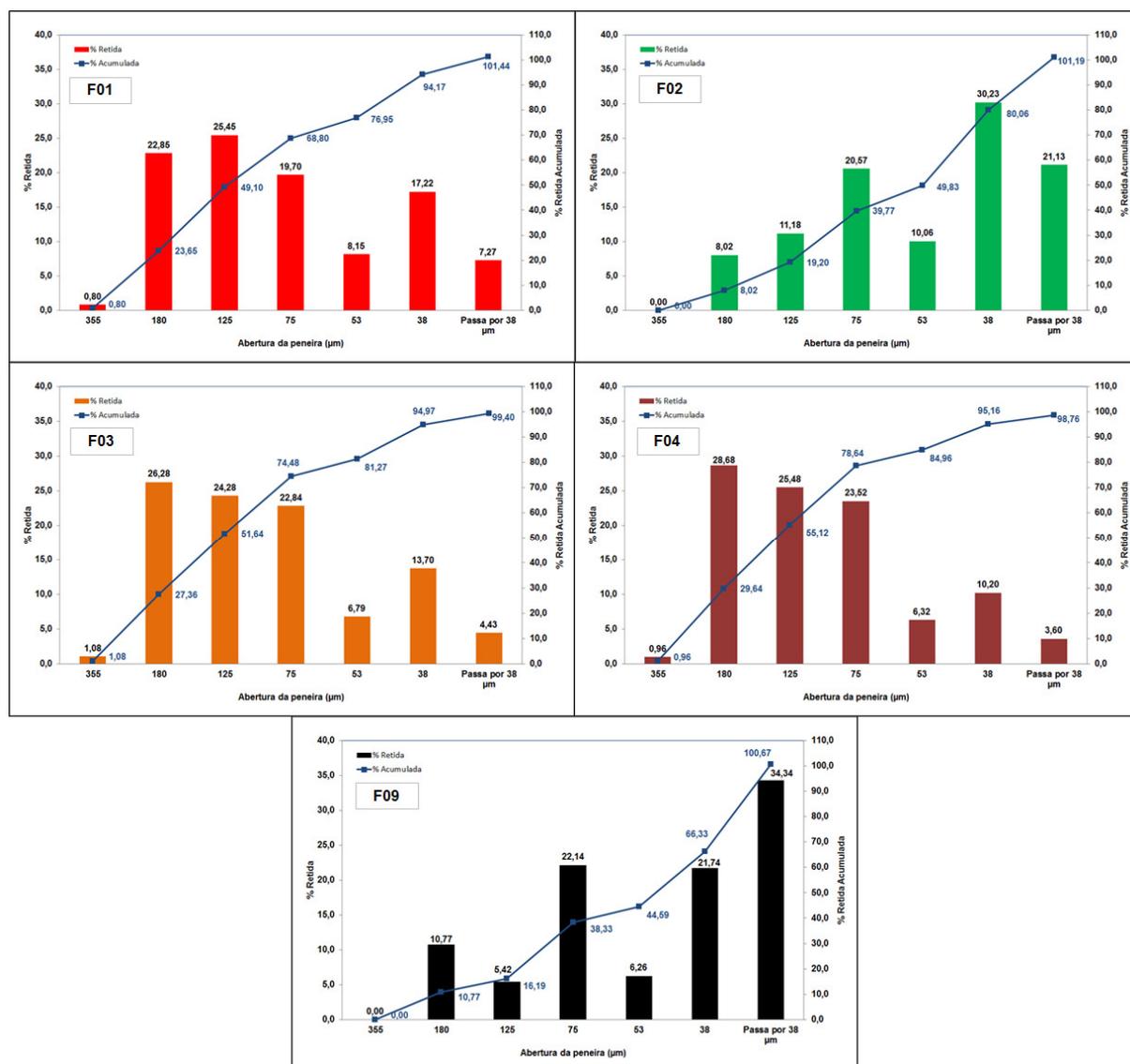


Figura 38 – Representação gráfica da distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de compressão direta (Barra = percentagem retida; Linha = percentagem retida acumulada).

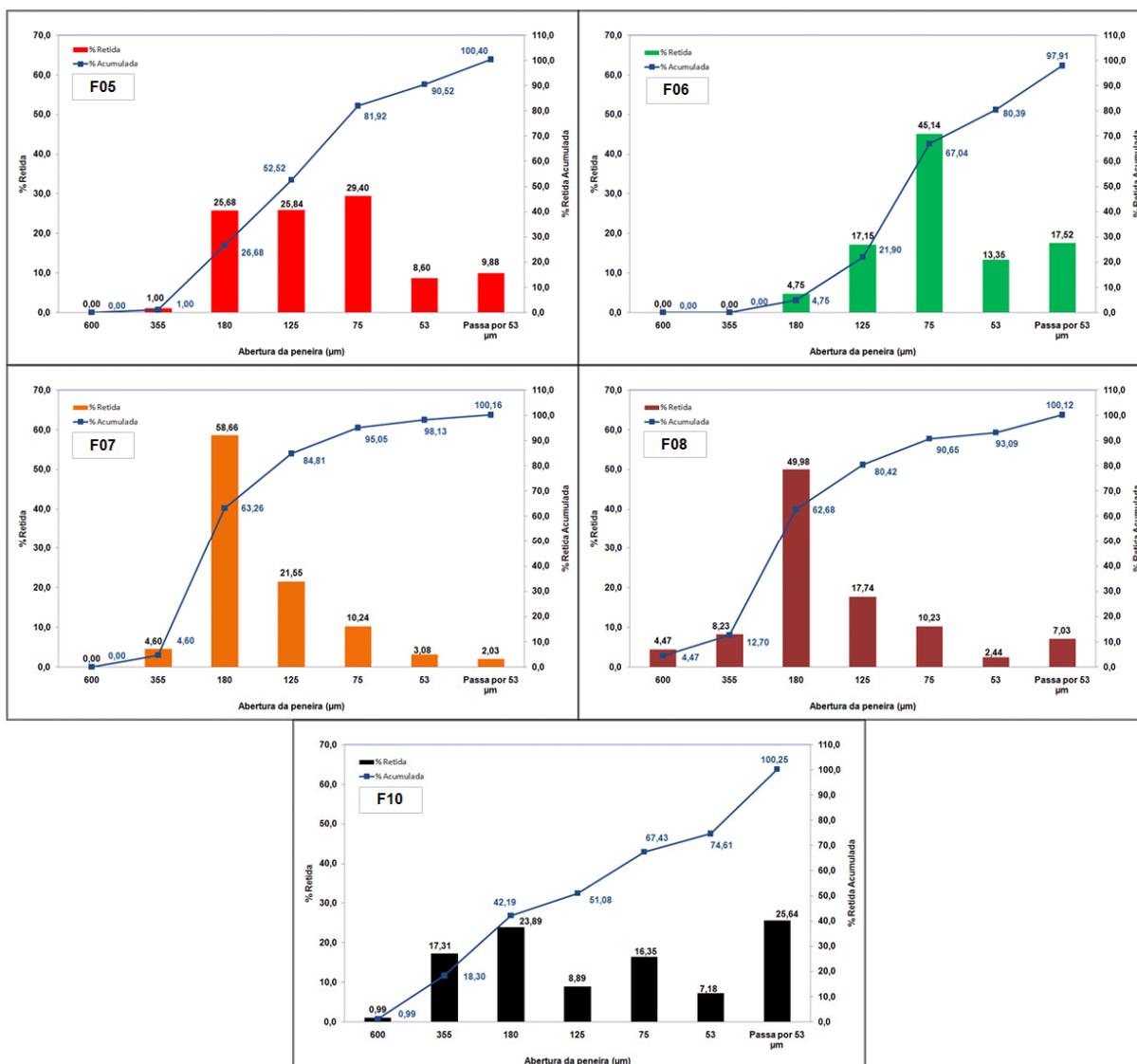


Figura 39 - Representação gráfica da distribuição granulométrica das misturas finais das formulações fabricadas pelo método de granulação úmida (Barra = percentagem retida; Linha = percentagem retida acumulada).

5.1.3.2 Avaliação do processo de compressão

O processo de compressão foi realizado conforme planejado, sendo todas as formulações comprimidas com velocidade de 5.000 comprimidos por hora, com exceção das formulações F10, comprimida com velocidade de 2.000 comprimidos por hora, e F09 comprimida no modo monopunção com alimentação manual da matriz, devido à quantidade reduzida de pó disponível de ambas as formulações.

A formulação F09, que utilizou a ETA-MICRO e processo de compressão direta, apresentou péssima processabilidade, resultando em dificuldade de enchimento da matriz com a quantidade de mistura necessária para se atingir o peso médio teórico do comprimido (600 mg) e força de compressão além da permitida pelo punção utilizado, provocando travamento da compressora. Devido a este fato, o processo foi interrompido, não se obtendo comprimidos para prosseguir com as avaliações desta formulação.

As demais formulações tiveram processabilidade adequada para a escala de fabricação utilizada, sendo as forças de compressão e de ejeção registradas e apresentadas na Figura 40 e Figura 41.

Avaliando-se os valores obtidos para as forças de compressão (Figura 40) verifica-se que estas foram menores para as formulações F10, F08, F06 e F02, sugerindo melhor compressibilidade das formulações que utilizaram ETA-MOÍDA (F08, F06 e F02) e ETA-MICRO (F10) em comparação com as formulações que utilizaram a ETA, assim como relatado por Veessler e cols. (1992), Yajima e cols. (1996) e Cury (2008) onde concluem que a distribuição de tamanho de partícula dos materiais particulados afeta em vários parâmetros de processos, entre eles a compressão.

A formulação F04, que utilizou a ETA, foi a que necessitou maior força de compressão, demonstrando péssima compressibilidade e produzindo comprimidos de baixa dureza e alta friabilidade, estes últimos a serem apresentados e discutidos mais à frente neste trabalho.

Com relação às forças de ejeção (Figura 41) nota-se valores significativamente menores obtidos para as formulações F01 e F02. Entretanto, os valores obtidos para as demais formulações não são considerados altos por não ter sido evidenciada visualmente aderência dos comprimidos aos punções ou ruído excessivo do equipamento durante o processo de compressão.

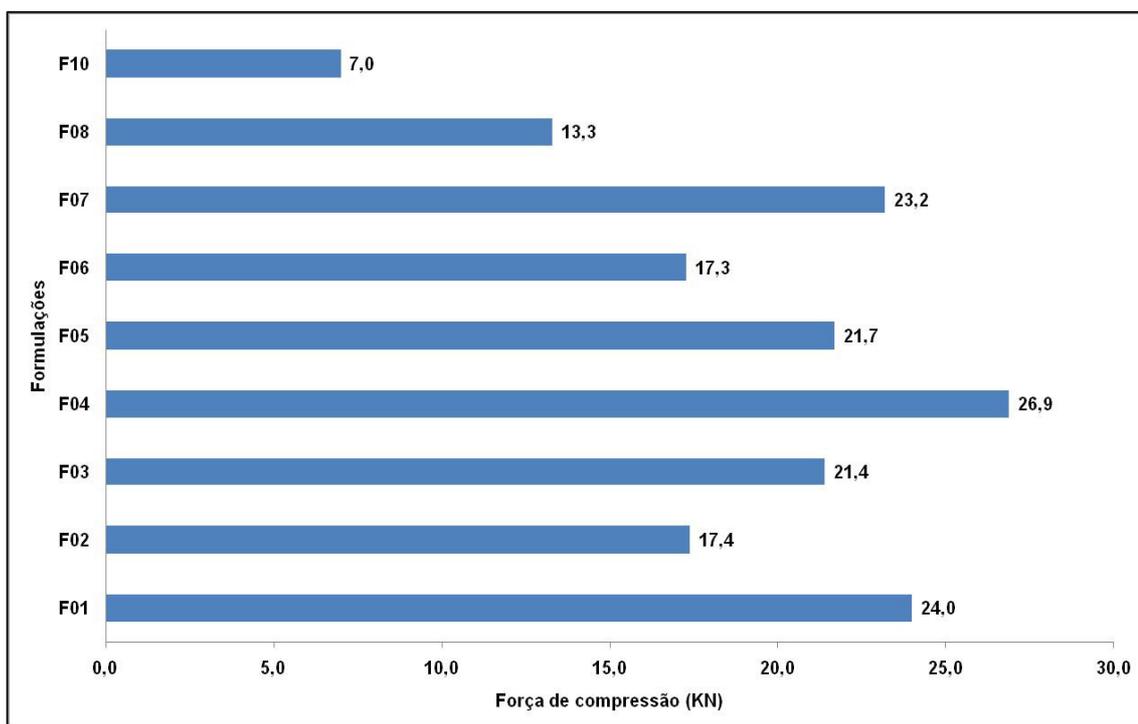


Figura 40 - Força de compressão (KN) registrada pela compressora durante o processo de compressão das formulações.

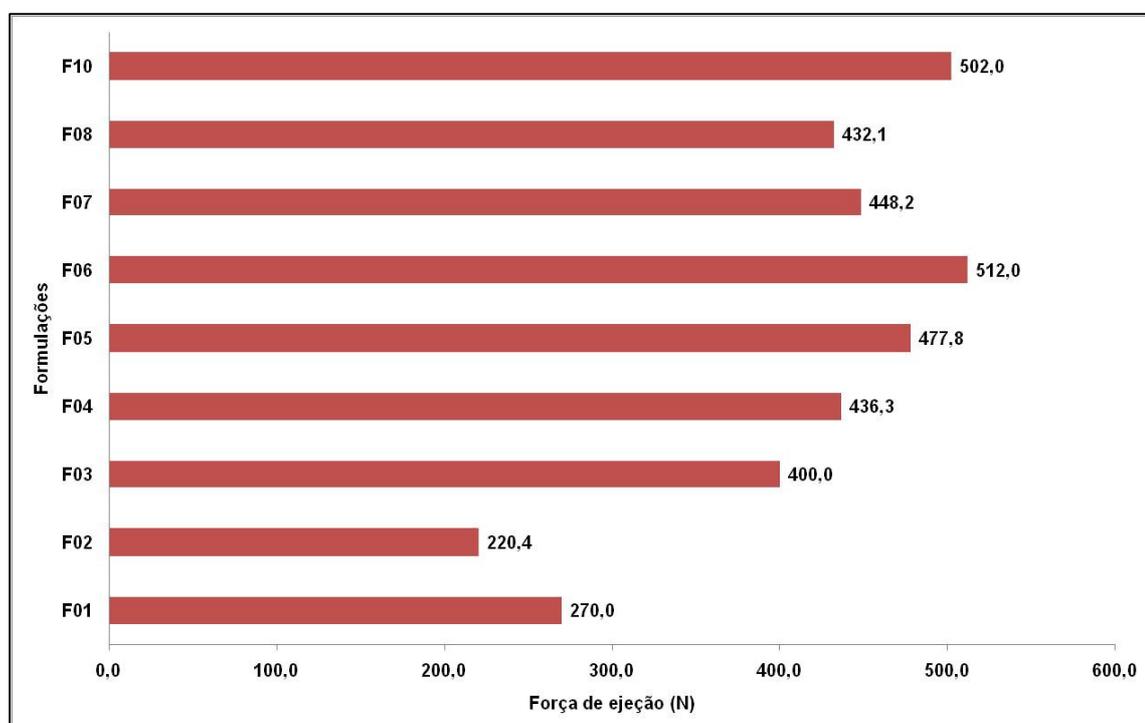


Figura 41 - Força de ejeção (N) registrada pela compressora durante o processo de compressão das formulações.

5.1.3.3 Avaliação dos comprimidos obtidos após processo de compressão

5.1.3.3.1 Avaliação do peso dos comprimidos

A Farmacopéia Brasileira 5ª Edição especifica para comprimidos com peso teórico acima de 250 mg uma variação não superior a 5,0% do peso médio prático obtido, podendo se encontrar no máximo dois comprimidos fora deste limite mas nenhum acima do dobro do mesmo, ou seja, superior a 10%. Todas as formulações apresentaram variação de peso dentro destes limites. Esta afirmação pode ser evidenciada, na Tabela 35, pelos valores de peso mínimo e máximo obtidos para todas as formulações, e a porcentagem de variação mínima e máxima destes valores calculados em relação ao peso médio prático obtido para cada formulação.

Tabela 35 - Avaliação da variação de peso dos comprimidos obtidos durante o processo de compressão (n = 60).

Formulação ^a		Peso Médio (mg)	Peso Mín. (mg)	Peso Máx. (mg)	Varição Mín. (%)	Varição Máx. (%)
Compressão Direta	F01	602,3	596,7	609,1	0,93	1,13
	F02	601,9	595,3	611,5	1,10	1,59
	F03	411,5	405,5	417,2	1,46	1,39
	F04	417,7	409,3	424,4	2,01	1,60
	F05	415,0	408,6	425,8	1,54	2,60
Granulação Úmida	F06	415,7	412,7	418,0	0,72	0,55
	F07	415,1	409,6	419,9	1,32	1,16
	F08	416,1	412,1	420,2	0,96	0,99
	F09	419,6	414,2	424,9	1,29	1,26
	F10	419,6	414,2	424,9	1,29	1,26

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F10.

5.1.3.3.2 Avaliação da dureza, espessura e friabilidade dos comprimidos

As amostras das formulações foram submetidas aos ensaios de dureza, espessura e friabilidade e os resultados estão apresentados na Tabela 36.

As formulações de peso médio de 600 mg (F01 e F02) foram ajustadas para obtenção de dureza média em torno de 120 N e as formulações de peso médio de 414 mg ajustadas para obtenção de dureza média em torno de 100 N. Essa diferença foi planejada pois as formulações de 600 mg foram comprimidas em punções com 12 mm de diâmetro e as formulações de 414 mg em punções de 9,6 mm de diâmetro e, segundo BANKER (2001), comprimidos maiores necessitam de uma força maior para serem quebrados, sendo mais duros do que comprimidos menores. Com isso, buscou-se uma dureza que na teoria não resultasse em problemas de friabilidade, laminação ou descabeçamento.

Mesmo assim, pôde-se observar na prática dos experimentos executados, que as formulações F03, F04 e F07 resultaram em valores de dureza (86,93 N, 67,10 N e 73,37 N, respectivamente) bem abaixo do previsto. Isso ocorreu devido à baixa compressibilidade destas formulações, evidenciado pelas altas forças de compressão observadas (Figura 40). A dureza de um comprimido, tal como sua espessura, é função do enchimento da matriz e da força de compressão empregada. Para um enchimento da matriz constante, os valores para a dureza aumentam e a espessura diminui com a força de compressão aplicada. Esta relação tende a um valor máximo de dureza e um valor mínimo de espessura, para além dos quais cada aumento na pressão leva à laminação do comprimido com destruição da sua integridade (BANKER, 2001). Não se verificou laminação dos comprimidos destas formulações (F03, F04 e F07) na saída da máquina compressora após a extração do comprimido das matrizes, porém as mesmas foram as que apresentaram os maiores valores de friabilidade (0,24%, 0,69% e 0,58%, respectivamente), percebendo-se ao final deste ensaio comprimidos com as bordas bastante quebradas. Adicionalmente, foi visualizado durante o ensaio de dureza que os comprimidos destas formulações, além de se quebrarem ao meio, também sofriam laminação no durômetro. Todos estes resultados indicam uma grande dificuldade de processabilidade da ETA com tamanhos de partícula consideravelmente grandes, como a utilizada nestas formulações.

Tabela 36 - Avaliação da dureza (n = 30), espessura (n = 30) e friabilidade (n = 20) dos comprimidos obtidos durante o processo de compressão.

Formulação ^a		Dureza Média (N)	Dureza Mín. (N)	Dureza Máx. (N)	Espessura Média (mm)	Friabilidade (%)
Compressão Direta	F01	122,77	117,00	131,00	5,42	0,06
	F02	118,70	109,00	132,00	5,57	0,13
	F03	86,93	80,00	96,00	5,02	0,24
	F04	67,10	61,00	63,00	5,07	0,69
Granulação Úmida	F05	92,20	78,00	103,00	5,15	0,19
	F06	107,80	93,00	133,00	5,17	0,10
	F07	73,37	67,00	79,00	5,10	0,58
	F08	109,46	91,00	126,00	5,13	0,17
	F09					
	F10	113,67	93,00	130,00	5,67	0,12

^aETA: F01, F03, F04, F05 e F07; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F10.

5.1.3.3.3 Avaliação da desintegração dos comprimidos

Os comprimidos obtidos durante a compressão foram submetidos ao ensaio de desintegração conforme planejado no item 4.2.4.3.4, estando os resultados representados graficamente na Figura 42.

Observa-se que todas as formulações apresentaram desintegração rápida tanto em água quanto em HCl 0,1 N, sendo os resultados daquelas fabricadas pelo processo de compressão direta menores do que daquelas fabricadas pelo processo de granulação úmida, além da desintegração em HCl 0,1 N ser menor que em água.

As formulações fabricadas pelo processo de compressão direta apresentaram em média desintegração inferior a 30 segundos. Já as formulações fabricadas pelo processo de granulação úmida apresentaram em média desintegração entre 30 e 60 segundos, com exceção das formulações F08 e F10 que apresentaram desintegração significativamente maior, com comprimidos atingindo valores de até 4,5 minutos para F08 e 2,5 minutos para F10.

Mesmo assim, estes valores não são considerados altos para formulações orais de liberação imediata, sendo que a Farmacopéia Brasileira 5ª Edição preconiza um valor máximo

aceitável de 30 minutos para núcleos de comprimidos revestidos, sendo este o caso das formulações testadas.

Estes resultados sugerem inicialmente que a desintegração dos comprimidos não seria um obstáculo para uma rápida dissolução da ETA, independente do meio a ser utilizado nos estudos de perfil de dissolução, esperando-se um retardamento da liberação da ETA no tempo inicial planejado para o este ensaio, em 5 minutos, com porcentagem dissolvida mais baixa para as formulações fabricadas por granulação úmida em relação às fabricadas por compressão direta, sendo este mais pronunciado para as formulações F08 e F10. Porém, Anderson (2001) relata que não se deve esperar uma correlação entre a desintegração de um comprimido e a dissolução do fármaco; no entanto, como a dissolução de um fármaco a partir de um comprimido fragmentado parece controlar parcial, ou totalmente, a concentração do mesmo no sangue, o teste de desintegração ainda é usado como um guia para o formulador quando da otimização de uma fórmula e controle em processo, assegurando a uniformidade entre lotes.

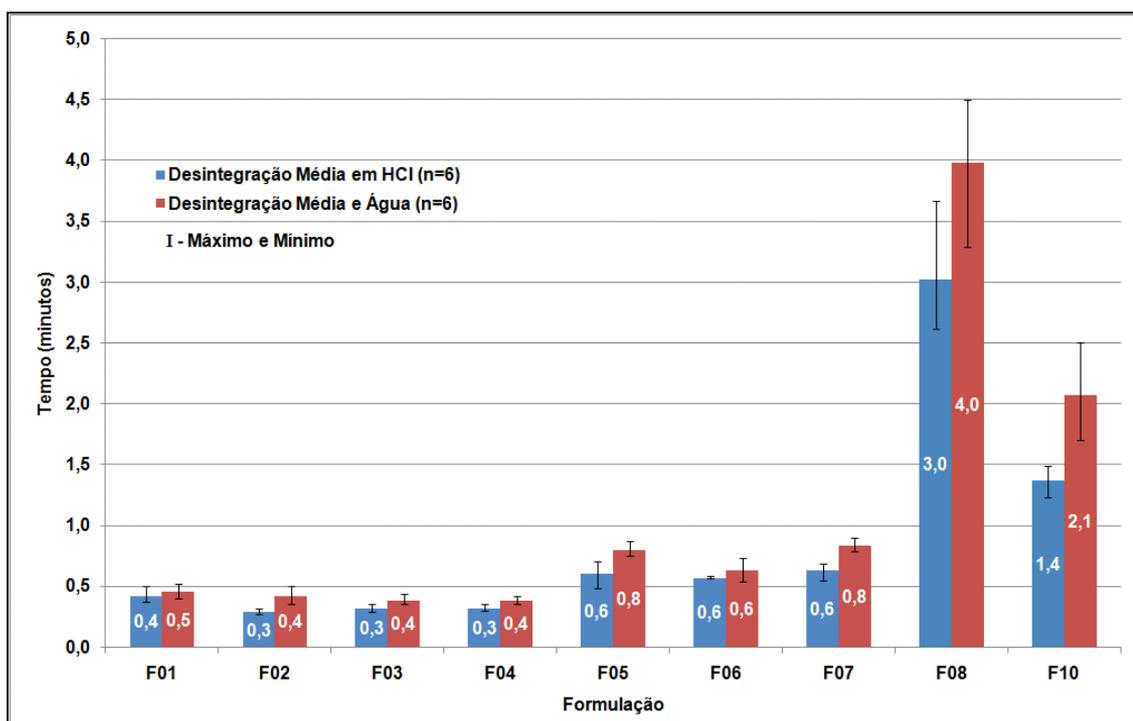


Figura 42 – Desintegração em HCl 0,1N e água a 37 °C dos comprimidos das formulações.

5.1.3.3.4 Avaliação do perfil de dissolução dos comprimidos

5.1.3.3.4.1 Avaliação do perfil de dissolução em HCl 0,1 N

Inicialmente foi realizado o perfil de dissolução em HCl 0,1 N dos comprimidos obtidos após a compressão (Tabela 37 e Figura 43), para as formulações F01, F02, F03, F05, F06 e F08, e do medicamento de referência, Trecator[®], pois este meio e as condições utilizadas para o ensaio de dissolução são os preconizados para comprimidos de etionamida nos compêndios oficiais (FB5a.ed, 2010; USP36/NF31, 2013). As formulações F04 e F07, por apresentarem dureza muito baixa e friabilidade alta, considerando-se comprimidos que seriam submetidos futuramente a um processo de revestimento, foram desconsideradas dos estudos de perfil de dissolução. A formulação F10, que utilizou a ETA-MICRO, por ter sido fabricada após avaliação das demais formulações em todos os meios de dissolução previstos e definição do tampão fosfato pH 6,8 como mais discriminativo, foi avaliada somente neste último.

Tabela 37 - Resultados do perfil de dissolução em HCl 0,1 N pH 1,2 das formulações F01, F02, F03, F05, F06, F08 e do medicamento de referência Trecator[®].

Tempo (minutos)	Formulações ^a						
	Trecator [®]	Compressão Direta			Granulação Úmida		
		F01	F02	F03	F05	F06	F08
		% Diss. ^b (DPR %) ^c	% Diss. (DPR %)				
5	90,0 (8,0)	104,0 (1,0)	103,0 (1,0)	103,0 (1,0)	111,0 (1,0)	103,0 (1,0)	95,0 (7,0)
10	99,0 (4,0)	106,0 (1,0)	102,0 (1,0)	104,0 (1,0)	110,0 (2,0)	103,0 (1,0)	104,0 (1,0)
15	102,0 (2,0)	106,0 (0,0)	102,0 (1,0)	103,0 (1,0)	109,0 (2,0)	104,0 (2,0)	104,0 (0,0)
30	103,0 (1,0)	106,0 (2,0)	103,0 (1,0)	103,0 (1,0)	109,0 (1,0)	104,0 (2,0)	105,0 (1,0)
45	104,0 (0,0)	106,0 (1,0)	103,0 (1,0)	103,0 (1,0)	109,0 (2,0)	103,0 (1,0)	104,0 (0,0)
90	105,0 (1,0)	116,0 (2,0)	102,0 (1,0)	103,0 (1,0)	110,0 (2,0)	104,0 (1,0)	104,0 (1,0)
F1^d	---	7	3	4	9	4	2
F2^e	---	54	62	62	48	62	74

^aETA: F01, F03 e F05; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ^b% Diss. = Porcentagem dissolvida média (n=6); ^cDPR = desvio padrão relativo (n = 6); ^dFator de diferença (ideal entre 0 e 15); ^eFator de semelhança (ideal entre 50 e 100).

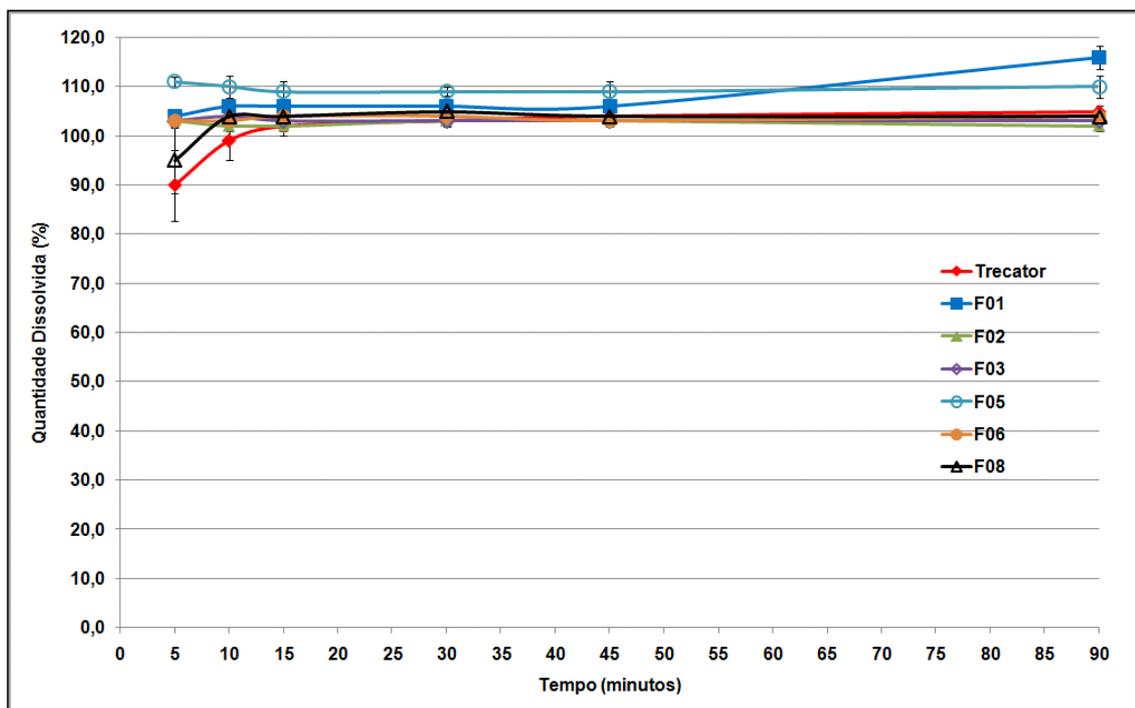


Figura 43 – Perfil de dissolução em HCl 0,1 N pH 1,2.

Todas as formulações testadas, assim como o medicamento de referência, apresentaram dissolução $\geq 90\%$ em HCl 0,1 N já em 5 minutos de ensaio. As formulações F01, F02, F03, F05 e F06 apresentaram resultados acima de 100% em 5 minutos, finalizando em 90 minutos com 116% de fármaco dissolvido para formulação F01 e 110% para a F05, o que pode indicar um teor alto de ETA na formulação ou uma necessidade de adequação do método de quantificação, que poderia estar sofrendo interferência dos excipientes utilizados. O método de quantificação utilizado seguiu os procedimentos descritos na Farmacopéia Brasileira 5^a. Ed para comprimidos de Etionamida e, como os excipientes utilizados foram os mesmos das outras formulações, até mesmo na mesma concentração (F01 = F02 e F05 = F06), seria mais provável que a dissolução elevada estivesse associada ao teor da ETA. Porém, a análise do teor da ETA nas formulações não foi objetivo deste estudo, não se podendo comprovar esta hipótese, nem a validação do método. Ambos serão realizados futuramente, pelo laboratório responsável, com o prosseguimento deste desenvolvimento em Farmanguinhos.

Os resultados sugerem que todas as formulações poderiam ter seus perfis de dissolução considerados semelhantes, o que as habilitaria para um futuro estudo de equivalência farmacêutica. De acordo com os critérios descritos na RDC 31/10 da ANVISA, que dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo, para terem seus perfis de dissolução considerados semelhantes, os medicamentos teste e de referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes, neste caso sendo

classificados como de dissolução muito rápida, pois apresentam mais de 85% do fármaco dissolvidos em 15 minutos. Apresentando este perfil de dissolução muito rápida, a RDC 31/2010 dispensa o cálculo de fator de semelhança (F2), pois este perde seu poder discriminativo (BRASIL, 2010). Independente deste fato, de maneira ilustrativa, foi calculado o fator de semelhança F2 e adicionalmente o fator de diferença (F1), ambos também apresentados na Tabela 37e Figura 43. Com exceção da formulação F05, todas as outras apresentaram valores de F1 e F2 dentro da faixa especificada para os mesmos (F1 entre 0 e 15; F2 entre 50 e 100). A formulação F05 não passou apenas no critério do fator F2 provavelmente pela diferença que poderia haver no teor da mesma, já que apresentou dissolução muito rápida como o medicamento de referência, porém com valor muito alto, 111,0% em 5 minutos, frente ao valor de 90,0% do medicamento de referência neste mesmo tempo, e finalizando com o valor de 110,0% em 90 minutos, frente ao valor de 105,0% do medicamento de referência.

Cabe destacar que o medicamento de referência apresenta-se como comprimido revestido e para as formulações testadas foram avaliados somente os comprimidos obtidos após a compressão (núcleos). De acordo com o levantamento bibliográfico apresentado no início desta dissertação, o medicamento Trecator[®] utiliza sistema de revestimento composto por poli(álcool vinílico) (PVA), sendo o mesmo pH-independente (Koo *et AL.*, 2011), ou seja, não representa uma barreira de dissolução do núcleo do comprimido dependente do pH do meio de dissolução utilizado. Devido a este fato, é comum, durante o desenvolvimento de comprimidos revestidos, avaliar e ajustar inicialmente o perfil de dissolução estudando-se apenas os núcleos dos comprimidos para, posteriormente, desenvolver e testar um sistema de revestimento nas formulações que se mostrarem promissoras. No presente trabalho não houve tempo hábil para incluir o desenvolvimento do sistema de revestimento, que será realizado posteriormente selecionando-se também algum que possua um polímero também pH independente.

Fazendo uma correlação destes resultados com os estudos de caracterização da ETA, os valores de dissolução rápida e o alcance da porcentagem total dissolvida (100%) em HCl 0,1N pH 1,2 não foram uma surpresa, pois os resultados do estudo de solubilidade já demonstraram que neste meio a ETA possui solubilidade alta, considerando o critério do SBC. Já com relação aos ensaios de dissolução por dispersão percebe-se que as formulações promoveram um pequeno aumento da velocidade de dissolução, quando se considera a ETA, e um aumento significativo em relação à ETA-MOÍDA.

Por fim, pode-se concluir que o meio de dissolução HCl 0,1 N pH 1,2 e as condições utilizadas não foram capazes de discriminar as formulações testadas e, conseqüentemente, se um tamanho de partícula reduzido da ETA seria necessário, deixando a dúvida se seria um risco

elevado selecionar apenas uma entre elas para prosseguir com os estudos referentes a aumento de escala, estabilidade, fabricação de lotes pilotos e posterior estudo de bioequivalência. Portanto, deu-se continuidade aos estudos de perfil de dissolução alterando as condições do meio utilizado, conforme apresentado e discutido mais adiante.

5.1.3.3.4.2 Avaliação do perfil de dissolução em tampão acetato pH 4,5

Antes de submeter todas as formulações ao ensaio de perfil de dissolução em tampão acetato pH 4,5, decidiu-se, junto ao laboratório analítico responsável, por analisar inicialmente somente as formulações F01 e F02 frente ao medicamento de referência, para verificar se estas condições seriam suficientes para discriminar a ETA utilizada, já que estas possuíam exatamente a mesma proporção de excipientes, maior similaridade qualitativa e de peso frente ao medicamento de referência, tendo como diferença significativa a utilização da ETA na formulação F01 e ETA-MOÍDA na formulação F02. Os resultados estão apresentados na Tabela 38 e Figura 44, demonstrando queda na velocidade de dissolução em relação ao meio HCl 0,1N e semelhança apenas entre os perfis dissolução do medicamento de referência e da formulação F02 (fator F1 = 6 e fator F2 = 59). O perfil de dissolução da formulação F01 apresentou uma queda de dissolução muito mais significativa, atingindo valor de porcentagem dissolvida de 74,5% em 90 minutos, frente a 94,0% do medicamento de referência e 96,6% da formulação F02, com resultados de F1 igual a 37 e F2 igual a 25, concluindo-se que o tamanho de partícula da ETA seria um fator impactante para se obter uma formulação futuramente equivalente ao medicamento de referência, e que a ETA-MOÍDA obtida no processo de moagem e utilizada na formulação F02 estaria com distribuição de tamanho de partícula promissora para se alcançar o objetivo esperado.

Tabela 38 - Resultados do perfil de dissolução em tampão acetato pH 4,5 das formulações F01, F02, F06, F08 e do medicamento de referência Trecator®.

Tempo (minutos)	Formulações ^a				
	Trecator®	Compressão Direta		Granulação Úmida	
		F01	F02	F06	F08
		% Diss. ^b (DPR %) ^c	% Diss. (DPR %)	% Diss. (DPR %)	% Diss. (DPR %)
5	69,0 (3,0)	25,6 (10,8)	55,4 (9,3)	51,0 (4,0)	59,0 (5,0)
10	77,0 (6,0)	38,9 (11,5)	72,4 (7,2)	63,0 (4,0)	80,0 (3,0)
15	80,0 (6,0)	47,0 (8,7)	80,9 (6,6)	68,0 (4,0)	90,0 (3,0)
30	85,0 (6,0)	58,9 (4,9)	89,4 (3,2)	81,0 (6,0)	101,0 (1,0)
45	89,0 (6,0)	65,0 (4,4)	94,0 (2,1)	86,0 (5,0)	102,0 (1,0)
90	94,0 (4,0)	74,5 (3,4)	96,6 (1,6)	89,0 (7,0)	102,0 (1,0)
F1^d	---	37	6	11	12
F2^e	---	25	59	48	48

^aETA: F01; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ^b% Diss. = Porcentagem dissolvida média (n=6);
^cDPR = desvio padrão relativo (n = 6); ^dFator de diferença (ideal entre 0 e 15); ^eFator de semelhança (ideal entre 50 e 100).

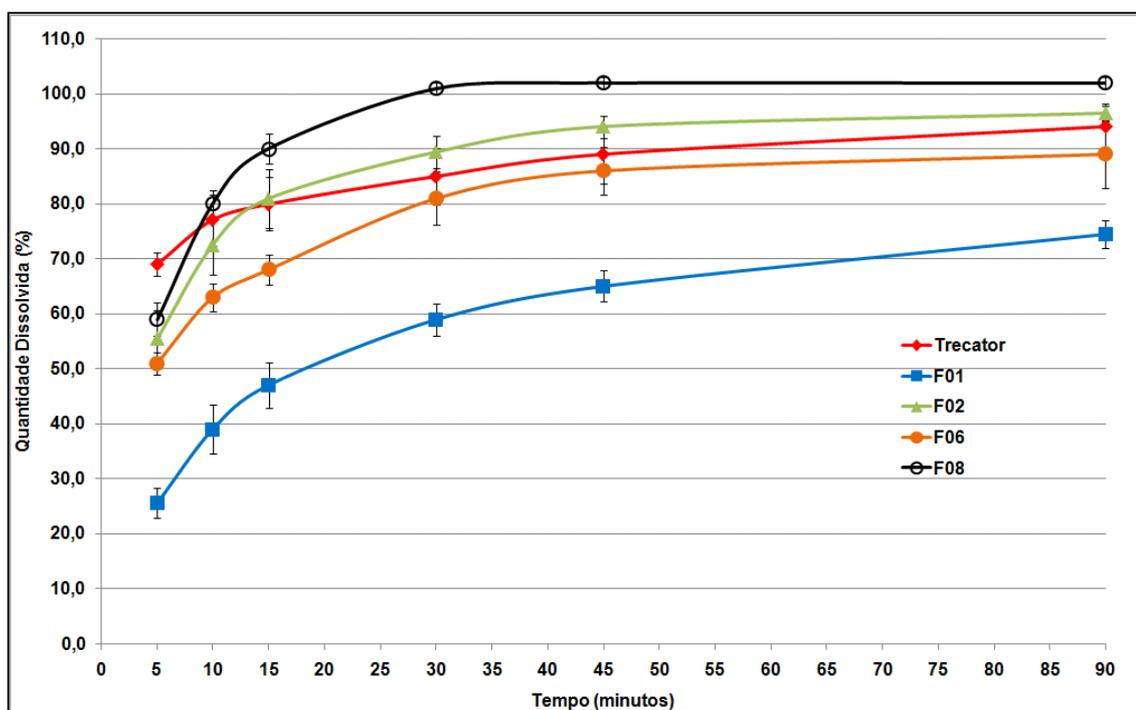


Figura 44 – Perfil de dissolução em Tampão Acetato pH 4,5.

Fazendo-se novamente uma correlação com o ensaio de solubilidade neste mesmo meio de dissolução, obteve-se valor de concentração de saturação da ETA significativamente mais baixo que no meio de dissolução HCl 0,1 N; portanto, era de se esperar que o tampão acetato pH 4,5 fosse mais discriminativo do que o HCl para as formulações testadas. Igualmente, nos ensaios de dissolução por dispersão, a dissolução em tampão acetato pH 4,5 foi menor do que em HCl, esperando-se também maior discriminação, neste caso já identificado no próprio ensaio entre a ETA e a ETA-MOÍDA. Porém, estes divergem do resultado obtido nos perfis de dissolução das formulações, pois nestas últimas a ETA-MOÍDA apresentou dissolução maior do que a ETA, ao contrário do que foi observado na dissolução por dispersão. Isto confirma o fato da dissolução por dispersão nem sempre ser capaz de discriminar de maneira a correlacionar o que realmente ocorrerá nas formulações, devendo ser cuidadosamente avaliadas e ajustadas suas condições e sempre buscar complementar seus resultados com os de outros métodos de caracterização e ensaios comparativos.

Diante destes resultados, decidiu-se não ir adiante com as formulações F03 e F05 na avaliação em tampão acetato pH 4,5, pois certamente apresentariam perfil dissolução semelhante ou mais baixo do que o da formulação F01, pois estas também utilizaram a ETA, diferindo apenas no peso do comprimido, 414 mg para F03 e F05, sendo 600 mg para F01, e processo de fabricação entre elas, compressão direta para F03 e granulação úmida para F05.

Em seguida, executou-se então o ensaio de perfil de dissolução das formulações F06 e F08, ambas fabricadas por granulação úmida, peso médio do comprimido de 414 mg e ETA-MOÍDA, diferindo entre elas no diluente utilizado na granulação, sendo apenas celulose microcristalina 101 na formulação F06 e uma mistura de celulose microcristalina 101 e lactose monohidratada malha 200 na formulação F08. Os resultados de ambas as formulações estão também apresentados na Tabela 38 e Figura 44.

As formulações F06 e F08 apresentaram perfis de dissolução bem distintos entre si, mais elevados que da formulação F01, o que era de se esperar por utilizarem a ETA-MOÍDA, porém não apresentando semelhança frente ao medicamento de referência, fator F2 igual a 48 para ambas, diferente da formulação F02 (fator F2 igual a 59). Em contrapartida, o resultado encontrado para o fator F1 atende ao critério de semelhança de perfil de dissolução, obtendo-se valor igual a 11 para F06 e 12 para F08.

A formulação F06 apresentou perfil de dissolução ligeiramente mais baixo do que o da F02 e o do medicamento de referência, o que levaria a suspeitar que com o aumento da discriminação das condições de dissolução, por exemplo, com a utilização do meio de dissolução tampão fosfato pH 6,8, onde a ETA é ainda menos solúvel, haveria uma queda ainda

maior da dissolução desta formulação, aumentando a diferença frente ao medicamento de referência.

O oposto pode ser observado nos resultados da formulação F08, que apresentou dissolução significativamente maior do que a formulação F02 e medicamento de referência, com média de 90,0% em 15 minutos, ou seja, perfil de dissolução considerado muito rápido. Este fato poderia ser atribuído à baixa força de compressão necessária para obtenção dos comprimidos desta formulação, 13,3 KN frente a 17,3 KN de F06 e 17,4 KN de F02, estando diretamente associado ao sistema diluente empregado (celulose microcristalina 101 : lactose monohidratada), já que esta é a única diferença frente à formulação F06, que também foi fabricada por granulação úmida mas utilizou somente celulose microcristalina 101 como sistema diluente.

É importante destacar que a formulação F08 foi a que apresentou maiores tempos de desintegração dentre as formulações, porém ainda considerado baixo, em torno de 4,0 minutos em água e 3,0 minutos em HCl 0,1, mas mesmo assim levaria a confirmar o relato de Anderson (2001) de que não se deve esperar uma correlação entre a desintegração de um comprimido e a dissolução do fármaco.

Tendo em vista as diferenças encontradas, pode-se concluir que a condição utilizada foi capaz de discriminar as formulações, porém, como se evidenciou que o incremento do pH do meio de dissolução foi o que promoveu a melhor discriminação, a avaliação destas mesmas formulações no tampão fosfato pH 6,8, onde a ETA apresentou menor solubilidade e valores mais baixos de dissolução por dispersão, poderia ser ainda mais discriminativo e colaborar para a melhor tomada de decisão quanto à melhor formulação. Portanto, as formulações F01, F02, F06 e F08, tiveram seus perfis de dissolução avaliados também em tampão fosfato pH 6,8.

5.1.3.3.4.3 Avaliação do perfil de dissolução em tampão fosfato pH 6,8

Os resultados de perfil de dissolução em tampão fosfato pH 6,8 estão apresentados na Tabela 39 e Figura 45. Preliminarmente pôde-se verificar que houve uma queda na velocidade de dissolução das formulações em relação ao ensaio realizado em tampão acetato pH 4,5. Esta queda foi muito maior para as formulações testadas do que para o medicamento de referência, o que resultou na não semelhança do perfil de dissolução da formulação F02, somente segundo o critério do fator F2, assim como também a formulação F08 também não atendeu este critério

de semelhança, porém ambas com valores muito próximos do limite da especificação (F2 = 46 para F02 e F2 = 47 para F08). Já o valor de F1 para ambas as formulações, F02 e F08, atenderia ao critério de perfis equivalentes (F1 = 14 para F02 e F1 = 13 para F08); por outro lado, ainda que aprovados, ambos os valores estão muito próximos de seus limites superiores. As demais formulações, F01 e F06, não apresentaram perfis de dissolução equivalentes, com valores de F1 e F2 muito distantes das especificações de ambos.

Tabela 39 - Resultados do perfil de dissolução em tampão fosfato pH 6,8 das formulações F01, F02, F06, F08, F10 e do medicamento de referência Trecator®.

Tempo (minutos)	Trecator®	Formulações ^a				
		Compressão Direta		Granulação Úmida		
		F01	F02	F06	F08	F10
		% Diss. ^b (DPR %) ^c	% Diss. (DPR %)	% Diss. (DPR %)	% Diss. (DPR %)	% Diss. (DPR %)
5	66,8 (4,0)	19,3 (3,2)	48,2 (5,1)	34,4 (3,6)	47,0 (2,0)	45,3 (7,6)
10	73,4 (4,6)	29,1 (5,4)	59,3 (3,0)	42,3 (4,4)	61,0 (4,0)	90,9 (1,6)
15	75,8 (5,0)	35,5 (5,9)	65,7 (4,3)	47,9 (4,5)	70,0 (5,0)	100,8 (1,3)
30	82,4 (4,9)	45,4 (4,6)	74,8 (3,8)	72,9 (10,7)	87,0 (6,0)	103,4 (1,9)
45	85,0 (4,4)	50,1 (2,9)	77,5 (3,2)	91,2 (4,5)	93,0 (4,0)	102,0 (5,5)
90	91,2 (5,9)	59,5 (5,5)	82,7 (3,7)	101,2 (4,7)	100,0 (1,0)	103,8 (3,4)
F1^d	---	50	14	25	13	24
F2^e	---	20	46	32	47	35

^aETA: F01; ETA-MOÍDA: F02, F06 e F08; ETA-MICRO: F10; ^b% Diss. = Porcentagem dissolvida média (n=6); ^cDPR = desvio padrão relativo (n = 6); ^dFator de diferença (ideal entre 0 e 15); ^eFator de semelhança (ideal entre 50 e 100).

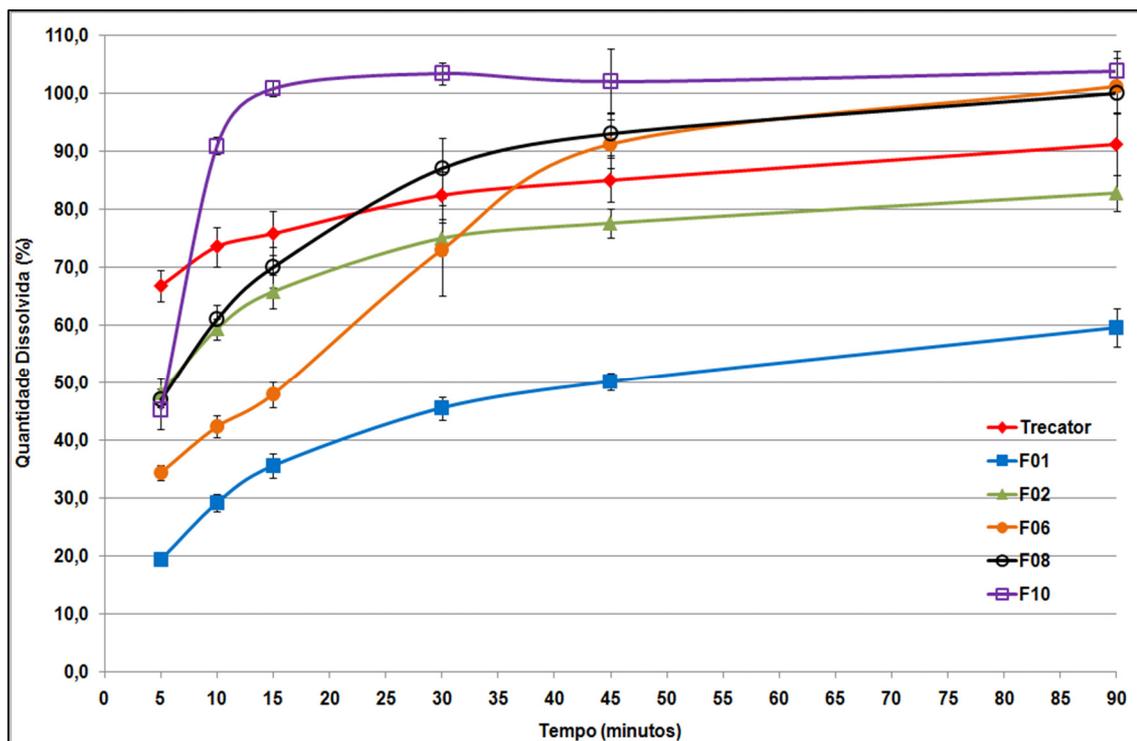


Figura 45 – Perfil de dissolução em Tampão Fosfato pH 6,8.

Um fato que chamou a atenção, não só no meio tampão fosfato pH 6,8 mas também no tampão acetato pH 4,5, é que as formulações F02 e F08 diferiam significativamente do medicamento de referência no tempo de coleta de 5 minutos. Esta diferença significativa e, sua consequente interferência na equivalência dos perfis, pode ser confirmada com o cálculo dos fatores F1 e F2, se excluído o tempo de coleta de 5 minutos. Com a utilização deste procedimento obteve-se no tampão acetato pH 4,5 os valores de: $F1 = 4$ e $F2 = 70$ para F02; $F1 = 12$ e $F2 = 48$ para F08. Da mesma forma obteve-se no tampão fosfato pH 6,8 os valores de: $F1 = 12$ e $F2 = 50$ para F02; $F1 = 10$ e $F2 = 54$ para F08. Ainda no tampão pH 4,5 a formulação F08 não cumpriu com o critério do fator F2, porém muito próximo do limite. Este procedimento poderia ser utilizado na prática, pois, a RDC 31/10 preconiza que o número de pontos de coleta deve ser representativo do processo de dissolução até que se obtenha platô na curva, sendo obrigatória a quantificação de amostras de, no mínimo, cinco tempos de coleta, todos estes critérios atendidos caso fosse excluído o tempo de 5 minutos da avaliação.

Mesmo com a permissão por parte da RDC 31/10 da exclusão do tempo de coleta de 5 minutos, este artifício mascara, de certa forma, uma diferença evidente das formulações frente ao medicamento de referência e, por isso, decidiu-se investigar este fato. Duas hipóteses foram

levantadas: (1) tempo de desintegração; (2) tamanho de partícula ainda inadequado da ETA-MOÍDA. A primeira hipótese seria relevante apenas para a formulação F08, que de fato apresentou tempo de desintegração mais elevado, em torno de 4 minutos em água, frente a uma desintegração menor do que 30 segundos em água para os comprimidos da formulação F02 e, por isso, julgou-se que a segunda hipótese deveria ser investigada. Para tanto, promoveu-se a micronização da ETA obtendo-se a ETA-MICRO, caracterizada e discutida nesta dissertação. Com esta ETA-MICRO fabricou-se as formulações F09 e F10, também já discutidas anteriormente, submetendo-se apenas a formulação F10, fabricada por granulação úmida, a avaliação do perfil de dissolução no tampão fosfato pH 6,8. Infelizmente, a formulação F09, fabricada por compressão direta, não apresentou processabilidade para se obter comprimidos para a avaliação do perfil de dissolução, fato também já justificado anteriormente. Nota-se com os resultados da formulação F10 (Tabela 39 e Figura 45), um aumento significativo da dissolução da ETA, com valor de 100,8% de dissolução já em 15 minutos, porém a dissolução em 5 minutos ainda permaneceu baixa, mesmo esta possuindo tempo de desintegração menor do que a formulação F08, menor do que 2,5 minutos em água. Obviamente, a elevada dissolução resultou também em valores de F1 e F2 (24 e 35, respectivamente) que indicam falta de semelhança do perfil de dissolução frente ao medicamento de referência.

Portanto, pôde-se concluir que para se obter maior semelhança do perfil de dissolução frente ao medicamento de referência, um tamanho de partícula para ETA muito menor do que aquele obtido com a ETA-MOÍDA não seria a solução. Consequentemente, as formulações F02 e F08 deveriam ser estudadas mais a fundo quanto aos parâmetros de processo e suas constituições qualitativas e quantitativas, com o objetivo de melhorar os valores de F1 e F2. Este é um trabalho dispendioso principalmente em se tratando de duas formulações com características extremamente diferentes, a ser definido em nível estratégico de Farmanguinhos se ambas seriam estudadas ou, se uma delas seria descartada. Para tomada desta decisão cabe destacar a vantagem principal de cada uma delas, que seria: (F01) processo de fabricação de menor custo e tempo, por se tratar do método de compressão direta; (F08) comprimidos com a mesma característica (peso e aspecto) do produto atualmente registrado por Farmanguinhos e possível melhor aceitação para o tratamento em questão (tuberculose) por serem menores, este fato melhor discutido anteriormente nesta tese. Obviamente que além destas vantagens poderão ser considerados estudos de custo da formulação. Fatores que dizem respeito ao processo de compressão estudados neste trabalho, mesmo que possam indicar melhor processabilidade de uma formulação em detrimento da outra, não poderiam ser considerados tão significativos para esta decisão, pelo menos na escala experimental trabalhada, pois ambas apresentaram-se

aceitáveis, não infringindo critérios de qualidade. Se estes últimos fatores ainda forem colocados em dúvida, os mesmos poderiam ser novamente colocados a prova, se comparadas as fabricações de ambas as formulações em uma escala semi-industrial ou piloto, sendo possível com isso avaliar aspectos de qualidade, fluidez e compressibilidade nas velocidades das compressoras industriais. Vale destacar que estamos aqui tratando de resultados de núcleos de comprimidos revestidos e que nestes estudos posteriores a etapa de revestimento já deveria estar desenvolvida e ser contemplada.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, podem ser tiradas diversas conclusões que estariam alinhadas aos objetivos deste trabalho, tanto com relação ao fármaco e suas características físicas e físico-químicas, quanto a formulações e processos de fabricação promissores para obtenção de um produto dentro dos critérios de qualidade e futuro candidato a medicamento bioequivalente ao medicamento de referência (Trecator[®]).

Os estudos de solubilidade, dissolução por dispersão e dissolução intrínseca, confirmaram que a ETA pode ser classificada como fármaco de classe II (baixa solubilidade) no SCB. Embora os estudos de dissolução por dispersão tenham conseguido diferenciar as diferentes amostras de ETA, não foi possível obter uma completa correlação destes resultados com os perfis de dissolução das formulações, necessitando maiores estudos das condições do ensaio em busca desta correlação.

Os processos de redução de tamanho de partícula da ETA atingiram o objetivo esperado com a obtenção de materiais significativamente diferentes, atestados nas avaliações das características físicas das amostras, não impactando em alterações da estrutura cristalina interna e parâmetros de qualidade físico-químicos descritos nos compêndios oficiais. Entretanto, estes processos são passíveis de ajustes em parâmetros de realização dos mesmos para otimização do tempo, rendimento e uniformidade do produto obtido.

Os estudos de distribuição granulométrica de ETA foram capazes de evidenciar e diferenciar as amostras provenientes dos processos de redução de tamanho de partícula. O método de agitação por peneiras não seria adequado para caracterizar amostras de tamanho de partícula de amostras micronizadas, e para as amostras de ETA e ETA-MICRO, foi possível encontrar uma correlação mais próxima deste método com o método de difração de LASER apenas para a ETA-MOÍDA adicionada de 0,5% de SiO₂. O método de difração de LASER utilizado, método dispersão a seco, também não foi suficientemente eficaz para caracterizar a distribuição granulométrica da amostra micronizada, pois os resultados entre as replicatas apresentaram variações fora dos limites estabelecidos pelos compêndios e normas, cabendo também ajustes de parâmetros ou desenvolvimento e validação do método de dispersão úmida, não disponível no período de realização deste trabalho. Mesmo assim, comparando-se os resultados obtidos por ambos os métodos com as fotomicrografias de MEV e MO, conclui-se que o método de difração de LASER gerou resultados mais realistas, portanto, sendo mais adequado para controle de amostras futuras. Por fim, pode-se sugerir uma especificação de

distribuição granulométrica para se obter resultados satisfatórios frente as expectativas de perfil de dissolução das formulações, a partir dos resultados da ETA-MOÍDA, esta utilizada nas formulações consideradas promissoras para continuidade futura do desenvolvimento. As especificações de distribuição granulométrica sugeridas são:

- $d_{90} = 113,26 \mu\text{m} \pm 1,069$ (Intervalo de Confiança de 95%)
- $d_{50} = 32,32 \mu\text{m} \pm 1,499$ (Intervalo de Confiança de 95%)

Foram produzidas formulações com as amostras de ETA, ETA-MOÍDA e ETA-MICRO. Os métodos físicos utilizados para caracterização destas formulações se mostraram eficientes na diferenciação das mesmas.

Nos estudos de fluidez, as formulações fabricadas por granulação úmida apresentaram, de forma geral, melhores resultados. Entre as formulações fabricadas por compressão direta, que foram classificadas como de fluxo pobre, tiveram maiores tempos de escoamento ou não escoaram nos estudos de fluxo por orifícios, somente a formulação F09 confirmou-se inadequada durante os estudos de compressão. As demais formulações, que seriam classificadas de pior fluidez, apresentaram resultados aceitáveis de variação de peso durante o processo de compressão na escala e velocidades utilizadas neste trabalho e, portanto, confirmando a classificação de fluxo no mínimo aceitável obtido para as mesmas.

Todas as formulações demonstraram variação de peso dos comprimidos dentro dos limites aceitáveis. As formulações fabricadas com a ETA e o peso médio dos comprimidos de 414 mg, independente do processo de fabricação, apresentaram processabilidade inadequada, atingindo altas forças de compressão, baixa dureza e/ou alta friabilidade. A formulação fabricada com ETA-MICRO e processo de compressão direta apresentou péssima processabilidade, inviabilizando a obtenção de comprimidos para sequência dos estudos com a mesma. Aquela fabricada com ETA-MICRO e processo de granulação úmida mostrou-se mais adequada, obtendo-se o menor valor de força de compressão para a obtenção dos comprimidos. Entretanto os parâmetros do processo de granulação úmida utilizando a ETA-MICRO deveriam ser revistos para melhoria da distribuição granulométrica da mistura final e fluidez da formulação. As formulações fabricadas com a ETA-MOÍDA apresentaram resultados satisfatórios independente do processo de fabricação utilizado, com destaque para formulação F08 que apresentou os melhores resultados de fluidez e menores forças de compressão para obtenção dos comprimidos.

Com exceção das formulações F08 e F10, todas as formulações apresentaram resultados de desintegração, em água e HCl, inferiores a um minuto. Entretanto, os resultados obtidos para

as formulações F08 e F10 não são considerados altos, com desintegração não superior a quatro minutos. Não foi evidenciada uma correlação direta entre os resultados de desintegração e perfil de dissolução, até porque as formulações F08 e F10 foram as que demonstraram maiores valores de dissolução frente às formulações testadas.

Os estudos de dissolução das formulações consideradas adequadas, a partir das avaliações físicas e do processo de compressão, atingiram o objetivo esperado, sendo o meio de dissolução pH 6,8 a condição mais discriminativa para seleção das formulações, diferente da condição descrita nos compêndios oficiais (HCl 0,1 N) que não se mostraram discriminativas. Os estudos demonstraram que, para se obter maior semelhança de perfil de dissolução frente o medicamento de referência, é importante a utilização de ETA com a distribuição granulométrica da ETA-MOÍDA, sendo as formulações F02 (fabricada por compressão direta) e F08 (fabricada por granulação úmida) as que apresentaram melhores resultados de perfil de dissolução comparativo em todas as condições utilizadas. Entretanto, não foi obtido perfil de dissolução considerado semelhante ao do medicamento referência, frente aos critérios do fator de semelhança F2 (ideal entre 50 e 100), embora muito próximo do limite ($F2 = 46$ para F02 e $F2 = 47$ para F08). Portanto, estas formulações (F02 e F08) seriam candidatas promissoras para continuidade dos trabalhos de desenvolvimento como: desenvolvimento da etapa de revestimento; ajustes na formulação do núcleo para obtenção de completa semelhança do perfil de dissolução frente ao medicamento de referência na condição considerada mais discriminativa (meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8); deverão ser realizados testes de compressão em escala maior de produção para desafiar e comparar a fluidez e processabilidade das formulações. A partir destes últimos trabalhos, poderá ocorrer a seleção da mais da melhor formulação para fabricação de lotes pilotos e realização de estudos de estabilidade, equivalência farmacêutica e bioequivalência.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEYEYE, M. C.; BRITTAN, H.G. **Preformulation in Solid Dosage Development**. vol. 178. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2008. 596p
- AGUIAR, Fernando Armani. **Caracterização das propriedades do estado sólido do diclofenado de sódio e avaliação destas propriedades no perfil *in vitro* de dissolução e no efeito farmacológico**. 2009. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Riberão Preto, Universidade de São Paulo.
- AMIDON, G.L.; LENNERNÅS, H.; SHAH, P.V.; CRISON, J.R. **A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability**. *Pharmaceutical Research*, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
- ANDERSON, N. R.; BANKER, G. S.. **Comprimidos**. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L.. *Teoria e prática na indústria farmacêutica. Volume II, Capítulo 11*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR., L. V.. **Farmacotécnica – Formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 2000.
- BANKER, G.S; ANDERSON, N. R.. **Comprimidos**. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L.. *Teoria e prática na indústria farmacêutica. Volume II, Capítulo 11*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001.
- BEYSSAC, E.; LAVIGNE, J. **Dissolution study of active pharmaceutical ingredients using the flow through apparatus USP 4**. *Dissolution Technologies*, p. 23-25. 2005.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 899, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo**. Diário Oficial da União, Brasília, 12 de agosto de 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 35, de 15 de junho de 2012. Dispõe sobre os critérios de indicação, inclusão e exclusão de medicamentos na Lista de Medicamentos de Referência**. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de junho de 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 37, de 03 de agosto de 2011. Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência**. Diário Oficial da União, Brasília, 05 de agosto de 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual técnico para o controle da tuberculose: cadernos de atenção básica / Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde Departamento de Atenção Básica. 6. ed. rev. e ampl. . Brasília: Ministério da Saúde, 2002.**

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.
- BRITTAİN, H.G. **Polymorfism in Pharmaceutical Solids.** vol. 95. New York: Marcel Deck, 1999. 419p.
- CONWAY, B. R.. *Solid Dosage Forms. In: PHARMACEUTICAL MANUFACTURING HANDBOOK. Production and Processes. Section 4.1.* John Wiley & Sons, Inc.. United States of America, 2008.
- CURY, B. S. F.; SILVA, N. P. J.; CASTRO, A. D.. **Influência das propriedades de granulados de celulose nas características físicas dos comprimidos.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 29, n.1, p. 37-44, 2008.
- DYAS, M. A.; SHAH, U. U. **Dissolution and Dissolution Testing.** In SWARBRICK, J. **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.** 3. ed. v. 2 p 909-910.
- ETHIONAMIDE. **Tuberculosis,** 88(2), 106–108, 2008. Disponível em: <http://www.intl.elsevierhealth.com/journals/tube> (Acessado em 01/04/2013).
- FARMANGUINHOS ETIONAMIDA. **Bula do medicamento FARMANGUINHOS ETIONAMIDA.** Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[25586-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[25586-1-0].PDF) (Acessado em: 01/04/2013).
- FB5ed. **FARMACOPEIA BRASILEIRA 5 ed.,** Volume 1 e Volume 2. Brasília: ANVISA, 2010.
- FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry: -Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system.** Rockville: FDA, 2000. 13p.
- FIGEISE, E. F; HAGEN, T. A.. *Pré-formulação. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L.. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Volume I, Capítulo 8.* Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001.
- FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia.** 3.ed. São Paulo: Edups- Editora da Universidade de São Paulo, 2003. 732 p.
- GIBSON, M. **Pharmaceutical Preformulation and Formulation.** 2. ed. v. 199. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2009, 541p.
- HENDRIKSEN, B. A.; WILLIAMS, J. D.. **Does the preferred orientation of crystallites in tablets affect the intrinsic dissolution?** J. Pharm. Biomed. Anal., v. 43, p. 1315-1323, 2007.

- JOSHI, J. T.. **A Review on Micronization Techniques**. Journal of Pharmaceutical Science and Technology Vol. 3 (7), p. 651-681, 2011.
- KASSIM, N.A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNAS, H.; HUSSAIN, A.S.; JUNGINGER, H.E.; STAVCHANSKY, S.A.; MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; AMIDON, G.L.. **Molecular Proprieties of WHO Essential Drugs and provisional Biopharmaceutical Classification**. Molecular Pharmaceutics, v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004.
- Koo, O. M. Y.; Fiske, J. D.; Yang, H.; Nikfar, F.; Thakur, A.; Scheer, B.; Adams, M. L.. **Investigation into Stability of Poly(Vinyl Alcohol)-Based Opadry® II Films**. AAPS PharmSciTech, Vol. 12, No. 2, June 2011
- MARSHALL, K.. *Compressão e Consolidação de Sólidos em Pó*. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L.. *Teoria e prática na indústria farmacêutica. Volume I, Capítulo 4*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001.
- MEMENTO. **Etionamida em Memento terapêutico**. Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 302 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde)
- MOFFAT, A. C.; JACKSON, J. V.; MOSS, M. S.; WIDDOP, B.; GREENFIELD, E. S.. **Clarke's Isolation and Identification of Drugs. 2a. edição**. The Pharmaceutical Press. Londres, 1986.
- NOONAN, T. **The physico-chemical properties of the anti-tuberculosis drug ethionamide**. 2012. Dissertation submitted in fulfilment of the requirements of the degree Magister Scientiae in the Department of Pharmaceutics at the Potchefstroom campus of the North-West University.
- PARROTT, E. L.. *Moagem*. In: LACHMAN, L; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L.. *Teoria e prática na indústria farmacêutica. Volume I, Capítulo 2*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 2001.
- PH. EUR. **European Pharmacopoeia 7th Edition**. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. 2012
- PH. INT.. **The International Pharmacopoeia 4a. edição**. World Health Organization. 2011
- QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G. **Developing solid dosage forms. 1. ed**. New York: Elsevier Inc., 2009, 921p.
- RIOS, M. **Developments in powder flow testing**. Pharmaceutucial Technology. 2006.
- ROSA, M. F. V. R.O. **Dissolução intrínseca: Conceito e aplicações na indústria farmacêutica**. Revista Eletrônica de Farmácia, v. IX ,n.1, p. 49 – 61, 2012.
- SINGHAL, D.; CURATOLO, W. **Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective**. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 56, p. 335–347, 2004.

- SOSNIK, A.; CACABOSO, A. M.; GLISONI, R. J.; MORETTON, M. A.; CHIAPPETTA, D. **A. New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery.** *Advanced Drug Delivery Reviews.* v. 62, p. 547-559, 2010.
- STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica.** 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 321p.
- STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F.S.; VILANOVA, C.M. **A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas.** Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/genericos_referencia.pdf >. Acesso em: 15 jan. 2006.
- TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, L. X.; AMIDON, G. L.. **A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan.** *MOLECULAR PHARMACEUTICS,* VOL. 3, NO. 6, 631-643, 2006.
- TOEHWE, L. H.. **Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de prednisonabioequivalentes aolongo do estudo de estabilidade.** 2013. Dissertação: Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica. Farmanguinhos/FIOCRUZ.
- TRECTOR - **ethionamide tablet, film coated.** Wyeth Pharmaceuticals Company, a subsidiary of Pfizer Inc. ET02 Rev 11/07. Disponível em: <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=473> (Acessado em 01/04/2013).
- USP36/NF31. **The United States Pharmacopeia, The National Formulary – USP 36/NF 31.** Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2013.
- WAGH, M. P.; PATEL, J. S.. **Biopharmaceutical Classification System: Scientific Basis For Biowaiver Extensions.** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* Vol 2, Issue 1, 2010.
- WATERBEEMD, H. V.; TESTA, B. **Drug Bioavailability - Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability.** 2.ed. v.40. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. 624p.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing.** Geneva, 2009.
- WHO. **List of Prequalified Medicinal Products. Tuberculosis.** Disponível em: <http://www.who.int/prequal/> (Acessado em: 25/03/2013)
- WHO. **Prequalification of Medicines Programme. Recommended comparator products: anti-tuberculosis medicines.** Guidance Document, 29 October 2012. Disponível em: http://apps.who.int/prequal/info_applicants/BE/Comparators-RH_2009June.pdf (Acessado em: 03/04/2013)

WYETH. **Antibiotic Product Formulation.** World Intellectual Property Organization. International Patent Number WO 2006/045006 A1, 27 April 2006.

YAJIMA, T.; ITAI, S.; HAYASHI, H.; TAKAYAMA, K.; NAGAI, T.. **Optimization of size distribution of granules for tablet compression.** Chem Pharm Bull, v. 44, p. 1056-1060, 1996.

VEESLER, S.; BOISTELLE, R.; DELACOURTE, A.; GUYOT, J. C.; GUYOT-HERMANN, A. M.. **Influence of structure and size of crystalline aggregates on their compression ability.** Drug Dev Ind Pharm, p. 539-60, 1992.