

Janine Boniatti

**Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição
granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo
farmacêutico ativo efavirenz**

Rio de Janeiro

2013

Janine Boniatti

**Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica
por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo efavirenz**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tereza Cristina dos Santos

Co-orientador: Dr. Edson Ferreira da Silva

Rio de Janeiro

2013

Janine Boniatti

Ficha catalográfica elaborada pela

Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

B715d Boniatti, Janine

Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo Efavirenz. / Janine Boniatti – Rio de Janeiro, 2013.

xxv, 191f. : il.; 30 cm.

Orientadora: Prof^a. Dra^a. Tereza Cristina dos Santos
Co-orientador: Dr. Edson Ferreira da Silva

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2013.

Bibliografia: f. 157-164

1. Distribuição granulométrica por espalhamento de luz Laser. 2. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica.
3. Efavirenz. I. Título.

CDD615.19

Janine Boniatti

Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo efavirenz

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 de de .

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Erika Martins de Carvalho
Farmanguinhos – FIOCRUZ (Presidente da Banca)

Prof. Dr^a. Mônica Freiman de S. Ramos
Farmanguinhos – FIOCRUZ

Dr^a. Laís Bastos da Fonseca
Serviço de Farmacocinética – SEFAR - FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2013

Aos meus pais Altair e Jaquelina, exemplos de coragem, honestidade, amor e caráter. Eles me ensinaram que com dedicação, trabalho e fé em Deus é possível atingir os nossos sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela saúde, pelo amor e por sempre acompanhar e guiar meus passos.

Aos meus pais Altair e Jaquelina pelo amor gigantesco, pela preocupação diária, pelo incentivo, força e por inúmeras vezes terem abdicados dos seus sonhos para tornar os meus realidade.

Ao meu irmão Vinícius pelo incentivo, alegria e parceria de sempre.

Ao Marcio pela paciência sem medida, incentivo, carinho e por acreditar e apoiar meus planos que acabaram se tornando nossos planos. Obrigada pelo chimarrão que por muitas noites me ajudou a prosseguir por horas.

À toda minha família por compreenderem a minha ausência. Obrigada a todos pelas constantes orações e torcida.

À minha orientadora Tereza, pela atenção, cuidado, amizade e ensinamentos.

Ao meu co-orientador Edson, pelas discussões, amizade e profissionalismo.

À toda maravilhosa equipe do LEES: ao Altivo pelas inúmeras revisões, sugestões e dedicação - agradeço muito pela amizade, incentivo, ensinamentos e por acreditar neste trabalho; ao Rafael, pela amizade, convívio diário, discussões e apoio; a Sabrina, “minha” querida estagiária, pelos ensaios e presteza; a Fernanda, pela torcida e pelas longas horas noturnas de Farmanguinhos.

A todos os colegas de Farmanguinhos que de uma forma ou de outra me ajudaram e estavam presentes, diariamente, para uma conversa ou para de fato colocar a “mão na massa”. Obrigada a todos! Em especial, ao Sr. Celso pela presteza em dias de análise e, a Alessandra Viçosa, pela disponibilidade de sempre, amizade, parceria e por auxiliar a abrir novas portas. Ao Vitor, Douglas e Daniel. A Juliana, sempre tão amiga e delicada. Minha querida Ana Paula, amiga, companheira e incentivadora. A Luciana Pitta pelas análises estatísticas. A Renata Moutinho pelas traduções. Enfim, todos os grandes profissionais da CDT de Farmanguinhos.

À todas minhas amigas e amigos, cariocas e gaúchas (os). Obrigada pela compreensão nas inúmeras ausências, pela torcida e pelo incentivo. Em especial a Erica, a Denise, a Bruna, a Marília e ao Carlos.

A todos os meus colegas de mestrado pela adorável convivência, coleguismo, e pela oportunidade de fazer novas e grandes amizades.

Aos professores do programa de mestrado que de uma forma humilde passaram grandes ensinamentos a todos nós.

Agradeço à Plataforma de Microscopia Eletrônica Adolf Barth pela estrutura e disponibilidade para realização das análises de MEV. Obrigada aos grandes profissionais Roger e Rômulo por me ensinarem generosamente a operar o equipamento, aos ensinamentos e ao excelente convívio.

À equipe da Altmann e Malvern pelas discussões técnicas, especialmente ao Wagner, Henrique, Eduardo e Alan Rawle.

À Farmanguinhos/FIOCRUZ pela estrutura e disponibilidade para que eu pudesse realizar este trabalho.

Quando a sua realidade muda, seus sonhos não precisam mudar também.

Marc Herremans

RESUMO

BONIATTI, JANINE. *Desenvolvimento e validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo efavirenz*. 2013. 217f. Dissertação Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

Nas formas farmacêuticas sólidas, a biodisponibilidade de um fármaco está ligada a sua dissolução e esta, por sua vez, tem relação com a distribuição granulométrica. Além disso, a distribuição granulométrica pode impactar diretamente nos processos de fabricação e na qualidade do medicamento.

Atualmente, a técnica de espalhamento de luz laser tem sido amplamente utilizada na análise da distribuição granulométrica. Embora os equipamentos sejam relativamente simples ao manuseio, há a necessidade de um desenvolvimento adequado de metodologia (contemplando diversos pontos) a fim de garantir resultados confiáveis, robustos e precisos.

A ISO 13320 (2009) trata da técnica de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser e as farmacopeias referenciam a ISO 13320 na descrição dos métodos e dos parâmetros técnicos, inclusive na validação.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar a metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico ativo (IFA) efavirenz, o qual é um fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade (SCB classe II) e, segundo documento da *World Health Organization* (WHO) de 2011, o sucesso de formas farmacêuticas de efavirenz depende, dentre outros fatores, da caracterização adequada do IFA, sendo destacada a importância do conhecimento de sua distribuição granulométrica.

Foram utilizadas 5 amostras de efavirenz de 3 fabricantes diferentes (A, B e C): EFZ-A1 e EFZ-A2 (etapa de desenvolvimento); EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1 (etapa de validação). As amostras foram avaliadas por microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser foi realizada no equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments), utilizando o módulo Hydro 2000S. As amostras foram previamente dispersas em 10 mL de solução contendo tensoativo e submetidas a ultrassom. Os tensoativos avaliados foram: polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85, Triton X-100, LSS, CTAC e Igepal® 630CA. O procedimento de validação foi baseado na repetibilidade do sistema, repetibilidade da metodologia e precisão intermédia.

A análise microscópica mostrou que todas as amostras apresentam morfologia semelhante. Os polissorbatos 40, 60 e 80 foram os tensoativos que apresentaram melhor desempenho na análise. No final do desenvolvimento, foram definidos os seguintes parâmetros para a análise de distribuição granulométrica do efavirenz, por espalhamento de luz laser: 50% de agitação (1750 rpm), 50% de ultrassom, polissorbato 80 [0,02% (p/v)] como tensoativo e tempo de dispersão da amostra no equipamento antes da medição igual a 10min. Na etapa de validação, os coeficientes de variação ficaram dentro dos limites previamente estabelecidos para as amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1, nos quesitos repetibilidade do sistema, repetibilidade da metodologia e precisão intermediária.

Palavras-chave: Distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica. Efavirenz.

ABSTRACT

BONIATTI, JANINE. Development and validation of the particle size distribution methodology by laser light scattering technique for the efavirenz active pharmaceutical ingredient. 2013. 217f. Dissertação Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

In solid pharmaceutical forms, the bioavailability of a drug is related to its dissolution, which is, in turn, related to the particle size distribution. Besides, the particle size distribution can directly impact in the manufacturing processes and in the quality of the drug.

Nowadays, the laser light scattering technique is widely used in the analysis of particle size distribution. Although the equipment is relatively simple to handle, there is a need for an adequate development of methodology (contemplating several points) to ensure reliable, robust and accurate results.

The ISO 13320 refers to the particle size distribution by laser light scattering technique, and the pharmacopoeias refer to the ISO 13320 in the description of methods and technical parameters, even for validation.

The purpose of this study was to develop and validate the methodology of particle size distribution by laser light scattering for the efavirenz active pharmaceutical ingredient (API), which is a drug with low solubility and high permeability (BCS class II) and, according to a document from the World Health Organization (WHO) (2011), the success of pharmaceutical forms of efavirenz depends, among other factors, on the appropriate characterization of the API, being highlighted the importance of knowing their size distribution.

Five samples of efavirenz, from three different manufacturers (A, B and C), were used: EFZ-A1 and EFZ-A2 (development stage); EFZ-A3, EFZ-B1 and EFZ-C1 (validation stage). The samples were evaluated by OM and SEM. The analysis of particle size distribution by laser light scattering was performed on the equipment Mastersizer 2000 (Malvern Instruments), using the Hydro 2000S module. The samples have been previously dispersed in 10 mL of a solution containing surfactant and subjected to ultrasound. The evaluated surfactants were: polysorbate 20, 40, 60, 80 and 85, Triton X-100, SLS, CTAC and Igepal® 630CA. The validation procedure was based on the repeatability of the system, the repeatability of the methodology, and on intermediate precision.

The microscopic analysis showed that all samples presented similar morphology. The polysorbates 40, 60 and 80 were the surfactants that showed better performance in the analysis. At the end of development, the following parameters have been defined for the analysis of size distribution by laser light scattering of efavirenz: 50% agitation (1750 rpm), 50% ultrasound, polysorbate 80 [0.02% (w/v)] as surfactant, and dispersion time of the sample in the equipment before measurement equal to 10 minutes. In the validation stage, the coefficients of variation of repeatability of the system, repeatability of the methodology, and intermediate precision were within the previously established limits for all analyzed samples (EFZ-A3, EFZ-B1 and EFZ-C1).

Keywords: Particle size distribution by laser light scattering. Development and validation of analytical methodology. Efavirenz.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 1. | Representação esquemática dos diferentes estágios de um fármaco desde a sua produção até sua completa eliminação..... | 26 |
| Figura 2. | Faixa de distribuição granulométrica para diferentes vias de administração de medicamentos..... | 27 |
| Figura 3. | Dimensões de partículas..... | 32 |
| Figura 4. | Apresentação de diferentes segmentos que fazem uso da análise de distribuição granulométrica nos seus processos produtivos..... | 33 |
| Figura 5. | Níveis sanguíneos de fenobarbital <i>versus</i> injeções intramusculares de três formas de dosagem: solução, suspensão com partículas em torno de 6,63 μ m e suspensão com partículas em torno de 29,96 μ m..... | 40 |
| Figura 6. | Algumas das diferentes técnicas existentes no mercado para a determinação de distribuição granulométrica e suas faixas aproximadas de medições..... | 42 |
| Figura 7. | Algumas formas de partículas e suas respectivas denominações..... | 43 |
| Figura 8. | Exemplo da utilização do conceito de esfera equivalente (esfera de mesmo volume)..... | 44 |
| Figura 9. | Diferentes diâmetros de esferas equivalentes gerados a partir de uma partícula irregular..... | 45 |
| Figura 10. | Representação dos gráficos usualmente utilizados para reportar resultados de distribuição granulométrica, onde: distribuição de frequência dos tamanhos incremental (histograma ou linha) e, distribuição de frequência dos tamanhos acumulado..... | 46 |
| Figura 11. | Representação de uma amostra a) monodispersa e outra b) polidispersa..... | 47 |
| Figura 12. | Representação das distribuições: a) simétrica e b) assimétrica. | 48 |
| Figura 13. | Representação dos percentis comumente utilizados para a representação de uma distribuição granulométrica..... | 49 |
| Figura 14. | (a) Agitador eletromagnético com os tamises de diferentes aberturas de malhas e, (b) modelos de tamises ressaltando o desenho quadricular das malhas..... | 50 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 15. | Diâmetro “ d_s ” de tamisação de diversas formas de partículas | 50 |
| Figura 16. | Representação esquemática da influência da forma de uma partícula passando pela abertura de uma malha do tamis na análise por peneira. a) impossibilidade de passagem de uma partícula cilíndrica pelo tamis em função do seu posicionamento; b) possibilidade da passagem de uma partícula cilíndrica pelo tamis em função do seu posicionamento | 51 |
| Figura 17. | a) Peneira de metal com aberturas de $5\mu\text{m}$ danificadas com o uso/limpeza prolongado e, b) Peneira de tecido com aberturas de $45\mu\text{m}$ danificadas pela limpeza com escova de aço | 52 |
| Figura 18. | Intervalo de análise para métodos por microscopia | 53 |
| Figura 19. | Representação do funcionamento de um microscópio ótico | 54 |
| Figura 20. | Métodos de medida de partículas irregulares, onde: (F) diâmetro de Feret, (M) diâmetro de Martin, (d_a) diâmetro da área projetada, ($F_{\text{máx}}$) dimensão máxima, (d_p) dimensão do perímetro e, intercepto horizontal máximo | 55 |
| Figura 21. | Influência da orientação das partículas nas medidas de Martin e Feret..... | 56 |
| Figura 22. | Representação do funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura..... | 57 |
| Figura 23. | Esquema do princípio de espalhamento de luz laser | 59 |
| Figura 24. | Interação de um feixe de luz com uma partícula esférica | 60 |
| Figura 25. | Representação do invólucro formado pela incidência da luz laser em uma partícula pequena (a), em uma partícula grande (b) e, (c) exemplificação da transformação da medida em um gráfico de distribuição granulométrica..... | 61 |
| Figura 26. | Espalhamento de luz padrão de uma esfera de $5\mu\text{m}$ (Índice de refração (IR) meio, $n_{\text{H}_2\text{O}}$: 1,33; λ = 633nm; IR partícula obtido por $n_p = 1,59 - 0,0i$) onde: x = detectores do eixo x; y = detectores do eixo y e z = intensidade relativa..... | 61 |
| Figura 27. | a) padrão de espalhamento de luz de uma partícula retangular e, b) padrão de espalhamento de luz de uma partícula irregular | 62 |
| Figura 28. | Representação das diferenças na incidência de um feixe de luz sobre uma partícula esférica entre a aproximação de Fraunhofer e a teoria de Mie | 64 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 29. | Comparação do padrão de espalhamento entre partículas transparentes de 3 μ m e 100 μ m, onde: a) indica a maior flutuação entre os espalhamentos de Mie e Fraunhofer em ângulos maiores (Fraunhofer apresenta menor sensibilidade de detecção) e, b) indica a similaridade dos espalhamentos (Mie e Fraunhofer) quando os tamanhos de partículas são maiores que 50 μ m | 65 |
| Figura 30. | Força de adesão entre as partículas em relação ao tamanho da partícula | 67 |
| Figura 31. | Tipos de mistura..... | 68 |
| Figura 32. | a) dispersão das partículas pelo fluxo de ar; b) dispersão das partículas pela colisão mecânica partícula-partícula; c) dispersão das partículas pela colisão mecânica partícula-paredes do equipamento..... | 71 |
| Figura 33. | Representação de diferentes ângulos de contato formado por uma gotícula de líquido em uma superfície sólida, onde: a) grande ângulo – pouca molhabilidade, b) ângulo intermediário fornecendo características intermediárias de molhabilidade e, c) pequeno ângulo de contato – boa habilidade de molhabilidade | 73 |
| Figura 34. | Representação da vista superior de uma partícula com boa e má molhabilidade e, outra partícula completamente revestida por um líquido | 74 |
| Figura 35. | Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com sua parte apolar e polar..... | 75 |
| Figura 36. | Representação das diferentes classes de tensoativos. (a) Molécula de dodecano de sódio – tensoativo aniônico; (b) Molécula de um sal quaternário de amina graxa – tensoativo catiônico; (c) Molécula de tensoativo anfótero e; (d) Molécula formada por álcool dodecíclico etoxilado – tensoativo não iônico..... | 76 |
| Figura 37. | Representação do comportamento das partículas em solução contendo tensoativo, onde: a) partículas aglomeradas; b) partículas em suspensão contendo concentração adequada de tensoativo e, c) partículas reaglomeradas em solução contendo excesso de tensoativo | 77 |
| Figura 38. | Representação da estabilização eletrostática de suspensão..... | 79 |
| Figura 39. | Representação da estabilização estérica de suspensão | 79 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Figura 40. | Fórmula estrutural do fármaco efavirenz..... | 81 |
| Figura 41. | Movimentos de homogeneização da amostra: a) vertical/horizontal e b) rolagem sob a bancada..... | 90 |
| Figura 42. | Representação esquemática da lâmina utilizada durante as análises das dispersões..... | 91 |
| Figura 43. | Esquema do procedimento de preparo das lâminas para análise por microscopia ótica (soluções contendo tensoativo): a) adição da solução tensoativa em béquer contendo a amostra (pó); b) suspensão (alguns aglomerados presentes); c) banho de ultrassom; d) coleta da amostra nos três estágios, conforme indicação: fundo, meio e superfície; e) lâmina de vidro com amostra em suspensão para análise; f) análise da lâmina de vidro em microscópio ótico..... | 92 |
| Figura 44. | a) <i>Stub</i> ; b) <i>Stub</i> com a fita dupla face – pronto para receber a amostra; c) <i>Stub's</i> contendo a amostra antes da metalização com ouro e, d) <i>Stub's</i> metalizadoa no suporte do metalizador – prontos para serem analisados..... | 93 |
| Figura 45. | Representação esquemática da divisão dos <i>stub's</i> em 4 quadrantes para a obtenção das imagens..... | 94 |
| Figura 46. | Apresentação esquemática dos níveis de agitação e ultrassom avaliados durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 99 |
| Figura 47. | Procedimento utilizado na realização dos experimentos para definir dos níveis de agitação e ultrassom do equipamento Mastersizer 2000 (módulo Hydro2000S), onde: a) pesagem da amostra; b) adição da solução tensoativa (polissorbato 80 – 0,02% (p/v) – 10mL); c) suspensão formada, ainda com alguns aglomerados; d) suspensão submetida a banho de ultrassom por 1 minuto; e) suspensão com as partículas mais dispersas e, f) adição da totalidade da suspensão preparada na cuba do equipamento para análise..... | 101 |
| Figura 48. | Representação do procedimento de análise das diferentes soluções tensoativas..... | 103 |
| Figura 49. | Procedimento realizado para a avaliação da dissolução na cuba do equipamento durante a análise utilizando a metodologia desenvolvida para distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do efavirenz..... | 105 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Figura 50. | Representação do procedimento de análise para as 3 amostras selecionadas para validação, na etapa de repetibilidade do sistema..... | 108 |
| Figura 51. | Representação do procedimento de análise para as 3 amostras selecionadas para validação na etapa de repetibilidade da metodologia..... | 109 |
| Figura 52. | Microfotografias obtidas por MO da amostra de EFZ-A1 utilizando como meio de dispersão óleo mineral..... | 112 |
| Figura 53. | Microfotografias obtidas por MO da amostra de EFZ-A2 utilizando como meio de dispersão óleo mineral..... | 113 |
| Figura 54. | Microfotografias da amostra EFZ-A1. (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) e (d) Magnificação 4000x; (e) Magnificação 8000x e (f) Magnificação 15000x..... | 115 |
| Figura 55. | Microfotografias da amostra EFZ-A2 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) Magnificação 8000x e (e) e (f) Magnificação 15000x..... | 116 |
| Figura 56. | Microfotografias da amostra EFZ-A3 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) e (e) Magnificação 8000x e, (f) Magnificação 15000x..... | 118 |
| Figura 57. | Microfotografias da amostra EFZ-B1 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) e (e) Magnificação 8000x e, (f) Magnificação 15000x..... | 119 |
| Figura 58. | Microfotografias da amostra EFZ-C1 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) e (e) Magnificação 8000x e, (f) Magnificação 15000x..... | 120 |
| Figura 59. | Fluxograma para o desenvolvimento de metodologias para análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 122 |
| Figura 60. | Aspecto visual das soluções tensoativas (todas na concentração 0,02% (m/v)) utilizadas para a execução deste trabalho, onde: 1) polissorbato 85, 2) polissorbato 80, 3) polissorbato 60, 4) polissorbato 40, 5) polissorbato 20, 6) Igepal®CA-630, 7) triton X-100, 8) lauril sulfato de sódio e, 9) cloreto de cetil trimetil amônio..... | 123 |
| Figura 61. | Aspectos visuais durante o preparo da amostra EFZ-A1 pelo método da pasta, para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 126 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Figura 62. | Aspectos visuais durante o preparo das amostras EFZ-A1 e EFZ-A2 (adição de solução tensoativa) para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 127 |
| Figura 63. | Aspectos visuais durante o preparo da amostra EFZ-A1 (adição de solução tensoativa) para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, utilizando diferentes soluções tensoativas..... | 128 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|-----|
| Tabela 1. | Compilação dos termos utilizados para designação do tamanho das partículas por diferentes literaturas..... | 34 |
| Tabela 2. | Diferentes técnicas de amostragem e seus erros associados.... | 70 |
| Tabela 3. | Relação das amostras de efavirenz e denominações utilizadas neste trabalho..... | 87 |
| Tabela 4. | Relação das amostras utilizadas em cada etapa/ensaio deste trabalho..... | 89 |
| Tabela 5. | Tensoativos avaliados durante o desenvolvimento da metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do efavirenz..... | 97 |
| Tabela 6. | Relação das combinações de agitação e ultrassom analisadas e a divisão das combinações em grupos..... | 100 |
| Tabela 7. | Resultados do índice de refração das diferentes soluções tensoativas utilizadas..... | 124 |
| Tabela 8. | Resultados de pH das diferentes soluções tensoativas utilizadas..... | 125 |
| Tabela 9. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 na combinação 5 (1750 rpm (50%) de agitação e 50% de ultrassom)..... | 131 |
| Tabela 10. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2 na combinação 5 (1750 rpm (50%) de agitação e 50% de ultrassom)..... | 131 |
| Tabela 11. | Resultados obtidos na etapa de repetibilidade do sistema para as amostras EFZ A3, B1 e C1, respectivamente..... | 149 |
| Tabela 12. | Resultados obtidos na etapa de repetibilidade do sistema para as amostras EFZ A3, B1 e C1, respectivamente..... | 150 |
| Tabela 13. | Resultados obtidos na etapa de repetibilidade do sistema para as amostras EFZ A3, B1 e C1, respectivamente..... | 152 |
| Tabela 14. | Resultados obtidos para o índice de refração da partícula do efavirenz..... | 153 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | | |
|-------------|--|-----|
| Gráfico 1. | Resultados obtidos para cada uma das combinações testadas de agitação (A) e ultrassom (U) com a amostra EFZ-A1 (triplicata / 3 amostragens)..... | 129 |
| Gráfico 2. | Resultados obtidos para cada uma das combinações testadas de agitação (A) e ultrassom (U) com a amostra EFZ- A2 (triplicata / 3 amostragens)..... | 130 |
| Gráfico 3. | Sobreposição das curvas de distribuição granulométrica referentes as 3 amostragens apresentadas na Tabela 8 para a amostra EFZ-A1..... | 131 |
| Gráfico 4. | Sobreposição das curvas de distribuição granulométrica referentes as 3 amostragens apresentadas na Tabela 9 para a amostra EFZ-A2..... | 131 |
| Gráfico 5. | Desempenho de diferentes soluções tensoativas (polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A1 | 134 |
| Gráfico 6. | Desempenho de diferentes soluções tensoativas (Igepal® CA-630, Triton X-100, LSS e CCTA) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ A1..... | 134 |
| Gráfico 7. | Desempenho de diferentes soluções tensoativas (polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A2 | 136 |
| Gráfico 8. | Desempenho de diferentes soluções tensoativas (Igepal® CA-630, Triton X-100, LSS e CCTA) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A2..... | 136 |
| Gráfico 9. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 138 |
| Gráfico 10. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 138 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| Gráfico 11. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 139 |
| Gráfico 12. | Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A1, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,02% (p/v)..... | 140 |
| Gráfico 13. | Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A1, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,05% (p/v)..... | 141 |
| Gráfico 14. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 142 |
| Gráfico 15. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 142 |
| Gráfico 16. | Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser..... | 143 |
| Gráfico 17. | Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A2, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,02% (p/v). | 144 |
| Gráfico 18. | Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A2, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,05% (p/v)..... | 145 |
| Gráfico 19. | Perfil da dissolução da amostra durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz..... | 147 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| AIDS – | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |
| ANVISA – | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| CID – | Canto Inferior Direito |
| CIE – | Canto Inferior Esquerdo |
| CSD – | Canto Superior Direito |
| CSE – | Canto Superior Esquerdo |
| CCTA – | Cloreto de cetil trimetil amônio |
| DNA – | Ácido desoxiribonucléico |
| DP – | Desvio Padrão |
| EFZ – | Efavirenz |
| EP – | <i>European Pharmacopeia</i> |
| F.BRAS – | Farmacopéia Brasileira |
| FDA – | <i>Food and Drug Administration</i> |
| FIOCRUZ – | Fundação Osvaldo Cruz |
| HIV – | <i>Human Immunodeficiency Virus</i> |
| HPLC – | <i>High Performance Liquid Chromatograph</i> |
| ICH – | <i>International Conference on Harmonization</i> |
| IFA – | Insumo Farmacêutico Ativo |
| IR – | Índice de Refração |
| ISO – | <i>International Organization for Standardization</i> |
| ITRNN – | Inibidor da transcriptase reversa não-nucleosídeo |
| JP – | <i>Japanese Pharmacopeia</i> |
| LLS – | <i>Laser Light Scattering</i> |

| | |
|----------|--|
| SLS – | Lauril Sulfato de Sódio |
| MET – | Microscopia Eletrônica de Transmissão |
| MEV – | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| MO – | Microscopia Ótica |
| P.A – | Para fins analítico |
| RNA – | Ácido ribonucleico |
| SCB – | Sistema de Classificação Biofarmacêutica |
| SUS – | Sistema Único de Saúde |
| USP – | <i>United States Pharmacopeia</i> |
| UV/VIS – | Ultravioleta/Visível |
| WHO – | <i>World Health Organization</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|-------------|---|----|
| | INTRODUÇÃO | 26 |
| 1 | REVISÃO DA LITERATURA | 32 |
| 1.1 | Distribuição granulométrica | 32 |
| 1.2 | Técnicas para análise de distribuição granulométrica | 42 |
| 1.2.1 | <u>Tamisação</u> | 49 |
| 1.2.2 | <u>Microscopia</u> | 52 |
| 1.2.2.1 | Microscopia ótica..... | 53 |
| 1.2.2.2 | Microscopia eletrônica de varredura..... | 57 |
| 1.2.3 | <u>Espalhamento de luz laser</u> | 58 |
| 1.3 | Desenvolvimento de metodologia para análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser... | 66 |
| 1.3.1 | <u>Amostra</u> | 66 |
| 1.3.1.1 | Inspeção da amostra..... | 66 |
| 1.3.1.2 | Amostragem..... | 68 |
| 1.3.2 | <u>Condições de análise</u> | 70 |
| 1.3.2.1 | Meio de dispersão..... | 70 |
| 1.3.2.1.1 | Dispersão em seco..... | 71 |
| 1.3.2.1.2 | Dispersão em líquido..... | 72 |
| 1.3.2.1.2.1 | Tensoativos..... | 75 |
| 1.3.2.2 | Preparo da amostra..... | 80 |
| 1.4 | Efavirenz | 80 |
| 1.5 | Validação - Normas e compêndios oficiais que regulamentam a técnica de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser | 82 |
| 2 | OBJETIVOS | 86 |
| 2.1 | Objetivo geral | 86 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 86 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 87 |
| 3.1 | Materiais | 87 |
| 3.1.1 | <u>Insumos farmacêuticos ativos, reagentes e tensoativos</u> | 87 |
| 3.1.2 | <u>Equipamentos e acessórios</u> | 88 |
| 3.2 | Métodos | 89 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| 3.2.1 | <u>Amostras e denominações</u> | 89 |
| 3.2.2 | <u>Homogeneização das amostras</u> | 90 |
| 3.2.3 | <u>Microscopia</u> | 90 |
| 3.2.3.1 | Microscopia Ótica (MO)..... | 90 |
| 3.2.3.2 | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 93 |
| 3.2.4 | <u>Desenvolvimento da metodologia de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz..</u> | 94 |
| 3.2.4.1 | Amostras..... | 94 |
| 3.2.4.2 | Preparo da amostra e seleção de parâmetros externos..... | 95 |
| 3.2.4.2.1 | Pasta..... | 95 |
| 3.2.4.2.2 | Suspensão..... | 95 |
| 3.2.4.2.3 | Soluções tensoativas..... | 95 |
| 3.2.4.2.3.1 | Análise do índice de refração – soluções tensoativas..... | 98 |
| 3.2.4.2.3.2 | Análise de pH – soluções tensoativas..... | 98 |
| 3.2.4.3 | Seleção de parâmetros do equipamento..... | 98 |
| 3.2.4.3.1 | Meio de dispersão..... | 98 |
| 3.2.4.3.2 | Agitação e Ultrassom..... | 99 |
| 3.2.4.4 | Avaliação do desempenho de diferentes soluções tensoativas na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz..... | 102 |
| 3.2.4.5 | Avaliação da concentração – Soluções tensoativas..... | 104 |
| 3.2.4.6 | Avaliação da dissolução do IFA durante o período de análise..... | 104 |
| 3.2.5 | <u>Validação</u> | 107 |
| 3.2.5.1 | Amostras – validação..... | 107 |
| 3.2.5.2 | Análise da repetibilidade do sistema..... | 108 |
| 3.2.5.3 | Análise da repetibilidade da metodologia..... | 109 |
| 3.2.5.4 | Precisão intermediária..... | 109 |
| 3.2.6 | <u>Determinação do Índice de refração da partícula de efavirenz</u> | 110 |
| 4 | RESULTADOS | 111 |
| 4.1 | Microscopia | 111 |
| 4.1.1 | <u>Microscopia Ótica</u> | 111 |
| 4.1.2 | <u>Microscopia Eletrônica de Varredura</u> | 114 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.2 | Desenvolvimento da metodologia de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz..... | 121 |
| 4.2.1 | <u>Soluções tensoativas.....</u> | 123 |
| 4.2.1.1 | Análise do índice de refração – soluções tensoativas..... | 123 |
| 4.2.1.2 | Análise de pH – soluções tensoativas..... | 124 |
| 4.2.2 | <u>Preparo da amostra - Seleção de parâmetros externos.....</u> | 125 |
| 4.2.2.1 | Preparo de pasta..... | 125 |
| 4.2.2.2 | Suspensão – Adição da solução tensoativa..... | 126 |
| 4.2.3 | <u>Seleção de parâmetros do equipamento – Mastersizer 2000 – Hydro2000S.....</u> | 128 |
| 4.2.3.1 | Agitação (A) e Ultrassom (U)..... | 128 |
| 4.2.4 | <u>Seleção da solução tensoativa.....</u> | 133 |
| 4.2.4.1 | Avaliação da concentração – soluções tensoativas..... | 137 |
| 4.2.5 | <u>Avaliação da dissolução do IFA durante o período de análise.....</u> | 146 |
| 4.3 | Validação..... | 148 |
| 4.3.1 | <u>Elaboração de um protocolo de validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser – dispersão em líquido – efavirenz.....</u> | 148 |
| 4.3.2 | <u>Análise de repetibilidade do sistema.....</u> | 148 |
| 4.3.3 | <u>Análise de repetibilidade da metodologia.....</u> | 150 |
| 4.3.4 | <u>Precisão intermediária.....</u> | 151 |
| 4.4 | Estimativa do índice de refração da partícula de efavirenz.... | 153 |
| 5 | CONCLUSÕES..... | 155 |
| 6 | PERSPECTIVAS..... | 156 |
| 7 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 157 |
| | ANEXO I - Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 1..... | 165 |
| | ANEXO II - Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 2..... | 166 |
| | ANEXO III - Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 3..... | 167 |

| | |
|---|-----|
| ANEXO IV - Avaliação dos paramentos de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 1..... | 168 |
| ANEXO V - Avaliação dos paramentos de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 2..... | 169 |
| ANEXO VI - Avaliação dos paramentos de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 3..... | 170 |
| ANEXO VII - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos (polissorbatos) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)..... | 171 |
| ANEXO VIII - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)..... | 172 |
| ANEXO IX - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos (polissorbatos) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)..... | 173 |
| ANEXO X - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)..... | 174 |
| ANEXO XI - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)..... | 175 |
| ANEXO XII - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)..... | 176 |
| ANEXO XIII - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)..... | 177 |

| | |
|--|-----|
| ANEXO XIV - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)..... | 178 |
| ANEXO XV - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)..... | 179 |
| ANEXO XVI - Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)..... | 180 |
| ANEXO XVII - Equações utilizadas na etapa de avaliação da massa dissolvida durante o período de análise de distribuição granulométrica do IFA efavirenz por espalhamento de luz laser.. | 181 |
| ANEXO XVIII - Protocolo de Validação de metodologia analítica para a determinação da distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz..... | 182 |
| ANEXO XIX - Resultados da etapa de validação – Repetibilidade do sistema – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1..... | 207 |
| ANEXO XX - Resultados da etapa de validação – Repetibilidade da metodologia – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1..... | 210 |
| ANEXO XXI - Resultados da etapa de validação – Precisão intermediária – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1..... | 213 |
| ANEXO XXII - Equações utilizadas como base para os cálculos de aproximação do índice de refração da partícula de efavirenz.. | 216 |

INTRODUÇÃO

Difícilmente os fármacos são administrados como substâncias químicas puras, geralmente eles são utilizados na forma de medicamentos. Desde a produção do fármaco até a sua eliminação pelo paciente após ter sido administrado como medicamento, diversas etapas estão envolvidas (Figura 1) (YORK, 2001).

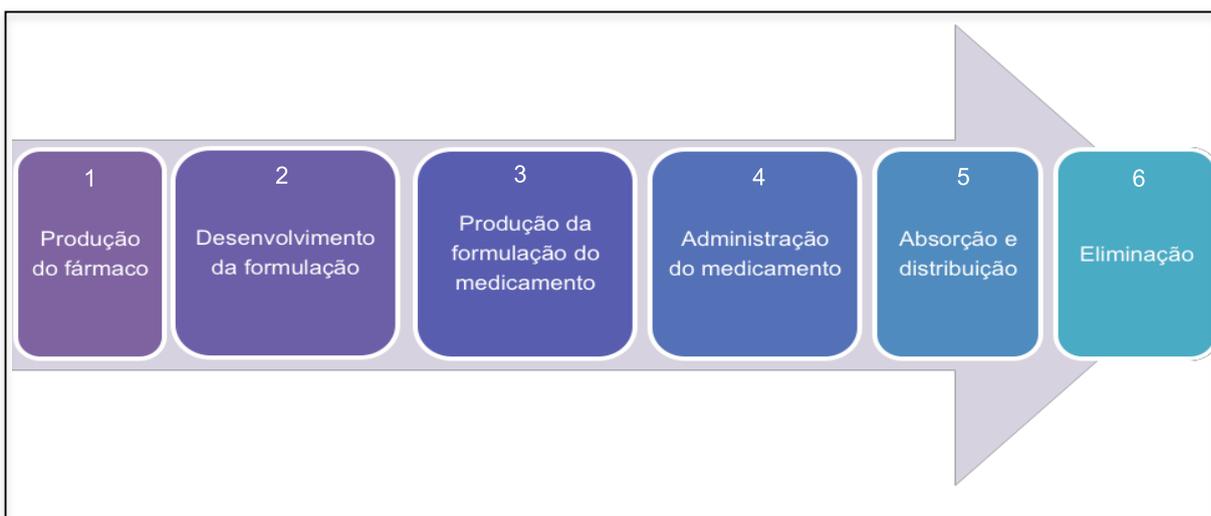


Figura 1. Representação esquemática dos diferentes estágios de um fármaco, desde a sua produção até sua completa eliminação (Adaptado de STANIFORTH, 2001).

Logo nos primeiros estágios (1 e 2), as características físico-químicas e biológicas dos insumos farmacêuticos, da formulação, bem como a via de administração, são fatores determinantes para garantir a segurança, a eficácia e a qualidade da formulação farmacêutica. Todos estes fatores são amplamente estudados, uma vez que influenciam diretamente no objetivo final de um medicamento: a obtenção de biodisponibilidade adequada e consequente atividade terapêutica a qual se destina, com o mínimo de efeitos indesejados ou tóxicos (STANIFORTH, 2001; STORPIRTIS et al., 2009).

Na indústria farmacêutica, os materiais particulados, tanto ativos como excipientes, se fazem presentes na produção da maioria das formas farmacêuticas, como nas sólidas (comprimidos, pós, cápsulas, grânulos, etc.), líquidas (soluções, suspensões, etc.) e semissólidas (pomadas, loção, creme, gel, etc.). Um dos fatores que determina a dimensão e a distribuição granulométrica dos materiais particulados é a via de administração do medicamento (SHEKUNOV, et al 2006). A Figura 2

correlaciona diferentes vias de administração e a distribuição granulométrica apropriada para a produção de medicamentos, que pode variar de nanômetros até milímetros.

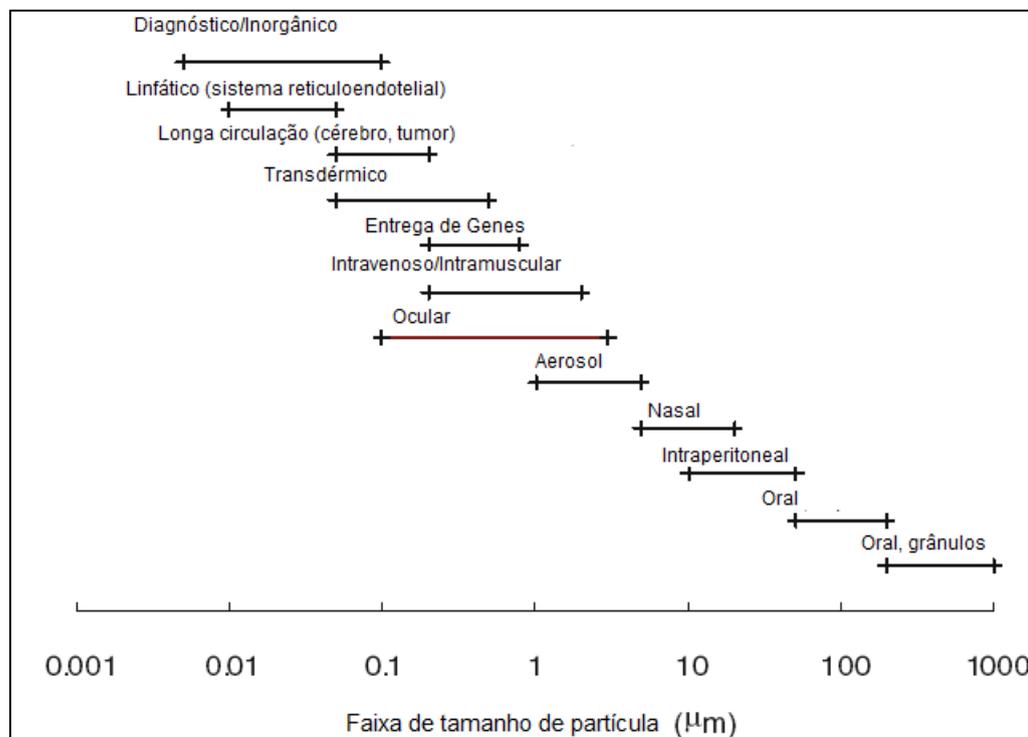


Figura 2. Faixa de distribuição granulométrica para diferentes vias de administração de medicamentos (Adaptado de SHEKUNOV, et al 2006).

No caso de formas farmacêuticas sólidas, a biodisponibilidade de um fármaco está diretamente ligada a sua dissolução e, esta por sua vez, tem relação direta com a distribuição granulométrica do pó. Em outras palavras, quanto menor a dimensão de uma partícula, maior a área superficial e conseqüentemente maior a dissolução (STORPIRTIS et al., 2009).

A quantidade de fármacos com baixa solubilidade em água vem aumentando drasticamente, e isto tem sido uma barreira no desenvolvimento de formulações (LEUNER, 2000). Com o intuito de romper esta lacuna e obter medicamentos com adequada biodisponibilidade, diversas alternativas têm sido utilizadas pela indústria farmacêutica para o favorecimento da dissolução. Pode-se citar como exemplos a conversão em sal, a produção de cocrystal e o processo de redução das dimensões dos materiais particulados (PINTO et al., 2012).

Além da dissolução e biodisponibilidade de um fármaco, a distribuição granulométrica pode impactar diretamente nas propriedades físicas, nos processos de fabricação e na qualidade de um medicamento, como:

- Razão de liberação de fármacos em formulações de liberação controlada e sustentada;
- Uniformidade de conteúdo;
- Propriedades relacionadas à estabilidade físico-química;
- Comportamento e desempenho das formulações com aerolização;
- Fluxo, mistura e segregação de pós;
- Características reológicas de formulações líquidas e semissólidas;
- Dureza de comprimidos mastigáveis;
- Irritabilidade de pomadas dérmicas, cremes e de formulações oftálmicas (PARIKH, 2011; SHEKUNOV, et al 2006).

Além de utilizar a caracterização dos insumos farmacêuticos ativos (IFA's) e excipientes como ferramenta chave durante a etapa de pré-formulação, a indústria farmacêutica também faz uso desta etapa para definir especificações das suas matérias-primas. Estas especificações buscam a manutenção das características críticas das matérias-primas, possibilitando assim que o método de fabricação seja plenamente atendido, e que as propriedades farmacocinéticas e biofarmacêuticas do medicamento estejam sempre dentro dos padrões de qualidade esperados (MARSON, 2011).

A definição de uma distribuição granulométrica adequada é importante para prevenir uma série de problemas farmacotécnicos durante a produção de formas sólidas (ex.: desvios de compressibilidade, homogeneidade de mistura, fluxo das partículas, etc.) e não prejudicar a eficácia do medicamento por problemas de dissolução / biodisponibilidade (MARSON, 2011).

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a determinação da distribuição granulométrica, como por exemplo: tamisação, microscopia, sedimentação gravitacional, sedimentação centrifugal, zona sensora de passagem elétrica (contador Coulter), espalhamento de luz dinâmica, espalhamento de luz laser, entre outras (STANIFORTH, 2001; SHEKUNOV, et al. 2006; MALVERN, 2012;).

Atualmente, a técnica de espalhamento por luz laser (LLS, do inglês *Laser Light Scattering*) é amplamente utilizadas na análise da distribuição granulométrica

de materiais que compreendem a faixa de nanômetros até milímetros (MALVERN, 2012). Além disso, sua popularidade tem aumentado com o passar dos anos, principalmente em função de sua flexibilidade, ampla faixa de medição, velocidade de operação, automação, utilização de uma quantidade reduzida de amostra para a realização da análise, melhor sensibilidade (em relação a outras técnicas tradicionais como a tamisação), não ser necessário calibração (apenas verificação com padrões de referência rastreáveis), alta produtividade (grande número de análises/dia). Além disso, ela está amparada por uma norma, a ISO (*International Organization for Standardization*) 13320 de 2009 (VILLIERS, 1995; LERKE et al., 2002; KIPPAX, 2005; ISO 13320, 2009; VIRDEN, 2010; MALVERN, 2012).

Embora a técnica apresente estas vantagens e os equipamentos sejam relativamente simples ao manuseio, há a necessidade de realizar um desenvolvimento adequado de metodologia para que possa ser garantido um resultado confiável, robusto e preciso (VIRDEN, 2010; KIPPAX, 2004). Desta forma, numerosos pontos devem ser contemplados durante o desenvolvimento de uma metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, como: análises complementares (microscopia), amostragem, preparo de amostra (concentração, otimização das condições de dispersão, entre outros), meio de dispersão de análise (seco ou líquido), determinação de parâmetros intrínsecos ao equipamento (agitação, ultrassom, fluxo de ar, vibração, entre outros) e avaliação criteriosa de resultados (VIRDEN, 2010).

A validação de métodos analíticos na indústria farmacêutica é estabelecida e documentada por guias publicados por organizações como a *International Conference on Harmonization* (ICH), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), *Food and Drug Administration* (FDA), assim como por farmacopeias: Americana (*United States Pharmacopeia* – USP), Europeia (*European Pharmacopoeia* – EP), Brasileira (Farmacopeia Brasileira – F.BRAS), Japonesa (*Japanese Pharmacopoeia* – JP), entre outras.

O FDA recomenda os guias de validação publicados pelo ICH, porém ao longo deste trabalho serão apresentados pontos os quais a análise de distribuição granulométrica não se enquadra ao estabelecido por tais guias. Em função disso, atualmente o compêndio comumente utilizado para a normatização da técnica de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser é a ISO 13320, publicada inicialmente em 1999 e substituída por uma nova versão em 2009. Este documento

trata especificamente sobre a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser e, neste contexto, apresenta requisitos adequados para o desenvolvimento, análise e validação de metodologias analíticas para a referida técnica.

As farmacopeias são compêndios oficiais do setor farmacêutico, porém apenas algumas delas descrevem a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, sendo que todas que a descrevem referenciam a ISO 13320 como base para a descrição dos métodos e dos parâmetros técnicos.

O Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos), unidade técnico-científica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), é o maior laboratório farmacêutico oficial vinculado ao Ministério da Saúde. Farmanguinhos produz mais de um bilhão de medicamentos por ano para atender aos programas estratégicos do Governo Federal, que são distribuídos à população pelo Sistema Único de Saúde (SUS), além de atender demandas emergenciais no Brasil e no exterior (FARMANGUINHOS, 2013).

De acordo com a conferência internacional sobre Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (1996), foi apresentada uma combinação de medicamentos que reduz 100 vezes o ritmo de reprodução do vírus, comparado a um tratamento por monodroga. Esta combinação de medicamentos visa a administração conjunta de fármacos que atuem em diferentes etapas da replicação viral (SOUZA, 2003).

O efavirenz é um dos fármacos utilizados em combinação com outros fármacos antirretrovirais e é classificado como um inibidor da transcriptase reversa não-nucleosídeo (ITRNN) do vírus HIV-1 (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*). Liga-se diretamente a esta enzima e bloqueia as atividades da DNA (ácido desoxirribonucléico)-polimerase, RNA (ácido ribonucléico) e DNA-dependentes, causando a destruição do sítio catalítico da enzima (VIANA et al., 2006).

Segundo um documento publicado em 2011 pela *World Health Organization* (WHO), o sucesso para a produção de formas farmacêuticas de efavirenz no estudo de bioequivalência depende, dentre outros fatores, da caracterização adequada deste insumo, sendo destacada a importância do conhecimento da distribuição granulométrica deste IFA.

Pelo exposto, fica clara a necessidade de uma avaliação criteriosa e o estabelecimento de metodologias robustas para a avaliação da distribuição

granulométrica de insumos farmacêuticos, de forma que se atinja a viabilidade do processamento farmacotécnico e a eficácia terapêutica dos medicamentos.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Distribuição granulométrica

Partículas podem ser definidas como qualquer fase-condensada tridimensional em um sistema de dispersão, seja ele líquido (por exemplo: sólidos em suspensão ou gotículas de uma emulsão), sólido (por exemplo: pós) ou gasoso (por exemplo: aerossóis). Ou seja, embora o termo “partícula” seja comumente utilizado para referenciar materiais sólidos, uma gotícula pode ser considerada uma partícula, bem como um agregado, que por sua vez, é descrito como um conjunto de partículas primárias¹ unidas de forma coesa (JILLAVENKATESA et al., 2001; MERKUS, 2009).

As partículas podem ser de origem natural, produzidas a partir de compostos naturais ou ainda totalmente sintéticas (JILLAVENKATESA et al., 2001).

A Figura 3 ilustra a faixa de distribuição granulométrica de diferentes materiais particulados (naturais e sintéticos) que abrangem desde nanômetros até milímetros, nas diversas áreas em que sua determinação é de extrema importância.

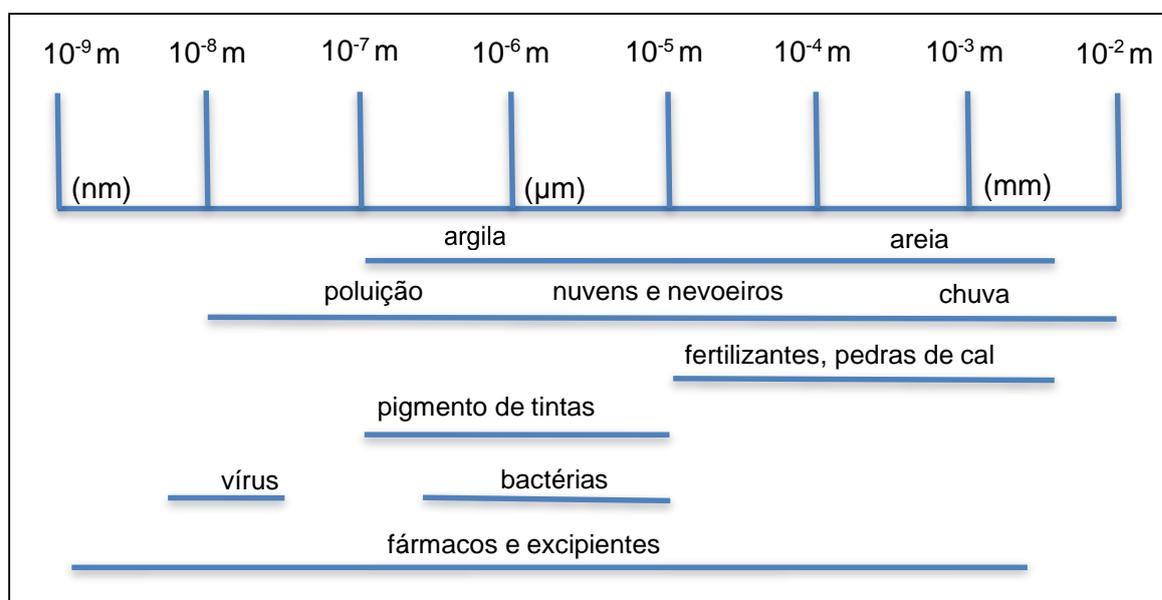


Figura 3. Dimensões de partículas (Adaptado de XU, 2002).

¹ Partícula primária: menor divisão identificável em um sistema de partículas (JILLAVENKATESA et al., 2001).

Assim, fica claro que o conhecimento sobre a distribuição granulométrica é um pré-requisito para a maioria das operações de produção e processamento nas mais diversas áreas: minérios, farmacêutica, cosmética, entre outras (JILLAVENKATESA et al., 2001; BUMILLER, 2007). De fato, mais de 75% dos materiais processados na indústria estão na forma de particulados (MERKUS, 2009). A Figura 4 apresenta as diferentes áreas que fazem uso da análise de distribuição granulométrica como ferramenta importante para o gerenciamento das suas produções.

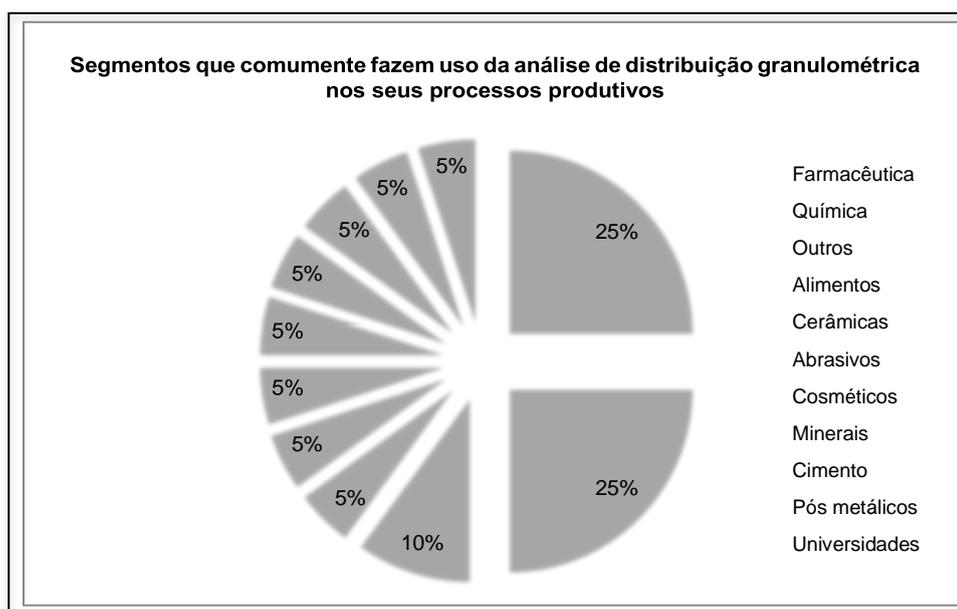


Figura 4. Apresentação de diferentes segmentos que fazem uso da análise de distribuição granulométrica nos seus processos produtivos (Adaptado de BUMILLER, 2007).

Para algumas áreas e/ou alguns produtos há necessidade de estabelecer faixas específicas de distribuição granulométrica. Em função disso, as partículas são classificadas de acordo com uma nomenclatura padronizada, porém, estas definições são diferentes nos diversos campos de aplicação (MERKUS, 2009).

Na área farmacêutica, as farmacopeias, que são compêndios oficiais, apresentam algumas divergências na nomenclatura de distribuições granulométricas para pós.

A Tabela 1 apresenta uma compilação com a definição de tamanho das partículas, oriundas de diferentes farmacopeias e outros dois documentos.

Tabela 1. Compilação dos termos utilizados para designação do tamanho das partículas por diferentes literaturas.

| Termo utilizado | Definição segundo: | | | | | | |
|-------------------------------------|--|--|---|---|------------------------------|---|-------------------------------|
| | NIST (2001) | MERKUS (2009) | Farmacopeia: | | | | |
| | | | Europeia (EP, 2008) | Britânica (BP -2008) | Brasileira (F.BRAS, 2010a) | Internacional (IP, 2011) | Americana (USP 35, 2012) |
| Nano | Partículas com dimensões menores que 100nm | Partículas menores que 0,1µm | | | | | |
| Ultrafino | | Partículas com dimensões na faixa de 0,1µm a 1µm | | | | | |
| Pó microfino | | | | 90% do peso deve passar pelo tamis de número 45 (45µm) | | | |
| Pó superfino | | | | 90% do número das partículas forem menores que 10µm | | | |
| Pó finíssimo/ Muito fino | | | 95% da massa deve passar pelo tamis 125 (125µm) e não mais que 40% deve passar pelo tamis 90 (90µm) | 95% da massa deve passar pelo tamis 125 (125µm) e não mais que 40% deve passar pelo tamis 90 (90µm) | Partículas menores que 125µm | Todas as partículas devem passar pelo tamis 125 (125µm) | Partículas entre 90µm e 125µm |

Continua

| Termo utilizado | Definição segundo: | | | | | | |
|--|--|--|---|--|--|---|--------------------------------|
| | NIST (2001) | MERKUS (2009) | Farmacopeia: | | | | |
| | | | Europeia (EP, 2008) | Britânica (BP -2008) | Brasileira (F.BRAS, 2010a) | Internacional (IP, 2011) | Americana (USP 35, 2012) |
| Pó fino | Partículas com dimensões na faixa de 1µm a 100µm | Partículas com dimensões na faixa de 1µm a 10µm | 95% da massa deve passar pelo tamis 180 (180µm) e não mais que 40% pelo tamis 125 (125µm) | 95% da massa deve passar pelo tamis 180 (180µm) e não mais que 40% pelo tamis 125 (125µm) | | | Partículas entre 125µm e 180µm |
| Pó semifino/ Moderadamente fino | | | 95% da massa deve passar pelo tamis 355 (355µm) e não mais que 40% pelo tamis 180 (180µm) | 95% da massa deve passar pelo tam is 355 (355µm) e não mais que 40% pelo tamis 180 (180µm) | Partículas que passam em sua totalidade pelo tam is 355 (355µm) e no máximo 40% ficam retidas no tamis 180 (180µm) | Pó que passar na totalidade pelo tamis 355 (355µm) e não mais que 40% passar pelo tamis 180 (180µm) | Partículas entre 180µm e 355µm |
| Média | | Partículas com dimensão na faixa de 10µm a 1.000µm | | | | | |
| Pó moderadamente grosso | | | | 95% do peso deve passar pelo tamis 710 (710µm) e não menos que 40% pelo tamis 250 (250µm) | Partículas que passam em sua totalidade pelo tam is 710 (710µm) e no máximo 40% delas ficam retidas no tamis 250 (250µm) | Pó que passar em sua totalidade pelo tamis 710 (710µm) e no máximo 40% delas ficam retidas no tamis 250 (250µm) | |

Continua

| Termo utilizado | Definição segundo: | | | | | | |
|--|--|---|--|--|--|---|---------------------------------|
| | NIST (2001) | MERKUS (2009) | Farmacopeia: | | | | |
| | | | Europeia (EP, 2008) | Britânica (BP -2008) | Brasileira (F.BRAS, 2010a) | Internacional (IP, 2011) | Americana (USP 35, 2012) |
| Partícula grossa/ Pó grosso | Partículas com dimensões maior que 100µm | Partículas com dimensões na faixa de 1mm a 10mm | 95% da massa deve passar pelo tam is 1400 (1,4mm) e não menos que 40% pelo tamis 355 (355µm) | 95% da massa deve passar pelo tam is 1400 (1,4mm) e não menos que 40% pelo tamis 355 (355µm) | Partículas que passam em sua totalidade pelo tam is 1700 (1,70mm) e no máximo 40% delas ficam retidas no tamis de abertura 355 (355µm) | Pó que passar na totalidade pelo tam is 2000 (2,00mm) e não mais que 40% pelo tamis 355 (355µm) | Partículas entre 355µm e 1000µm |
| Muito grossa | | Partículas com dimensão acima de 10mm | | | | | Partículas maiores que 1000µm |

Conclusão

A distribuição granulométrica apresenta um efeito significativo sobre diversas características dos produtos acabados, como: resistência mecânica, densidade, propriedades elétricas e térmicas, bem como atividade terapêutica. Desta forma, se durante o processo não houver um controle de qualidade adequado sobre a distribuição granulométrica dos pós utilizados, a produção pode apresentar desvios significativos devido a alta taxa de rejeição do produto final (JILLAVENKATESA et al., 2001).

Na indústria de cosméticos, a maioria dos produtos requer uma determinação rigorosa da faixa de distribuição granulométrica para que se possa garantir a qualidade e eficácia. Um bom exemplo para a área de cosméticos são os filtros solares, especialmente os filtros solares inorgânicos que são constituídos de partículas. Para que eles possam realizar o mecanismo de proteção, necessitam apresentar-se com as partículas no seu tamanho ideal para serem capazes de espalhar a radiação. Os filtros solares inorgânicos são representados por dois óxidos: ZnO e TiO₂. Esses filtros solares representam a forma mais segura e eficaz de proteger a pele, pois apresentam baixo potencial de irritação, sendo inclusive os filtros solares recomendados no preparo de fotoprotetores para uso infantil e pessoas com peles sensíveis. Os óxidos utilizados como filtros solares, quando incorporados às formulações ficam suspensos, sendo o tamanho das partículas de suma importância não apenas para a eficácia do protetor solar, como também para a aparência cosmética do produto. Atualmente, existem óxidos micro-particulados abrangendo uma faixa de 70-200nm, que indicam um grande avanço: não deixam uma película branca do produto sobre a pele (efeito visualizado anteriormente com produtos formulados utilizando tamanhos de partícula superiores a 400nm) (FLOR, et al., 2007; BUMILLER, 2010).

No setor alimentício, a determinação do tamanho e distribuição das partículas também é uma análise fundamental para o desenvolvimento de alguns produtos. Pode-se citar como exemplo a produção de chocolates, onde o tamanho da partícula é fundamental para a produção de produtos com qualidade e consistência adequada (BUMILLER, 2009; KIPPAX, 2007). Na produção de café, a moagem dos grãos deve resultar em partículas de tamanho adequado para que o mesmo possa fornecer todas as características de sabor, mostrando assim a qualidade do grão. Partículas muito grandes podem deixar o processo de extração dos componentes do café muito lenta ou até mesmo não permitir a extração completa. Por outro lado,

partículas muito pequenas podem liberar de forma muito rápida (devido a grande área superficial) os componentes que conferem as características do café, prejudicando assim a qualidade final do produto (MALVERN, 2006).

Na indústria farmacêutica, muitos autores relatam as numerosas dificuldades que podem ser enfrentadas em várias etapas do processo produtivo de diferentes formas farmacêuticas.

Durante a produção de formas farmacêuticas sólidas, a influência da distribuição granulométrica e morfologia das partículas dos insumos podem abranger as etapas de mistura, granulação, compressão e revestimento (HAUSNER, 2003; SHEKUNOV et al., 2006; PARIKH, 2011).

Além disso, após a produção, a velocidade de dissolução de formas farmacêuticas sólidas, a qual é relacionada a área superficial do(s) fármaco(s) e excipientes da formulação, é amplamente dependente da distribuição granulométrica das partículas (PARIKH, 2011).

Este fato se faz extremamente importante, principalmente, para insumos farmacêuticos classificados através do Sistema de Classificação Biofarmacêutica como II (baixa solubilidade e alta permeabilidade), onde a velocidade de dissolução influencia diretamente na biodisponibilidade do fármaco (PARIKH, 2011). Ou seja, a velocidade de absorção, tempo para o início do efeito e a duração da resposta terapêutica podem ser determinadas pelo tamanho de partícula dos produtos administrados nas diversas rotas de administração (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Nos últimos anos, cerca de 70% dos candidatos a novos fármacos são classificados como de baixa solubilidade. Além disso, atualmente, cerca de 40% dos medicamentos comerciais de liberação imediata são categorizados como praticamente insolúveis em água (<100µg/mL) (LEUNER, 2000; KAWABATA, et al., 2011).

Além disso, atualmente, cerca de 40% dos medicamentos comerciais de liberação imediata são categorizados como praticamente insolúveis em água (<100µg/mL) (KAWABATA, et al., 2011).

Várias abordagens têm sido exploradas para que a dificuldade de desenvolver fármacos com baixa solubilidade em água possa superar problemas relacionados com a baixa dissolução, biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Pode-se citar como exemplos: alteração da estrutura química, utilização dos conceitos de pró-

fármaco, conversão no sal do fármaco, cocrystalis, amorfização, complexação com ciclodextrinas, auto-emulsificação, modificações de pH e processos mecânicos como moagem e micronização. Estes dois últimos baseiam-se na redução do tamanho das partículas através de força mecânica e tem sido amplamente utilizados pela indústria farmacêutica pela facilidade de operação e baixo custo (PARIKH, 2011; KAWABATA, et al., 2011).

Desde 1939 já se discutia a importância da influência da granulometria em formas farmacêuticas, com o primeiro relato referindo-se a relação deste parâmetro e a toxicidade da fenotiazida, a partir de testes em larvas de mariposas. Sequencialmente, foi relatado o aumento do efeito terapêutico de um anti-helmíntico. Com o passar dos anos, várias literaturas citaram fármacos que apresentaram biodisponibilidade aumentada quando a sua granulometria foi diminuída, como por exemplo: griseofulvina, digoxina, felodipina, glibenclamida, cloranfenicol e espirolactona (NYSTRÖM, 1995; NERY et al., 2007; STORPIRTIS et al., 2009; KAWABATA, et al., 2011; AULTON, 2011).

A Figura 5 apresenta o efeito da granulometria em suspensões de fenobarbital na biodisponibilidade do fármaco, após a administração de injeção intramuscular com diferentes tamanhos de partículas, comparada com a solução do fármaco, a qual acredita-se que precipita na forma de microcristais no local da administração. A velocidade da dissolução destes cristais controla a absorção a partir do local da administração (FLORENCE & ATTWOOD, 2006).

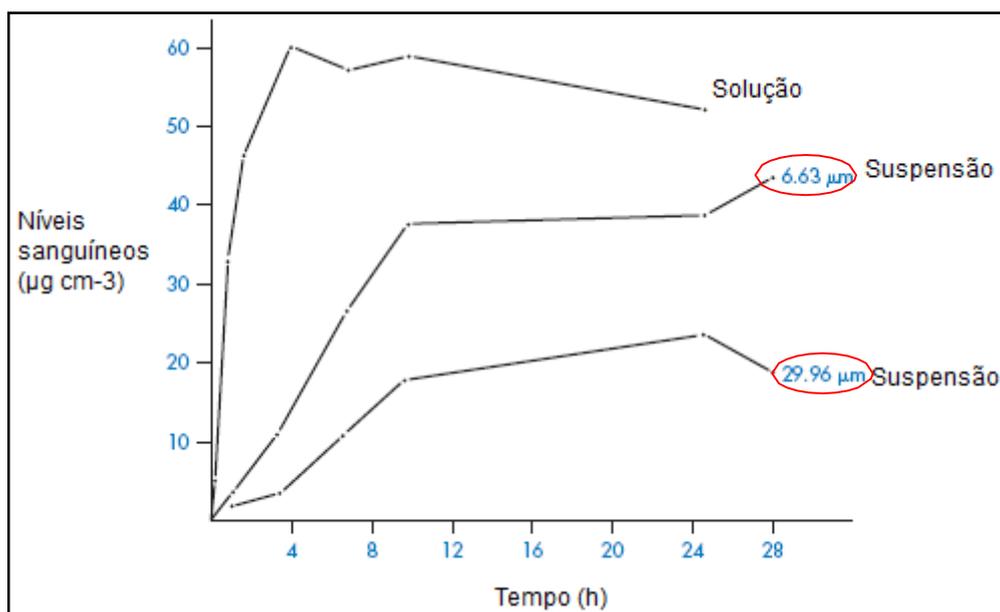


Figura 5. Níveis sanguíneos de fenobarbital *versus* injeções intramusculares de três formas de dosagem: solução, suspensão com partículas em torno de 6,63µm e suspensão com partículas em torno de 29,96µm (Adaptado de FLORENCE & ATTWOOD, 2006).

Fica claro que o uso da suspensão utilizando partículas menores faz com que ocorra um aumento considerável dos níveis sanguíneos do fenobarbital, quando comparado com a mesma formulação utilizando partículas maiores do IFA.

Entretanto, o aumento da solubilidade e, conseqüentemente, da biodisponibilidade nem sempre é requerido ou desejado. A nitrofurantoína, por exemplo, quando utilizada na forma de partículas reduzidas apresenta efeitos colaterais tóxicos, resultando em alta incidência de náuseas devido a sua absorção mais rápida. O desenvolvimento de nitrofurantoína macrocristalina (utilizando cápsulas na produção para que se evite a compressão dos cristais e redução das dimensões) permitiu a realização de uma terapia na qual a incidência de náuseas é reduzida (AULTON, 2001; FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

Outro aspecto de relevância a cerca da redução do tamanho das partículas com o objetivo do favorecimento da dissolução, é que existem casos em que o processo para reduzir o tamanho de partícula também pode alterar a forma cristalina do material.

Além do tamanho de partícula, a eficácia terapêutica dos fármacos também está diretamente relacionada às suas características estruturais cristalinas (polimorfismo²) e a morfologia (JUNIOR, 2009).

O polimorfismo é responsável por diferenças em diversas propriedades dos sólidos: solubilidade, velocidade de dissolução, ponto de fusão, densidade, dureza, configuração do cristal, propriedades óticas e elétricas, pressão de vapor, entre outras. Como os diferentes estados sólidos de um fármaco podem apresentar variações na solubilidade termodinâmica e na velocidade de dissolução, o polimorfismo pode acarretar em alterações na biodisponibilidade (JUNIOR, 2009).

Para exemplificar a influência da forma cristalina e do tamanho de partícula, relata-se o caso da digoxina. A utilização deste fármaco em tamanhos reduzidos provoca toxicidade pelo aumento da biodisponibilidade. Porém, neste caso, o processo de redução do tamanho de partícula transforma o cristal deste fármaco na sua forma amorfa³ e, com isso, ocorre o aumento da solubilidade e, conseqüentemente, da biodisponibilidade em função do somatório destes dois fatores: transformação do cristal na sua forma amorfa e redução do tamanho das partículas (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

² Polimorfismo: capacidade de uma molécula (fármaco) existir em mais de uma forma ou estrutura cristalina (McCRONE, 1965).

³ Forma amorfa: Ao contrário dos cristais, os sólidos amorfos possuem uma disposição desorganizada das moléculas. Como esta configuração é energeticamente mais desfavorável, os sólidos amorfos são normalmente mais instáveis e solúveis que os cristais, sejam eles anidros ou solvatos (MARSON, 2011).

1.2 Técnicas para análise de distribuição granulométrica

Nos últimos anos, quantidade de técnicas disponíveis para a análise de distribuição granulométrica vem crescendo gradativamente. Muito embora já exista um número bastante considerável de técnicas, a maioria delas apresenta princípios diferentes e fornecem resultados para diferentes aplicabilidades. Além disso, equipamentos diferentes de uma mesma técnica podem ter variações que podem influenciar os resultados. Portanto, a escolha da técnica e do equipamento para a determinação da distribuição granulométrica depende de vários fatores, tais como: quantidade de amostra a ser utilizada para a medição, sensibilidade, tempo de análise, faixa de tamanho requerida, quais as propriedades da partícula são de interesse, velocidade de análise, em que meio o material pode ser disperso (líquido, gás), necessidade de alta resolução, custo, entre outros (JILLAVENKATESA et al., 2001; MALVERN, 2012). Figura 6 apresenta algumas técnicas mais utilizadas para a caracterização da distribuição granulométrica de materiais particulados e suas faixas aproximadas de medição (MALVERN, 2012).

| Técnica | Faixa de tamanho de partícula | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------|-----|------|-------|-----|------|-------|-----|------|
| | 0,1nm | 1nm | 10nm | 100nm | 1µm | 10µm | 100µm | 1mm | 10mm |
| Espalhamento de luz laser | | | | | | | | | |
| Espalhamento de luz dinâmica | | | | | | | | | |
| Espalhamento de luz eletroforética | | | | | | | | | |
| Imagem automatizada | | | | | | | | | |
| Microscopia ótica | | | | | | | | | |
| Microscopia eletrônica de varredura | | | | | | | | | |
| Sedimentação | | | | | | | | | |
| Tamisação | | | | | | | | | |

Figura 6. Algumas das diferentes técnicas existentes no mercado para a determinação de distribuição granulométrica e suas faixas aproximadas de medição (Adaptado de MALVERN, 2012).

Para as partículas esféricas e cúbicas é possível utilizar um número único na caracterização de sua dimensão. Embora seja possível determinar o tamanho de outras partículas tridimensionais, como aquelas com morfologia de paralelepípedo (2 ou 3 parâmetros dimensionais) ou de cilindro (2 parâmetros dimensionais), para a maioria das partículas tridimensionais não é possível chegar a poucos parâmetros que a descreva (XU, 2002); seja devido a irregularidades (cavidades, reentrâncias, etc.) nas suas faces e/ou por possuir uma morfologia mais complexa. A Figura 7 apresenta algumas formas de partículas e suas respectivas denominações.

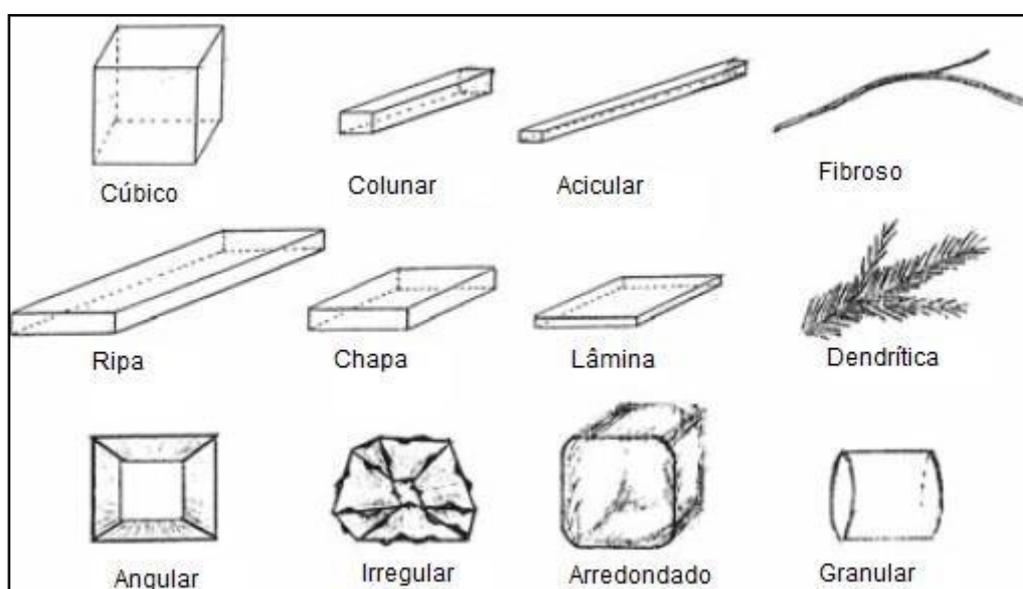


Figura 7. Algumas formas de partículas e suas respectivas denominações (Retirado de USP 34, 2011).

É claro que em algumas situações, como por exemplo, um pedaço de vidro quebrado é possível determinar ou especificar suas dimensões, porém quando se trata de um universo com milhões de partículas a possibilidade de descrevê-las é praticamente nula.

A caracterização de uma partícula utilizando apenas um parâmetro (ou no máximo 2) é chamada de tamanho. Existem muitas definições para caracterização de partículas tridimensionais irregulares resultando em um único parâmetro, porém, o conceito mais utilizado é o da representação através de uma esfera equivalente. Uma esfera pode ter o seu tamanho definido por um único valor, o diâmetro. O princípio da esfera equivalente consiste em relacionar as partículas ao diâmetro de uma esfera (ALLEN, 1997; XU, 2002; MALVERN, 2012). Porém, este valor é uma

derivação, e é dependente das propriedades que estão sendo medidas. Este princípio pode ser exemplificado através da medida do volume de uma partícula cilíndrica para originar a dimensão de sua esfera equivalente (d) (Equação 2) (XU, 2002; MALVERN, 2012).

$$d = (6r^2h)^{1/3} \quad (\text{Equação 1})$$

d= esfera equivalente

r= raio

h= altura

A Figura 8 apresenta uma partícula cilíndrica com diâmetro e comprimento iguais a $120\mu\text{m}$ e $360\mu\text{m}$, respectivamente, e a sua esfera equivalente de diâmetro igual a $198\mu\text{m}$, ambas têm o mesmo volume (MALVERN, 2012).

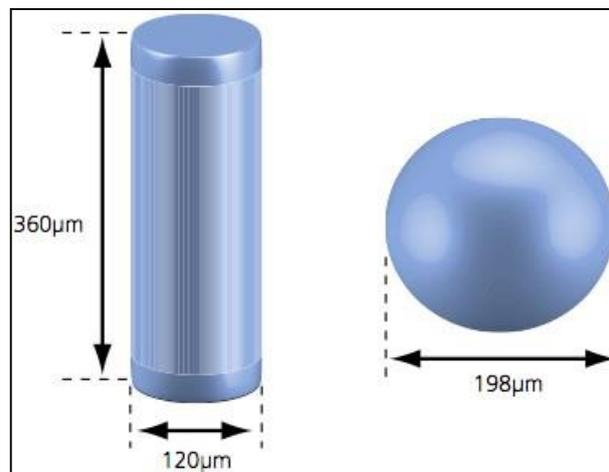


Figura 8. Exemplo da utilização do conceito de esfera equivalente (esfera de mesmo volume) (Retirado de MALVERN, 2012).

Porém, cabe ressaltar que vários parâmetros das partículas podem ser selecionados para medir o seu tamanho através da aproximação a uma esfera, como por exemplo: maior ou menor dimensão, perímetro da área projetada, área projetada, área superficial, volume, velocidade de sedimentação, entre várias outras. A Figura 9 mostra diferentes resultados possíveis para um grão de areia (partícula irregular). Todos eles estão corretos. Os diferentes diâmetros simplesmente indicam que está sendo medido diferentes propriedades da partícula, ou seja, seria o mesmo que medir diferentes parâmetros. Em função disso, só podemos comparar medidas

de uma amostra usando a mesma técnica (ALLEN, 1997, PAPINI 2003; BUMILLER, 2007; KIPPAX, 2008; MALVERN, 2012).

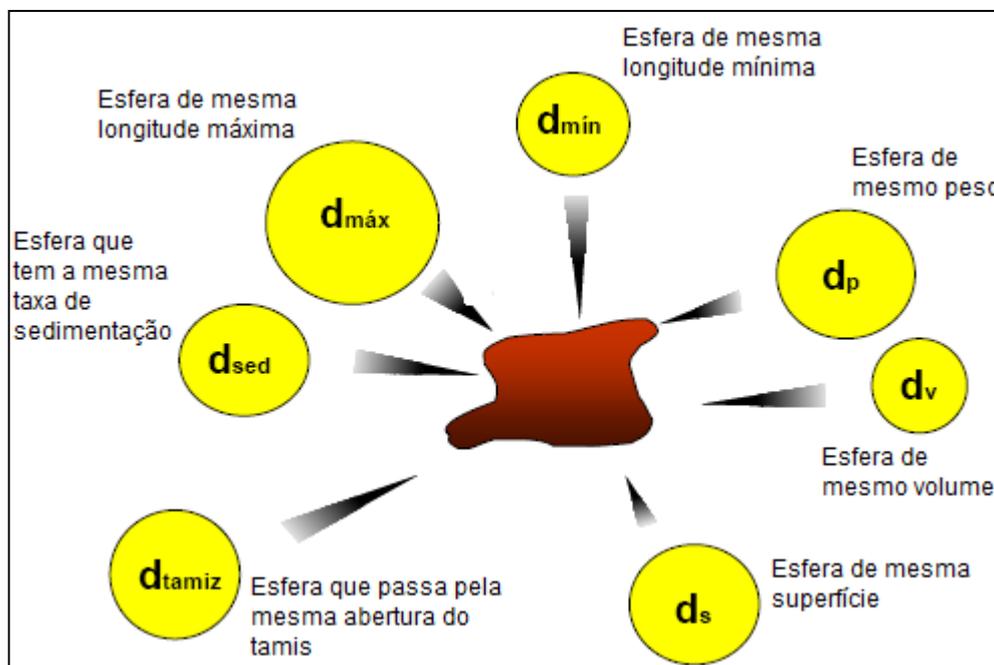


Figura 9. Diferentes diâmetros de esferas equivalentes gerados a partir de uma partícula irregular (Retirado de MALVERN, 2012).

Além disso, cabe ressaltar que os fabricantes de equipamentos para análise de distribuição granulométrica utilizam projetos de construção diferentes, logo, este fator pode gerar resultados diferentes mesmo entre equipamentos que utilizam o mesmo princípio físico de análise (JILLAVENKATESA et al., 2001).

A representação dos resultados de uma análise de distribuição granulométrica não devem ser apresentada através de um único número pois, desta forma, não é possível descrever a distribuição da amostra. Normalmente é utilizada a apresentação de um valor central da distribuição, bem como um ou mais valores para identificar a largura da distribuição (HORIBA, 2012).

Por exemplo, o diâmetro médio de uma amostra pode ser exatamente igual a outra, porém estas podem apresentar distribuições completamente diferentes. E em função disso, estas amostras podem apresentar características de processabilidade totalmente diferentes e produtos finais com características distintas (PAPINI, 2003).

Normalmente os resultados de distribuição granulométrica são apresentados na forma de gráficos de distribuição de frequência acumulada ⁴ e incremental ⁵ (Figura 10) e/ou tabelas (HACKLEY, 2001).

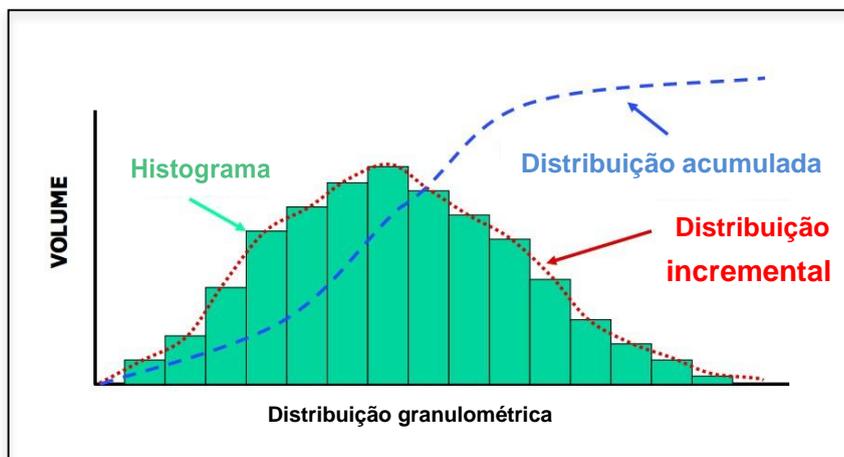


Figura 10. Representação dos gráficos usualmente utilizados para reportar resultados de distribuição granulométrica, onde: distribuição de frequência dos tamanhos incremental (histograma ou linha) e, distribuição de frequência dos tamanhos acumulado (Adaptado de BUMILLER, 2007).

Uma série de parâmetros estatísticos podem ser calculados e a escolha dos mesmos será dependente da necessidade de interpretação da distribuição granulométrica de uma dada amostra. Geralmente, alguns parâmetros estatísticos básicos como média, mediana e moda são utilizados.

Pode-se definir média como o tamanho médio da população granulométrica, mediana como o valor em que 50% dos tamanhos de partícula da população estão acima ou abaixo e moda como sendo o pico da mais alto da distribuição, ou seja o tamanho (ou intervalo de tamanhos) mais comumente encontrado na população (HORIBA, 2012; MALVERN, 2012).

As amostras podem apresentar-se como monodispersas ou polidispersas. As distribuições monodispersas são assim denominadas pois, apresentam o desvio entre o tamanho das suas partículas baixo, ou seja, a maioria das partículas apresentam o tamanhos similares. Nestes casos se diz que a distribuição do tamanho das partículas é estreita (BUMILLER, 2007; MERKUS, 2009). De acordo

⁴ Frequência acumulada: representação da frequência de diferentes tamanhos de partículas de uma amostra em diversos níveis de tamanho específicos (maior ou menor que um tamanho indicado (JILLAVENKATESA et al., 2001; MERKUS, 2009).

⁵ Frequência incremental: frequência de tamanho das partículas de um distribuição para cada tamanho (MERKUS, 2009).

com a NIST, as partículas são chamadas de monodispersas se 90% delas apresentarem desvio menor que 5% em relação ao valor do tamanho médio das partículas. O valor que determina se a amostra é mono ou polidispersa pode ser obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Dispersão} = \frac{1,645 \sigma}{d} \quad (\text{Fórmula 1})$$

σ = desvio padrão (da distribuição)

d = média do tamanho médio das partículas.

Portanto, se o resultado de 90% das partículas forem menor ou igual a 5% a amostra pode ser caracterizada como monodispersa e caso contrário é denominada polidispersa, ou seja, amostras com partículas de vários tamanhos (HACKLEY, 2001; BUMILLER, 2007). A Figura 11 ilustra a diferença entre uma amostra mono e outra polidispersa.

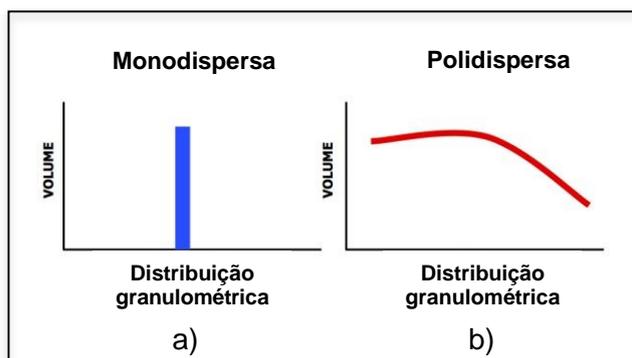


Figura 11. Representação de uma amostra a) monodispersa e outra b) polidispersa.

Obviamente, para distribuições monodispersas (simétrica), os valores de média, mediana e moda são muito próximos, porém, como para a maioria das amostras a distribuição é polidispersa (assimétrica), estas medidas sempre possuem valores distintos (Figura 12) (BUMILLER, 2007; HORIBA, 2012).

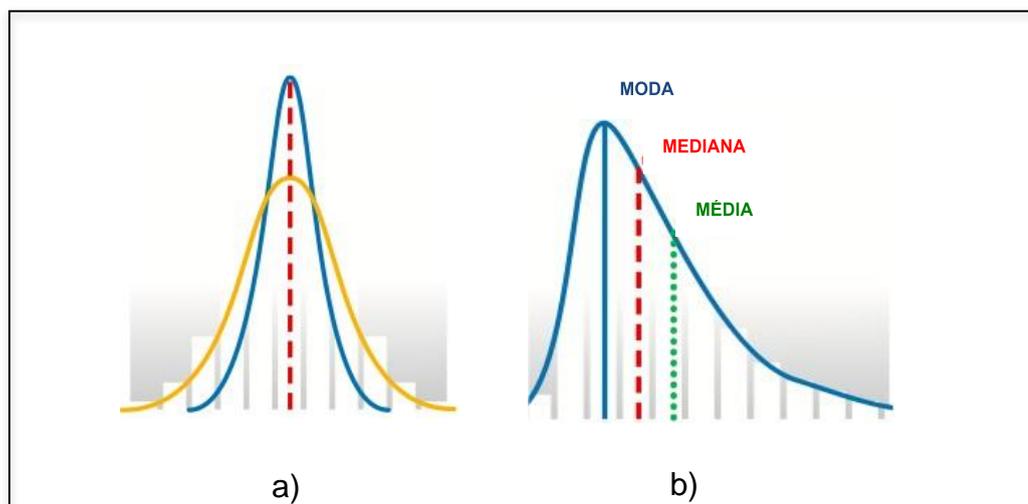


Figura 12. Representação das distribuições: a) simétrica e b) assimétrica (Retirado de HORIBA, 2012).

Na distribuição granulométrica a média pode ser determinada para diferentes parâmetros e os mais utilizados são: média do número de partículas (limitada a contagem de partículas), área e volume das partículas. Esta última é mais utilizada, pois reflete melhor o tamanho das partículas que constituem determinada distribuição de um material tridimensional.

O resultado de distribuição granulométrica geralmente é relatado como o tamanho máximo das partículas para uma dada porcentagem da amostra. Os percentuais são definidos como: X_aB , onde, “ X ” é o parâmetro, geralmente D (diâmetro), “ a ” é o parâmetro da distribuição, por exemplo: “ v ” para volume, “ n ” para número de partículas ou “ i ” para intensidade (nem sempre este item é utilizado para a composição da denominação) e, “ B ” que é a porcentagem da amostra que possui partículas com tamanho abaixo do valor indicado (geralmente em micras), por exemplo 10%, 50% e 90%. Os valores percentuais podem ser expressos em frações decimais (0,1; 0,5 e 0,9) ou sem os símbolos percentuais (MALVERN, 2012).

Embora qualquer percentil possa ser utilizado para apresentação dos resultados de uma distribuição (serão escolhidos de acordo com a necessidade e enfoque da discussão), os mais utilizados para relatar a distribuição granulométrica de uma amostra são: Dv_{10} (ou d_{10} , ou $Dv_{0,1}$, ou $d_{0,1}$), Dv_{50} (ou d_{50} , ou $Dv_{0,5}$, ou $d_{0,5}$) e Dv_{90} (ou d_{90} , ou $Dv_{0,9}$, ou $d_{0,9}$) que correspondem respectivamente aos valores de 10, 50 e 90% da distribuição com tamanhos de partícula abaixo do valor descrito (Figura 13) (PAPINI, 2003; HORIBA, 2012; MALVERN, 2012).

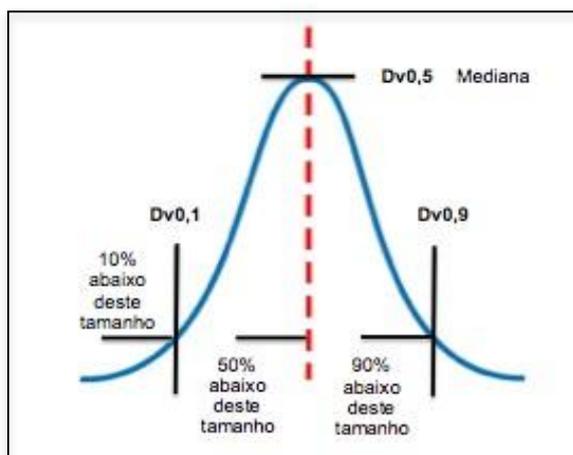


Figura 13. Representação dos percentis comumente utilizados para a representação de uma distribuição granulométrica (Retirando de HORIBA, 2012).

1.2.1 Tamisação

A tamisação é considerada uma das técnicas mais antigas e ainda é uma das mais utilizadas para a análise de distribuição granulométrica, pois o equipamento tem um custo acessível e o procedimento analítico e os conceitos básicos são de fácil compreensão (ALLEN, 1997; JILLAVENKATESA et al., 2001; RAWLE, 2001; XU, 2002; MERKUS, 2009).

A técnica é bastante útil, já que as partículas são classificadas em categorias, exclusivamente baseadas no seu tamanho, independente de outras propriedades como, por exemplo, densidade e área superficial (ALLEN, 1997; MERKUS, 2009).

Na análise por tamisação emprega-se uma malha perfurada, frequentemente de bronze, latão ou aço inoxidável, com diâmetros de aberturas definidos, constituindo assim uma barreira física à passagem das partículas. Os tamises são dispostos sequencialmente na forma de uma coluna. O tamis de malha mais fina é colocado logo acima do prato coletor, seguido pelos tamises de aberturas de malhas maiores. Geralmente a coluna é formada por 6 a 8 tamises (Figura 14). O pó (massa definida) é colocado sobre o primeiro tamis, aquele de maior abertura de malha e, posteriormente, a coluna é submetida a vibração mecânica. Após um tempo determinado, as partículas ficam retidas em grupos sobre os diferentes tamises e, ao final, a coleta dos dados de cada um deles (pesagem da massa retida) é realizada

com o intuito de determinar a distribuição granulométrica estimada do pó (ALLEN, 1997; AULTON, 2001; JILLAVENKATESA et al., 2001; XU, 2002; MERKUS, 2009).

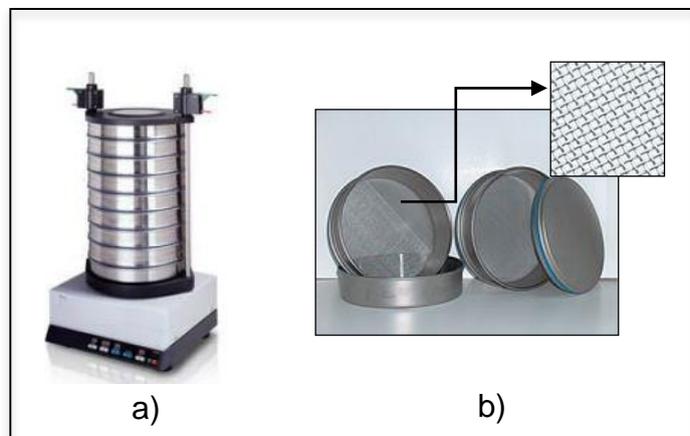


Figura 14. (a) Agitador eletromagnético com os tamises de diferentes aberturas de malhas e, (b) modelos de tamises ressaltando o desenho quadricular das malhas (Retirado de BUMILLER, 2007).

Independente do diâmetro estimado " d_s " da partícula, o diâmetro estimado pelo método de tamisação é " x " corresponde ao tamanho da partícula que passa por uma abertura quadricular com comprimento " x " da malha (AULTON, 2001). A Figura 15 exemplifica a passagem de partículas por um quadrículo de uma malha.

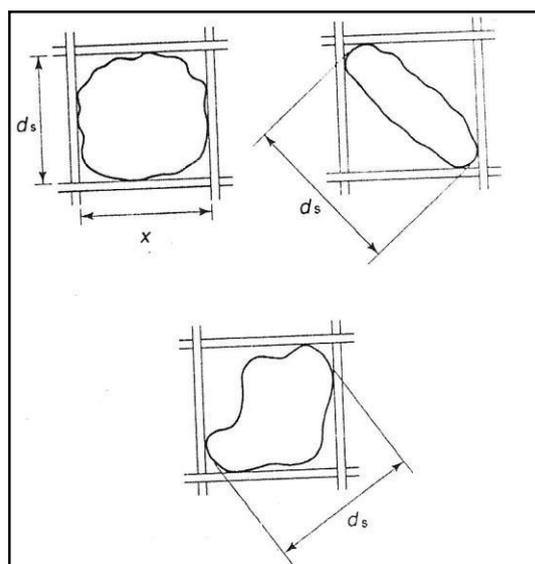


Figura 15. Diâmetro " d_s " de tamisação de diversas formas de partículas (Retirado de AULTON, 2001).

A análise por peneiras é uma medição que leva em consideração apenas duas características das partículas: largura máxima e espessura máxima. Em função disso a técnica pode sofrer alguns desvios em função do formato das partículas. Por exemplo, partículas excessivamente finas e alongadas podem ficar retidas na peneira em um primeiro momento, porém com a vibração do conjunto de peneiras, as partículas podem se posicionar de tal forma que acabem passando através da abertura da malha. A Figura 16 exemplifica esta situação.

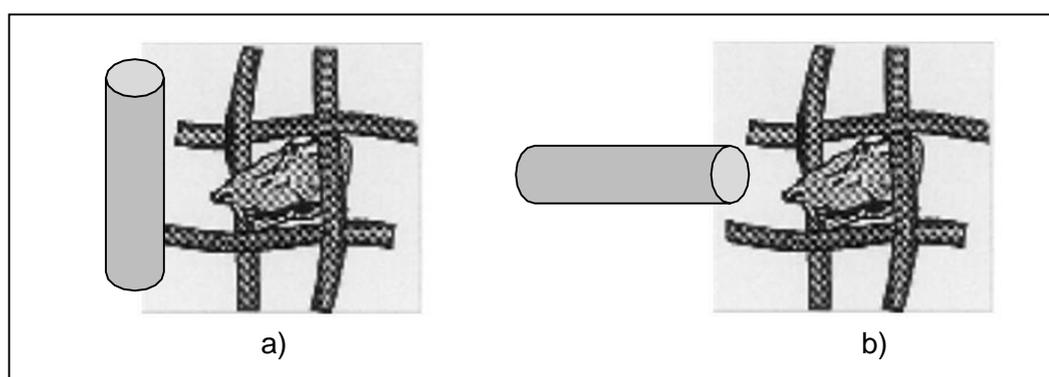


Figura 16. Representação esquemática da influência da forma de uma partícula passando pela abertura de uma malha do tamis na análise por peneira. a) impossibilidade de passagem de uma partícula cilíndrica pelo tamis em função do seu posicionamento; b) possibilidade da passagem de uma partícula cilíndrica pelo tamis em função do seu posicionamento (Adaptado de ALLEN, 1997).

Apesar das vantagens descritas acima, a análise de distribuição granulométrica por tamisação apresenta algumas desvantagens como: tempo longo de análise, normalmente há necessidade de grande quantidade de amostra, baixa sensibilidade, restrição para algumas partículas muito finas ou que apresentem como característica alta energia eletrostática ou partículas com característica de aglomeração em função de outros fatores como, por exemplo, umidade e friabilidade (BUMILLER, 2007; MERKUS, 2009). Além disso, deve-se ter um controle bastante rígido a respeito da integridade das malhas presentes nas peneiras. Se elas não forem manuseadas e higienizadas de forma adequada, podem sofrer danos nas dimensões de suas aberturas causando desvios nos resultados da análise. A Figura 17 apresenta exemplos de malhas danificadas com o uso/limpeza.

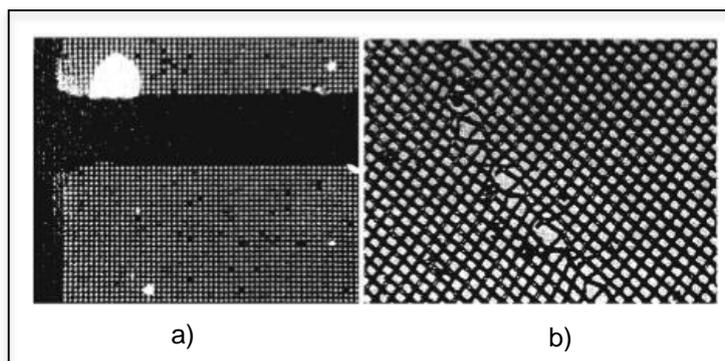


Figura 17. a) Peneira de metal com aberturas de $5\mu\text{m}$ danificadas com o uso/limpeza prolongado e, b) Peneira de tecido com aberturas de $45\mu\text{m}$ danificadas pela limpeza com escova de aço (Retirado de MERKUS, 2009).

1.2.2 Microscopia

A microscopia é a única técnica de medida direta da dimensão e morfologia das partículas pois envolve a observação direta do material. Por esta razão, frequentemente, é utilizada como método padrão para validar resultados oriundos de outras técnicas de distribuição granulométrica indiretas, como, por exemplo, espalhamento de luz laser (JILLAVENKATESA et al., 2001; PAPINI, 2003; SHEKUNOV, 2006).

Três tipos de técnicas microscópicas podem ser utilizadas para a caracterização de partículas: microscopia ótica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (MERKUS, 2009). A MO é uma técnica que depende da luz para a captura da imagem das partículas, as quais são bidimensionais e sua faixa de medição é mais restrita. Já o MEV e o MET dependem da energia de elétrons emitidos, bem como o caminho deste feixe e, como resultado, fornecem imagens tridimensionais das partículas e possibilitam análises com aumentos maiores, o que permite a análise de amostras com dimensões bastante reduzidas. A Figura 18 apresenta o intervalo de análise para diferentes métodos de microscopia (AULTON, 2001; XU, 2002).

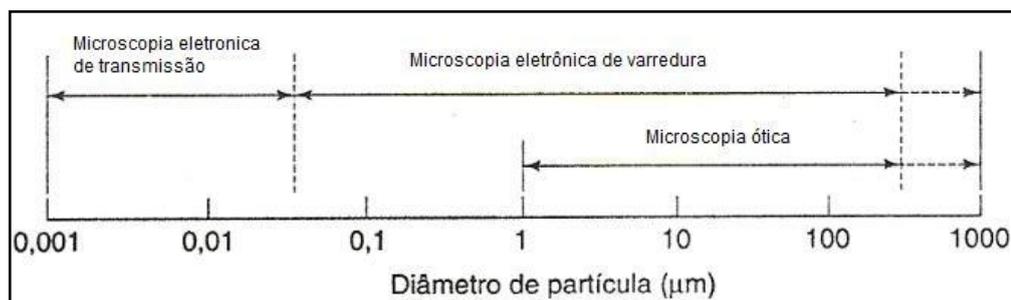


Figura 18. Intervalo de análise para métodos por microscopia (Retirado de AULTON, 2001).

A microscopia, de uma forma geral, apresenta como grande vantagem sobre muitos métodos de determinação da distribuição granulométrica a obtenção de outras informações a cerca das partículas como, por exemplo: morfologia, textura superficial e outras características óticas (XU, 2002).

De uma forma geral, fatores como amostragem, obtenção de imagens que sejam representativas do material e dificuldade de avaliação de amostras que não se apresentam na forma de sólidos (por exemplo: suspensão), variabilidade em função do operador e longos períodos de análise são barreiras que a técnica enfrenta (XU, 2002).

Neste trabalho serão abordadas apenas as técnicas de microscopia ótica e eletrônica de varredura.

1.2.2.1 Microscopia ótica

Antigamente, no início dos estudos de caracterização das partículas, a microscopia ótica era uma das únicas ferramentas utilizadas para a estimativa do tamanho das partículas (XU, 2002; MERKUS, 2009).

O princípio da microscopia ótica é bastante simples e se baseia na emissão de um feixe de luz (a qual pode ser transmitida ou refletida) através da amostra. A imagem é formada por contraste entre as características da amostra (fase, brilho, cor, polarização, etc.) e a iluminação. A ampliação da imagem é controlada por um sistema de lentes óticas que podem apresentar-se em diferentes magnificações

(MUKHOPADHYAY, 2003). Uma representação de um microscópio ótico pode ser visualizada na Figura 19.

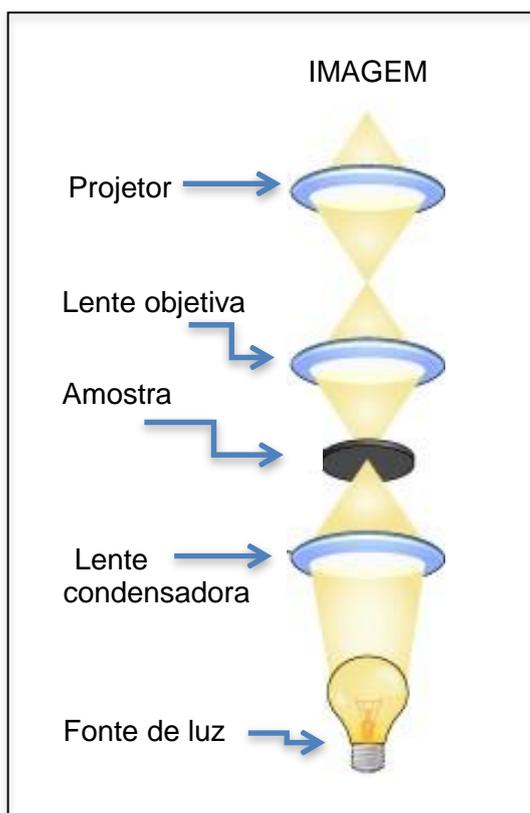


Figura 19. Representação do funcionamento de um microscópio ótico (Adaptado AMMRF, 2012).

Para a observação em um microscópio ótico, as partículas são depositadas sobre uma lâmina de vidro e o dimensionamento para partículas irregulares pode ser determinado por diferentes métodos (Figura 20), sendo eles:

- Diâmetro de Feret (F): o máximo comprimento de uma partícula medida em uma direção fixa (distância entre tangentes);
- Diâmetro de Martin (M): o comprimento da linha que bissecciona a área da imagem da partícula, sendo todas as partículas medidas em uma mesma direção;
- Diâmetro da área projetada (d_a): o diâmetro de um círculo com a mesma área da imagem bidimensional da partícula;
- Dimensão mais longa ($F_{\text{máx}}$): o diâmetro de Feret máximo de cada partícula em qualquer direção;

- Diâmetro do perímetro (d_p): o diâmetro de um círculo com o mesmo perímetro da partícula;
- Intercepto horizontal máximo: o comprimento da maior corda inserida na partícula em uma direção fixa (PAPINI, 2003; MERKUS, 2009).

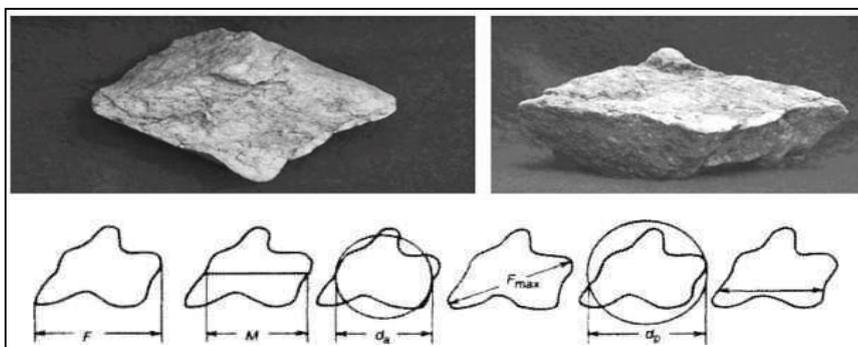


Figura 20. Métodos de medida de partículas irregulares, onde: (F) diâmetro de Feret, (M) diâmetro de Martin, (d_a) diâmetro da área projetada, (F_{\max}) dimensão máxima, (d_p) dimensão do perímetro e, intercepto horizontal máximo (PAPINI, 2003; MERKUS, 2009).

Contudo, sabe-se que os diâmetros de estatísticos aceitáveis, Feret e Martin são dependentes da forma e da orientação das partículas (Figura 21), portanto são considerados diâmetros estatísticos derivados de um valor médio originado de múltiplas orientações diferentes, que resultam em um valor médio para cada diâmetro da partícula. Ao final, estes diâmetros fornecerão resultados que são apresentados por uma distribuição das partículas menores até as maiores (ALLEN, 1997; PAPINI 2003; BUMILLER, 2007).

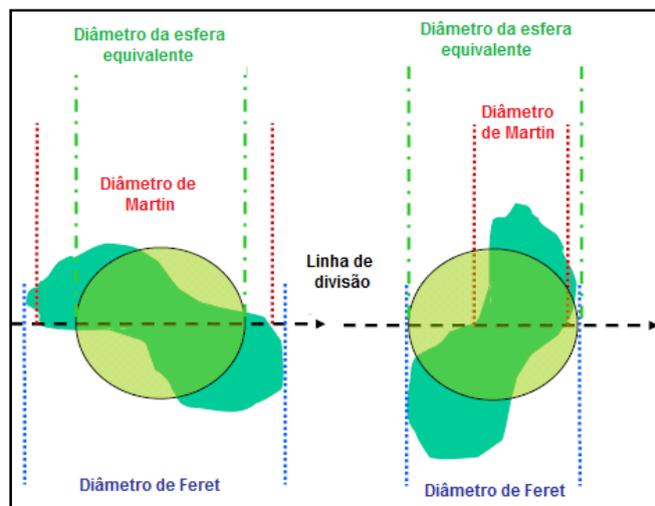


Figura 21. Influência da orientação das partículas nas medidas de Martin e Feret (Retirado de BUMILLER, 2007).

Porém, uma dificuldade apresentada pela medição das imagens projetadas por microscopia ótica é que as mesmas são bidimensionais e dependem da orientação das partículas, desta forma as partículas tendem a apresentar sua área máxima, fazendo com que as medidas realizadas por microscopia tenham valores maiores do que aqueles apresentados por outros métodos, ou seja, as menores dimensões das partículas são desprezadas (ALLEN, 1997; XU, 2002).

Outra ressalva que circunda a técnica de MO é o fato da resolução da imagem ser dependente da magnificação ótica, qualidade e tipo da objetiva, meio de imersão e outras características óticas das próprias partículas que serão analisadas. Sendo assim, o limite inferior exato de alcance de um microscópio ótico deve ser avaliado caso a caso levando em consideração diversos fatores (SHENUKOV, 2006).

Pelo exposto, fica claro que para uma avaliação mais consistente da distribuição granulométrica de partículas irregulares por microscopia ótica, é necessário avaliar alguns parâmetros fundamentais, como: número de partículas, correta calibração do microscópio e habilidade e experiência do operador (ALLEN, 1997).

1.2.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

Uma das limitações da microscopia ótica é o aumento máximo conseguido, que fica em torno de 2.000 vezes. Como consequência, pequenos detalhes estruturais não são possíveis de serem detectados através desta técnica (MALISKA, 2012).

Enquanto na microscopia ótica o contraste da imagem é resultado da diferença de refletividade da luz nas diversas regiões da amostra (uma vez que o sistema é constituído basicamente pela fonte de iluminação e de um sistema de lentes), na microscopia eletrônica a área a ser analisada é irradiada por um fino feixe de elétrons ao invés da radiação de luz (Figura 22). Assim, a imagem formada apresenta-se com possibilidades de ampliação muito maior e com muito mais resolução (XU, 2002; MERKUS, 2009; MALISKA, 2012).

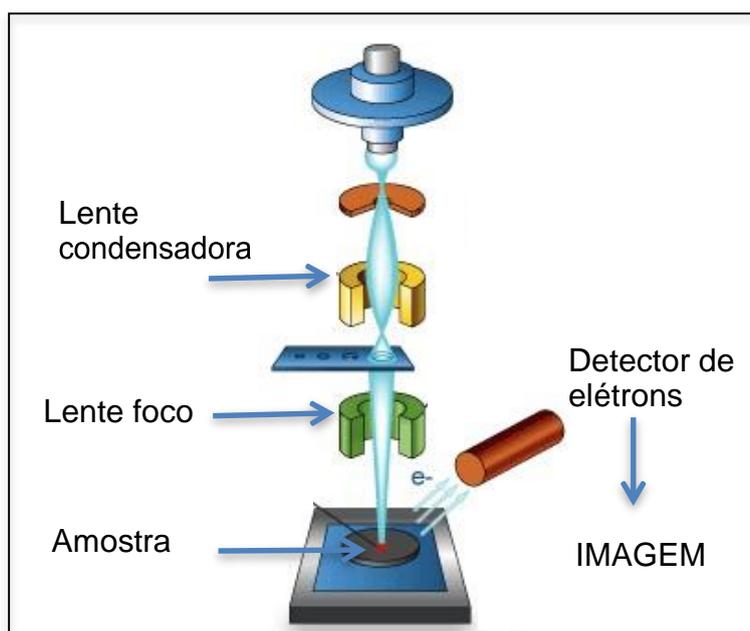


Figura 22. Representação do funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (Adaptado AMMRF, 2012).

Como resultado da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra, uma série de radiações é emitida, como elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios-X característicos. Para cada uma destas radiações captadas

são fornecidas características sobre a amostra: topografia da superfície, composição e cristalografia, respectivamente (MALISKA, 2012).

No MEV os sinais de maior interesse para a formação da imagem são os elétrons secundários. A medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra, estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem da topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução (MALISKA, 2012).

Entretanto, para que o feixe de elétrons possa incidir na amostra e serem transmitido aos detectores, a amostra deve estar recoberta com uma fina camada de metal, geralmente ouro, o qual será responsável pela efetiva possibilidade de geração da imagem. Uma boa imagem pode estar diretamente relacionada a uma adequada metalização da amostra (MUKHOPADHYAY, 2003).

As grandes vantagens da MEV em relação ao microscópio ótico são: alta resolução (na ordem de 2 a 5 nm (20 a 50Å) – atualmente existem instrumentos com até 1 nm (10Å) de resolução – enquanto que no ótico é de 0,5µm, elevada profundidade de foco (imagem com aparência tridimensional) e a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a microanálise química (XU, 2002; MALISKA, 2012).

Embora as características da MEV signifiquem um grande avanço para a caracterização de partículas, a mesma apresenta algumas desvantagens em relação a MO, como: necessidade de um preparo da amostra mais elaborado, manuseio de um microscópio mais complexo, necessidade de um conhecimento técnico maior e custo consideravelmente maior (XU, 2002).

1.2.3 Espalhamento de luz laser

Atualmente o espalhamento de luz laser (LLS, do inglês *Laser Light Scattering*) é uma das técnicas utilizadas rotineiramente na análise da distribuição granulométrica de materiais (VILLIERS, 1995; LERKE et al., 2002; KIPPAX, 2004; VIRDEN, 2010; USP 34, 2012).

A sua flexibilidade, faixa de medição ampla e dinâmica, velocidade de operação (em relação a outras técnicas tradicionais como peneiramento), automação, utilização de uma quantidade reduzida de amostra para a realização da análise e melhor sensibilidade, fazem dela uma técnica cada vez mais utilizada para avaliação da distribuição granulométrica de insumos farmacêuticos (KIPPAX, 2004; VIRDEN, 2010; USP 34, 2012).

O método de análise da distribuição granulométrica por espalhamento de luz consiste em uma fonte de luz, um circuito de dispersão, uma célula de medida e detectores (Figura 23). Ao suspender as partículas em algum meio de dispersão (gás ou líquido), elas cortam o feixe de luz, geralmente, luz laser, causando uma descontinuidade e o conseqüente espalhamento da luz (ALLEN, 1997; ISO 13320-1, 1999; JILLAVENKATESA et al, 2001; MERKUS, 2009).

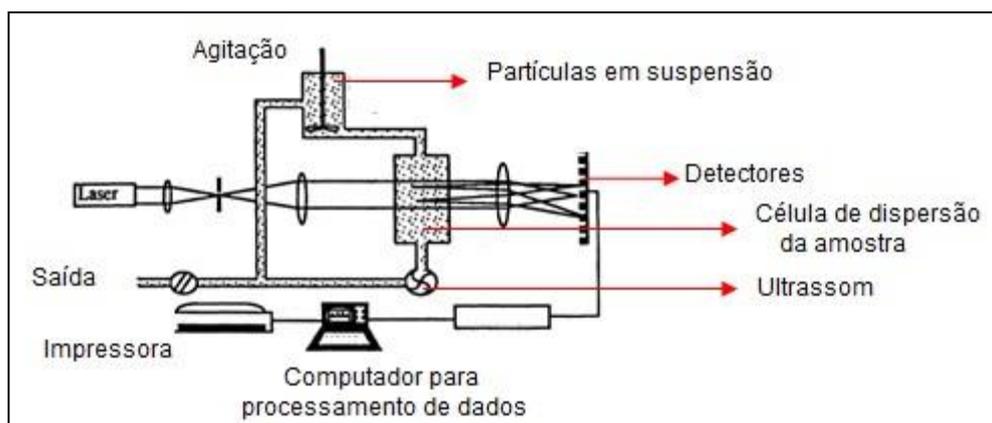


Figura 23. Esquema do princípio de espalhamento de luz laser (Adaptado de ALLEN, 1997).

Como mencionado anteriormente, as partículas esféricas apresentam apenas um parâmetro de medição: o diâmetro. Porém, para partículas que são irregulares há necessidade de mais de uma medida para resultar o seu tamanho real (largura, altura, profundidade, etc.). A distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser aproxima o tamanho da partícula a uma esfera equivalente, onde o diâmetro passa a ser o único valor a ser expresso (PAPINI, 2003; USP 34, 2012). Geralmente, para a obtenção do resultado de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser utiliza-se para cálculos base o volume (MERKUS, 2009).

A luz laser, ao incidir na partícula, sofre quatro diferentes fenômenos: difração⁶, refração⁷, reflexão⁸, e absorção⁹ (Figura 24) (ALLEN, 1997; ISO 13320, 2009; MERKUS, 2009). A magnitude de cada fenômeno irá depender da natureza e tamanho das partículas que receberão o feixe (JILLAVENKATESA et al., 2001).

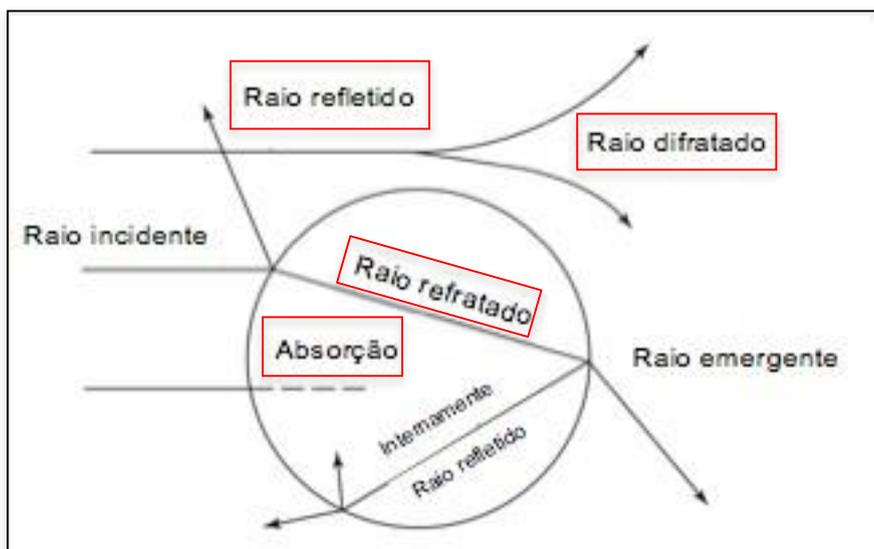


Figura 24. Interação de um feixe de luz com uma partícula esférica (Adaptado de ALLEN, 1997).

O resultado da difração forma um invólucro tridimensional de luz, o qual é afetado pelo índice de refração da partícula e do meio dispersante, comprimento de onda da luz incidente e tamanho e formato da partícula. Este invólucro é inversamente proporcional ao tamanho da partícula, conforme representado esquematicamente na Figura 25.

⁶ Difração (análise de distribuição granulométrica): espalhamento da luz ao redor do contorno da partícula;

⁷ Refração: processo de mudança da direção da radiação, que pode ser em função do resultado de uma mudança na velocidade de propagação durante a passagem em um meio óptico não homogêneo ou por cruzar um meio de diferente superfície;

⁸ Reflexão: (análise de distribuição granulométrica): mudança de direção da luz ao incidir sobre a superfície de uma partícula, sem alteração da frequência ou comprimento de onda;

⁹ Absorção: redução do feixe de luz, porém não em função do espalhamento da luz (ISO 13320, 2009).

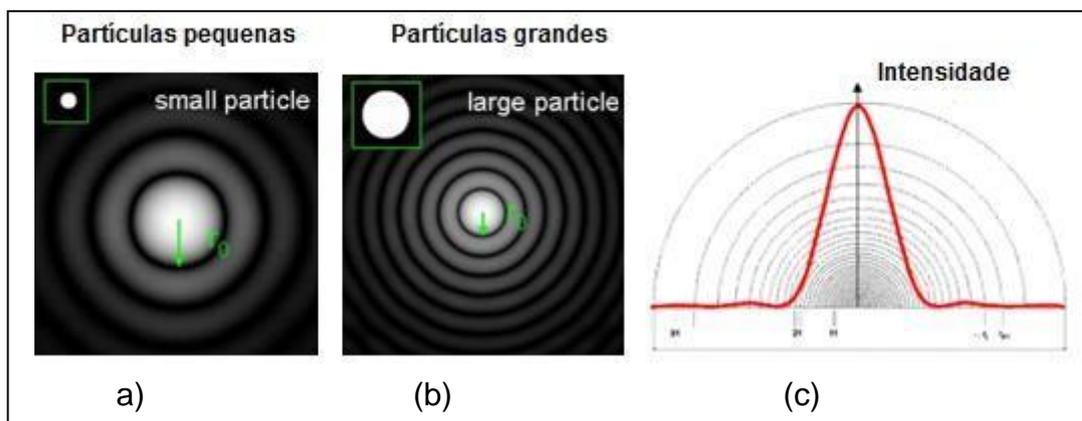


Figura 25. Representação do invólucro formado pela incidência da luz laser em uma partícula pequena (a), em uma partícula grande (b) e, (c) exemplificação da transformação da medida em um gráfico de distribuição granulométrica (Adaptado de SYMPATEC, 2012).

Detectores posicionados no lado oposto ao feixe de luz laser medem o ângulo e a intensidade da luz espalhada. A Figura 26 apresenta um exemplo da detecção do espalhamento de luz para uma partícula esférica de $5\mu\text{m}$.

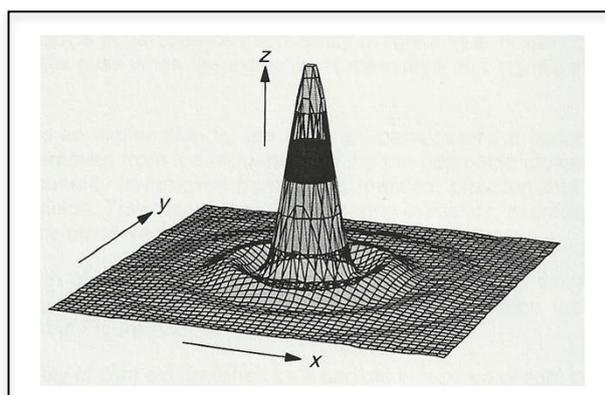


Figura 26. Espalhamento de luz padrão de uma esfera de $5\mu\text{m}$ (Índice de refração (IR) do meio, $n_{\text{H}_2\text{O}}$: 1,33; $\lambda = 633\text{nm}$; IR da partícula, $n_p = 1,59 - 0,0i$) onde: $x =$ detectores do eixo x ; $y =$ detectores do eixo y e $z =$ intensidade relativa (retirado da ISO 13320, 2009).

Um computador que faz o controle e armazenamento das leituras, utiliza um modelo óptico adequado (geralmente contém um modelo de matriz que relaciona os vetores de espalhamento pelas unidades de volume classificadas por tamanhos), e então o sinal é convertido para a distribuição granulométrica da amostra (Figura 25-c) (ALLEN, 1997; JILLAVENKATESA et al, 2001; ISO 13320, 2009; VIRIDEN, 2011).

O formato da partícula irá determinar o padrão de espalhamento da luz e o tamanho da mesma será dependente da orientação da partícula e da geometria e

orientação dos detectores (ISO 13320, 2009; MERKUS, 2009). A Figura 27 apresenta padrões de espalhamento de luz para uma partícula retangular e uma partícula irregular.

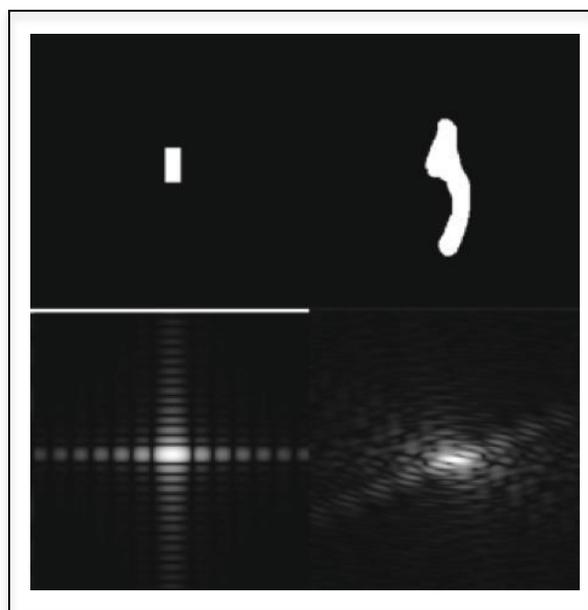


Figura 27. a) padrão de espalhamento de luz de uma partícula retangular e, b) padrão de espalhamento de luz de uma partícula irregular (Retirado de MERKUS, 2009).

Cabe ressaltar que existem diferenças significativas de hardware e software entre equipamentos de diferentes fabricantes. Desta forma, o relato das especificações do equipamento no momento da avaliação de resultados é de extrema importância para que a análise dos dados seja feita de forma correta (ISO 13320, 2009).

A interpretação do “espectro” de difração do laser para distribuição granulométrica depende de 2 principais operações:

- 1) Requer modelos matemáticos que identifiquem a homogeneidade de espalhamentos de luz causados pelas partículas e,
- 2) Tradução dos espalhamentos de luz medidos em distribuição de tamanho de partícula da amostra (ISO 13320, 2009).

Os equipamentos são projetados com recursos para aplicar vários modelos óticos, porém, tradicionalmente, os modelos óticos mais utilizados são: a teoria de Mie ou a aproximação de Fraunhofer (ambos partem do princípio da esfera equivalente) (VIRDEN, 2011).

Em 1908 Gustav Mie descreveu as propriedades do espalhamento de luz para esferas homogêneas com propriedades óticas conhecidas. A teoria de Mie fornece soluções matemáticas complexas que são válidas para todos os tamanhos de esferas. Quando se faz uso de tal teoria, assume-se que:

- todas as partículas são óticamente homogêneas, isotrópicas e esféricas;
- a partícula é iluminada por uma onda plana e de comprimento conhecido;
- o IR da partícula (tanto o componente real como o imaginário) e o IR do meio de dispersão são conhecidos e,
- as partículas não apresentam mudanças superficiais (JILLAVENKATESA et al, 2001; KIPPAX, 2008; ISO 13320, 2009).

Entretanto, sabe-se que o conhecimento sobre o índice de refração das partículas (especialmente a parte do IR imaginário) não está prontamente disponível na literatura (ISO 13320, 2009).

A aproximação de Fraunhofer foi o primeiro modelo ótico empregado para medidas de tamanho de partícula. Esta aproximação assume que:

- as partículas absorvem a luz completamente, ou seja, são consideradas opacas (apenas a difração do contorno da partícula é considerado);
- todas as partículas tem uma secção transversal circular;
- a partícula é iluminada por uma onda plana e de comprimento conhecido;
- apenas a difração na direção para frente é considerada e,
- o ângulo detectado (eixo x) deve ser muito maior que o comprimento de onda da radiação (JILLAVENKATESA et al, 2001; KIPPAX, 2008; ISO 13320, 2009).

Neste caso, não há influência da polarização da luz ou da transmissão de luz através da partícula (Figura 28-a) (uma vez que se assume que todas partículas são opacas), por isso não é necessária a utilização do IR da partícula para o modelo ótico de Fraunhofer, diferentemente do que ocorre com a teoria de Mie (Figura 28-b) (JILLAVENKATESA et al, 2001; ISO 13320, 2009; MALVERN, 2012).

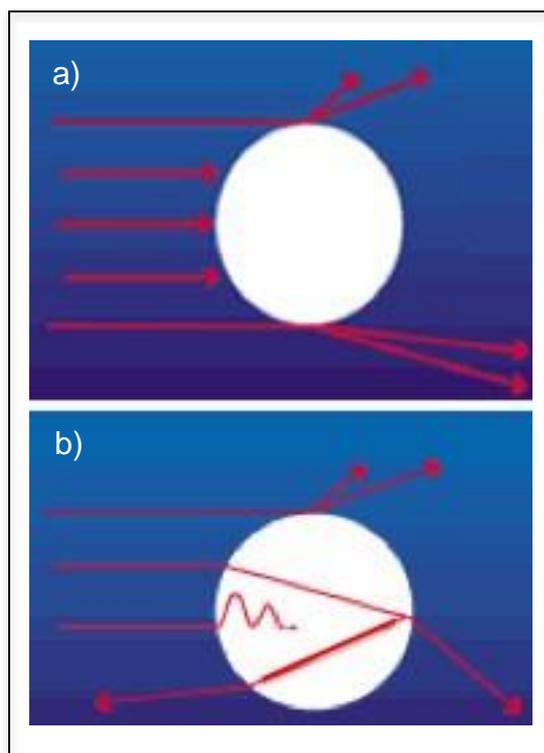


Figura 28. Representação das diferenças na incidência de um feixe de luz sobre uma partícula esférica entre a aproximação de Fraunhofer e a teoria de Mie (Retirado de SYMPATEC, 2012).

Do ponto de vista científico, para a escolha entre os dois modelos deveria ser considerado o comprimento de onda da radiação, o tamanho aproximado das partículas a serem medidas, o IR real da partícula e a absorção (parte do IR imaginário). Se todas as partículas da distribuição forem maiores que $50\mu\text{m}$, os resultados obtidos utilizando a aproximação de Fraunhofer e a teoria de Mie são muito similares (Figura 29-a). Para partículas com tamanhos entre $2\mu\text{m}$ e $50\mu\text{m}$, há uma diferença considerável entre os dois modelos óticos nos maiores ângulos (que são referentes as menores dimensões) (Figura 29-b), o que mostra a dependência do conhecimento das propriedades óticas para partículas inferiores a $50\mu\text{m}$. Sendo que diferentemente do que ocorre para as partículas transparentes, para partículas opacas, pode ser evidenciada uma melhor correlação (ISO 13320, 2009).

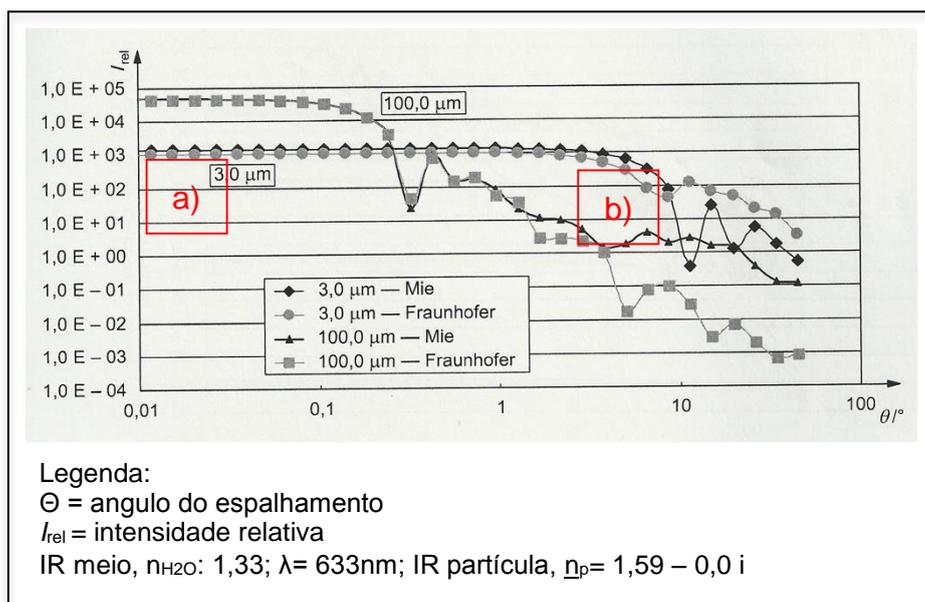


Figura 29. Comparação do padrão de espalhamento entre partículas transparentes de 3 μ m e 100 μ m, onde: a) indica a maior flutuação entre os espalhamentos de Mie e Fraunhofer em ângulos maiores (Fraunhofer apresenta menor sensibilidade de detecção) e, b) indica a similaridade dos espalhamentos (Mie e Fraunhofer) quando os tamanhos de partículas são maiores que 50 μ m (Retirado de ISO 13320, 2009).

Embora se saiba que a aproximação de Fraunhofer seja mais indicada para partículas maiores que 50 μ m, a não necessidade do uso de IR das partículas pode acabar sendo uma grande vantagem, já que para muitos materiais as propriedades óticas ainda não estão estabelecidas (JILLAVENKATESA et al, 2001; ISO 13320, 2009; MALVERN, 2012).

Por conseguir abranger de forma mais adequada as partículas mais finas, o modelo ótico de Mie é o mais utilizado em muitos segmentos que necessitam analisar partículas menores que 50 μ m, entretanto, no setor farmacêutico, o modelo ótico de Fraunhofer ainda é o mais utilizado. Este fato se dá em função da ausência do conhecimento do índice de refração das partículas, para a grande maioria dos insumos farmacêuticos.

1.3 Desenvolvimento de metodologia para análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser

Apesar da facilidade de manuseio dos equipamentos disponíveis atualmente no mercado, o desenvolvimento de metodologias robustas, seguras e com dados precisos (reprodutíveis e repetitivos) demanda uma rigorosa e sistemática análise dos fatores que podem influenciar os resultados (HAUSNER, 2003; VIRDEN, 2010).

Alguns aspectos devem ser levados em consideração durante o desenvolvimento de uma metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, como:

- Escolha do meio de dispersão (líquido ou gás);
- Inspeção da amostra a ser analisada, bem como preparação, dispersão e concentração da mesma;
- Condições de medida (agitação, ultrassom, modelo ótico, etc.) (ISO 13320, 2009; USP 35, 2012).

1.3.1 Amostra

1.3.1.1 Inspeção da amostra

O primeiro passo do desenvolvimento deve se basear na inspeção do tamanho e morfologia da amostra a ser analisada, a qual pode ser realizada através de uma avaliação por microscopia (ISO 13320, 2009; USP 34, 2012). Esta ferramenta é de extrema utilidade para a caracterização das partículas e conhecimento de suas características tanto na forma seca, como durante a dispersão em algum meio (USP 35, 2012).

As partículas de um pó na sua forma seca podem apresentar-se como: partículas primárias (menor divisão identificável em um sistema de partículas) ou agregados (massa coesa que consiste em subunidades de partículas primárias) (HACKLEY, 2001).

Para partículas grandes, a força de adesão entre elas é pequena e a dispersão pode ser facilmente alcançada. Para partículas primárias com tamanhos abaixo de 20 μm , há aderência umas nas outras através de forças superficiais (coesão). Este fenômeno acaba gerando aglomerados¹⁰ ou agregados (VILLIERS, 1995; KIPPAX, 2005b; STEWART et al., 2007). Ou seja, as forças de adesão das partículas são inversamente proporcionais ao tamanho das partículas (Figura 30) (KIPPAX, 2005b).

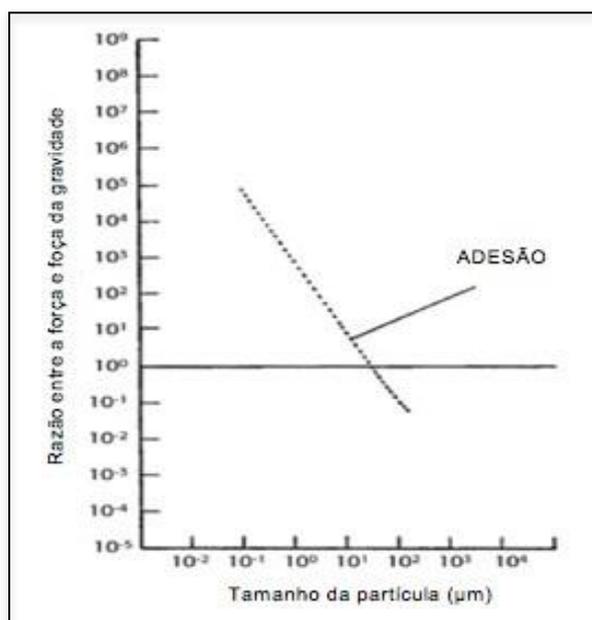


Figura 30. Força de adesão entre as partículas em relação ao seus tamanhos (Retirado de KIPPAX, 2005b).

Desta forma, quando as partículas apresentam-se na forma de agregados, há necessidade de dispersão das mesmas e para isso, geralmente, utilizam-se alguns artifícios no meio de dispersão, seja ele gás (como por exemplo: fluxo de ar ou bilhas de aço) ou líquido (como por exemplo: tensoativos, agitação ou ultrassom). Neste momento, há necessidade do acompanhamento da integridade das partículas e da efetividade da desagregação e/ou desaglomeração e a microscopia mais uma vez apresenta-se como uma ferramenta bastante útil (HAUSNER, 2003; ISO 13320, 2009; STEWART et al., 2007; KIPPAX, 2009; USP 35, 2012).

¹⁰ Aglomerados: formação de agregados em uma suspensão através de forças de Van der Waals ou energia eletrostática, a estrutura resultante é chamada de aglomerado (HACKLEY, 2001).

1.3.1.2 Amostragem

A amostragem é o ato de retirar uma pequena quantidade de um pó a partir de um granel, de tal modo que esta amostra reduzida, ao ser analisada, seja capaz de traduzir as características de todas as partículas do granel como: tamanho, morfologia e área superficial específica (JILLAVENKATESA et al, 2001; ISO 14488, 2007).

A mistura de um ou mais pós podem apresentar-se de 4 maneiras:

- Mistura perfeita: a seleção de qualquer porção da amostra, em qualquer local do lote irá fornecer porções de partículas de todos os tipos que existem no lote. Este tipo de mistura só é alçado pela manipulação cuidadosa das partículas (Figura 31-a);
- Mistura randomizada: é definida como sendo a mesma probabilidade de selecionar um determinado tipo de partícula em todas as posições da mistura (Figura 31-b);
- Mistura segregada: partículas de um tipo têm maior probabilidade de ser encontrada numa determinada parte da mistura, devido às diferenças no tamanho, forma e/ou densidade (Figura 31-c);
- Mistura ordenada: um certo número de partículas menores adere à superfície das partículas de maiores dimensões (Figura 31-d) (AULTON, 2002; MERKUS, 2009).

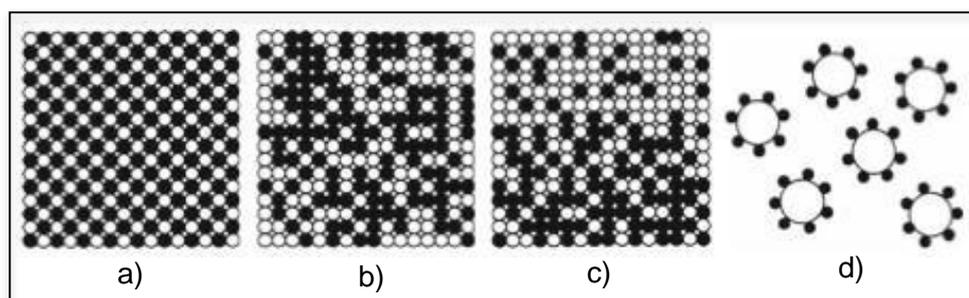


Figura 31. Tipos de mistura (Retirado de MERKUS, 2009).

Muitas vezes a amostra encontra-se bem misturada e a coleta da amostra irá apresentar-se apenas com variações randomizadas (ISO 14488, 2007). Porém, caso a amostra não esteja homogênea e possua variação no tamanho das partículas,

frequentemente a segregação pode estar presente. Este fenômeno ocorre pois partículas com maiores dimensões possuem um peso maior e com isso tendem a se depositar no fundo, enquanto que as partículas de menores dimensões são mais leves e permanecerão na superfície (AULTON, 2002). A segregação de pós em função da diferença entre o tamanho das partículas de um pó não é algo tão incomum na indústria e pode ser favorecido até mesmo pelo transporte das barricas e/ou frascos contendo os materiais (MALVERN, 2001). Como resultado, a coleta de uma amostra que esteja segregada pode fornecer variações sistemáticas, ou seja, diferentes locais e momento de amostragem podem resultar em características distintas (ISO 14488, 2007). Uma má caracterização da amostra pode levar a inúmeros problemas de processo e qualidade do produto final (JILLAVENKATESA et al, 2001; MALVERN, 2001).

Para uma amostragem representativa, cada partícula do lote deve ter a mesma probabilidade de ser amostrada em diferentes porções. Desta forma, para materiais bem misturados, uma simples amostra pode representar uma quantidade suficiente. Porém, para a maioria dos materiais, um mínimo de segregação é esperado e por isso várias amostras devem ser coletadas em diferentes porções e diferentes tempos (ISO 14488, 2007).

Na maioria dos casos, não há “receita” para uma amostragem representativa. A qualidade do procedimento de amostragem será apenas avaliada durante as medidas da análise (ISO 14488, 2007).

Durante o processo de amostragem dois tipos de erros são possíveis:

- 1) Erro fundamental (ou erro estatístico): está relacionado a natureza das partículas e suas diferentes propriedades. É um erro estatístico, relacionado as variações randomizadas e representa o limite inferior do total de erros da amostragem. Este erro depende da quantidade (número, massa) de amostra tomada;
- 2) Erro relacionado devido a segregação: ocorre de acordo com o grau de segregação ou da mistura inadequada das partículas em função do seu tamanho, morfologia e densidade. Este erro não pode ser previsto, apenas avaliado pelas medidas das amostras retiradas de diferente locais e tempos do lote (ISO 14488, 2007).

Inúmeras técnicas são descritas por diversas literaturas para a amostragem (JILLAVENKATESA et al, 2001; MALVERN, 2001; AULTON, 2002; XU, 2002;

BUMILLER, 2007; ETZLER, 2007; ISO 14488, 2007; KIPPAX, 2004; MERKUS, 2009; VIRDEN, 2010). A Tabela 2 apresenta algumas delas e os erros associados a cada uma delas.

Tabela 2. Diferentes técnicas de amostragem e seus erros associados (Adaptado de PAPINI, 2003).

| Diferentes técnicas de amostragem e seus erros associados | |
|---|--------------------------|
| Técnica de amostragem | Erro máximo estimado (%) |
| Pilha cônica | 22,7 |
| Amostrador tipo concha | 17,1 |
| Mesa de amostragem | 7,0 |
| Amostrador tipo <i>Jones</i> | 3,4 |
| Amostrador centrífugo | 0,4 |

Independente da técnica de amostragem escolhida, o processo sempre será uma seleção ao acaso, porém, a escolha do melhor método para cada segmento e necessidade é de suma importância. Além disso, o estabelecimento de procedimentos padrões para a etapa de amostragem garantirá a robustez.

1.3.2 Condições de análise

1.3.2.1 Meio de dispersão

Para todas as amostras, deve-se decidir o meio de dispersão que será realizada a análise, seco (partículas dispersas em um gás, geralmente ar) ou líquido (partículas dispersas em um líquido) (MALVERN, 2012). São vários os fatores que podem influenciar a tomada desta decisão, os principais são: o estado natural da amostra (pó, suspensão, etc.), tamanho aproximado de suas partículas, facilidade de dispersão, quantidade de amostra disponível, solubilidade, disponibilidade de meios líquidos/tensoativos e qual a finalidade da análise (determinação da granulometria

da amostra com aglomerados ou suas partículas dispersas na forma primária) (ISO 13320, 2009; VIRDEN, 2010).

1.3.2.1.1 Dispersão em seco

Geralmente a análise da amostra pelo módulo seco é mais simples, pois não há muitos procedimentos que podem ser tomados a fim de realizar um preparo prévio, e, normalmente, os parâmetros que podem ser utilizados para a dispersão da amostra estão atrelados ao desenho e características do equipamento (por exemplo: fluxo de ar, vibração da bandeja de amostra, presença de bilhas, etc.) (MALVERN, 2012).

Este meio de dispersão é indicado para partículas grossas (acima de $50\mu\text{m}$), bom fluxo e queda livre com a gravidade. Porém, pode-se tentar dispersar as partículas com alguma energia eletrostática atreladas a elas ou agregadas utilizando um sistema de vácuo. Este artifício gera a dispersão das partículas pela velocidade do fluxo de ar e/ou pela colisão mecânica partícula-partícula e/ou partícula-paredes do equipamento (Figura 32). Em função das características da dispersão de partículas o meio seco apresenta maior energia, quando comparado ao líquido (ISO 13320, 2009; MALVERN, 2012).

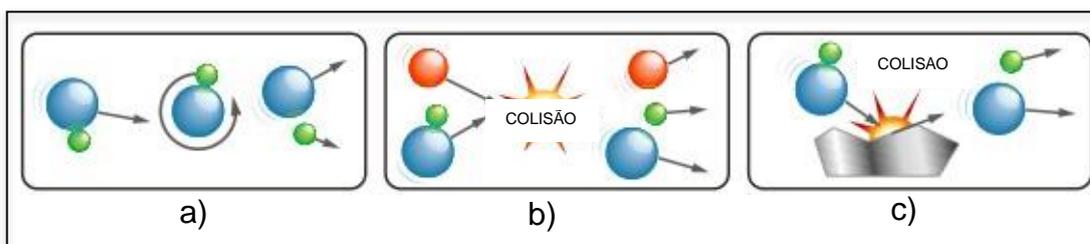


Figura 32. a) dispersão das partículas pelo fluxo de ar; b) dispersão das partículas pela colisão mecânica partícula-partícula; c) dispersão das partículas pela colisão mecânica partícula-paredes do equipamento (Retirado de MALVERN, 2012).

O desenvolvimento de uma metodologia com meio seco baseia-se na seleção adequada dos parâmetros de caimento da amostra (passagem pelo laser) e fluxo de ar (pressão). Este procedimento pode ser determinado quando a amostra é analisada em diferentes pressões de ar. O ponto ótimo de análise determina-se quando a amostra não apresenta mais alteração da distribuição granulométrica.

Entretanto, é fundamental que o resultado obtido seja comparado com outra técnica a fim de garantir que os procedimentos utilizados para a dispersão da amostra não estejam danificando as características dimensionais da amostra e/ou que o método de análise esteja sendo efetivo na dispersão das partículas. Usualmente, utiliza-se uma técnica extra e/ou um meio de dispersão em paralelo para análise da mesma amostra, como por exemplo: a verificação através da microscopia e/ou a utilização de um meio líquido (HAUSNER, 2003; KIPPAX, 2004; BUMILLER, 2007; ISO, 13320, 2009).

1.3.2.1.2 Dispersão em líquido

Na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser utilizando o meio líquido para a dispersão, as partículas são suspensas através do molhamento das superfícies das mesmas. O meio dispersante age reduzindo a energia de superfície da partícula e com isso diminui as forças de atração entre elas. Este fenômeno permite que as partículas fiquem em suspensão ¹¹ e possam ser analisadas adequadamente.

Os pós, especialmente na indústria farmacêutica, possuem características que fornecem inúmeras razões para que o meio líquido seja preferido, como:

- Coesividade (especialmente nas partículas abaixo de 15-20 µm, as quais estão frequentemente presentes na área farmacêutica);
- Toxicidade (a utilização de via úmida reduz a exposição ao pó e diminui riscos de inalação);
- Fragilidade (análise em suspensão diminui a possibilidade de quebra quando comparado ao meio seco) (VILLIERS, 1995; STEWART et al., 2007; VIRDEN, 2010).

Para que as partículas estejam em suspensão é necessário que as mesmas apresentem adequada molhabilidade, ou seja, é necessário permitir que o líquido (meio de dispersão) se espalhe sobre as suas superfícies. Normalmente, compostos de alta tensão superficial tendem a se comportar como gotas esféricas sobre uma

¹¹ Suspensão (análise de distribuição granulométrica por dispersão em líquido): consiste em uma mistura de um pó em um líquido. Este pó deve ser necessariamente insolúvel no líquido em que será

superfície, molhando-a pouco, já que as moléculas apresentam forte atração entre si e tendem a se manterem juntas. Quando a tensão superficial é menor, o líquido se espalha mais pela superfície da partícula, favorecendo a molhabilidade. Quanto maior for o ângulo, menor é a molhabilidade e maior a tensão superficial entre o sólido e o líquido dispersante (Figura 33) (BUMILLER, 2007; DALTIM, 2011). E o objetivo final, para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser utilizando o meio de dispersão líquido, é revestir completamente a partícula no meio selecionado (Figura 34) (BUMILLER, 2007).

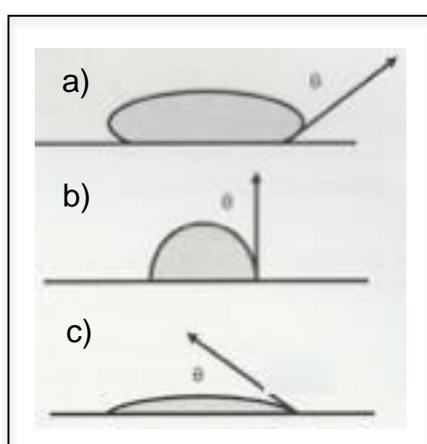


Figura 33. Representação de diferentes ângulos de contato formado por uma gotícula de líquido em uma superfície sólida, onde: a) grande ângulo – pouca molhabilidade, b) ângulo intermediário fornecendo características intermediárias de molhabilidade e, c) pequeno ângulo de contato – boa habilidade de molhabilidade (Adaptado de BUMILLER, 2007).

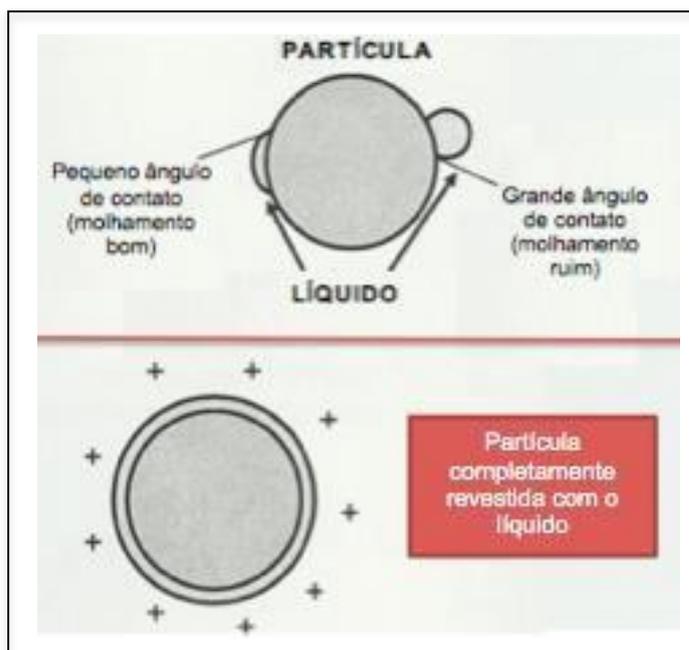


Figura 34. Representação da vista superior de uma partícula com boa e má molhabilidade e, outra partícula completamente revestida por um líquido (situação ideal) (BUMILLER, 2007).

Na indústria farmacêutica, grande parte dos insumos apresentam baixa solubilidade ou são praticamente insolúveis em água. Por isso, o uso de solventes como a água normalmente geram alta tensão superficial, o que dificulta a molhabilidade das partículas e, conseqüentemente, a formação de uma suspensão estável (MALVERN, 2012). Além disso, como mencionado anteriormente, o uso frequente de insumos micronizados eleva a dificuldade de desaglomeração das partículas para a realização da análise. Nestes casos, o uso de tensoativos ou artifícios como agitação e ultrassom podem ser adequados para favorecer a obtenção de uma análise adequada (VILLIERS, 1995; HAUSNER, 2003; STEWART, 2007). A questão dos tensoativos será discutida em um item específico ao longo deste trabalho.

Durante a análise com meio líquido é importante garantir que o material não está sendo solubilizado em quantidade significativa (com o uso ou não de tensoativos). Além disso, deve ser avaliado o impacto da utilização de agitação e ultrassom, tanto durante a análise como no preparo prévio da amostra (caso esta etapa presente). Da mesma forma que no meio de dispersão a seco, as partículas podem ser danificadas ou não serem completamente dispersas com o uso destas ferramentas. Portanto, deve ser realizado um acompanhamento durante o

desenvolvimento sobre o comportamento da distribuição granulométrica frente ao uso de diferentes percentuais de agitação e ultrassom (HAUSNER, 2003; BUMILLER, 2007; STEWART, 2007; MALVERN 2012).

1.3.2.1.2.1 Tensoativos

Tensoativo é um tipo de molécula que apresenta uma parte com característica apolar ligada a outra parte com característica polar e, por isso, são denominadas moléculas anfifílicas. Desta forma, a molécula de tensoativo é polar e apolar ao mesmo tempo (Figura 35) (TADROS, 2005; DALTIM, 2011).

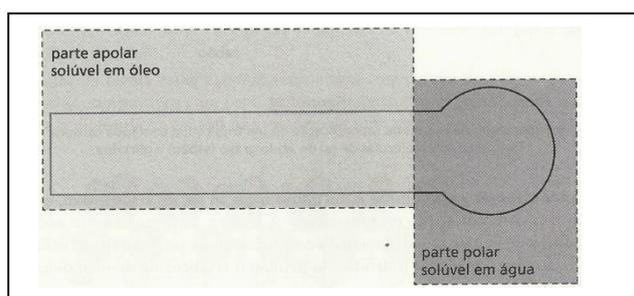


Figura 35. Representação esquemática de uma molécula de tensoativo com sua parte apolar e polar (Retirado de DALTIM, 2011).

A parte apolar de um tensoativo normalmente tem origem em uma cadeia carbônica (linear, ramificada ou cíclicas), pois os carbonos dessa cadeia, apesar de serem mais eletronegativos que os átomos de hidrogênio, não formam polos de concentração de carga eletrostática. A parte polar deve ser formada por alguns átomos que apresentem concentração de carga, e a carga presente pode indicar a classe do tensoativo. As diferentes classes são descritas como:

- Aniônico: apresenta carga negativa na região polar;
- Catiônico: apresenta carga positiva na região polar;
- Anfótero: apresenta carga positiva e negativa na região polar; e
- Não iônico: não apresenta carga verdadeira (ou seja, não são originados de sais dissociados) (TADROS, 2005; DALTIM, 2011).

Para melhor visualização, a Figura 36 apresenta um esquema das diferentes classes de tensoativos.

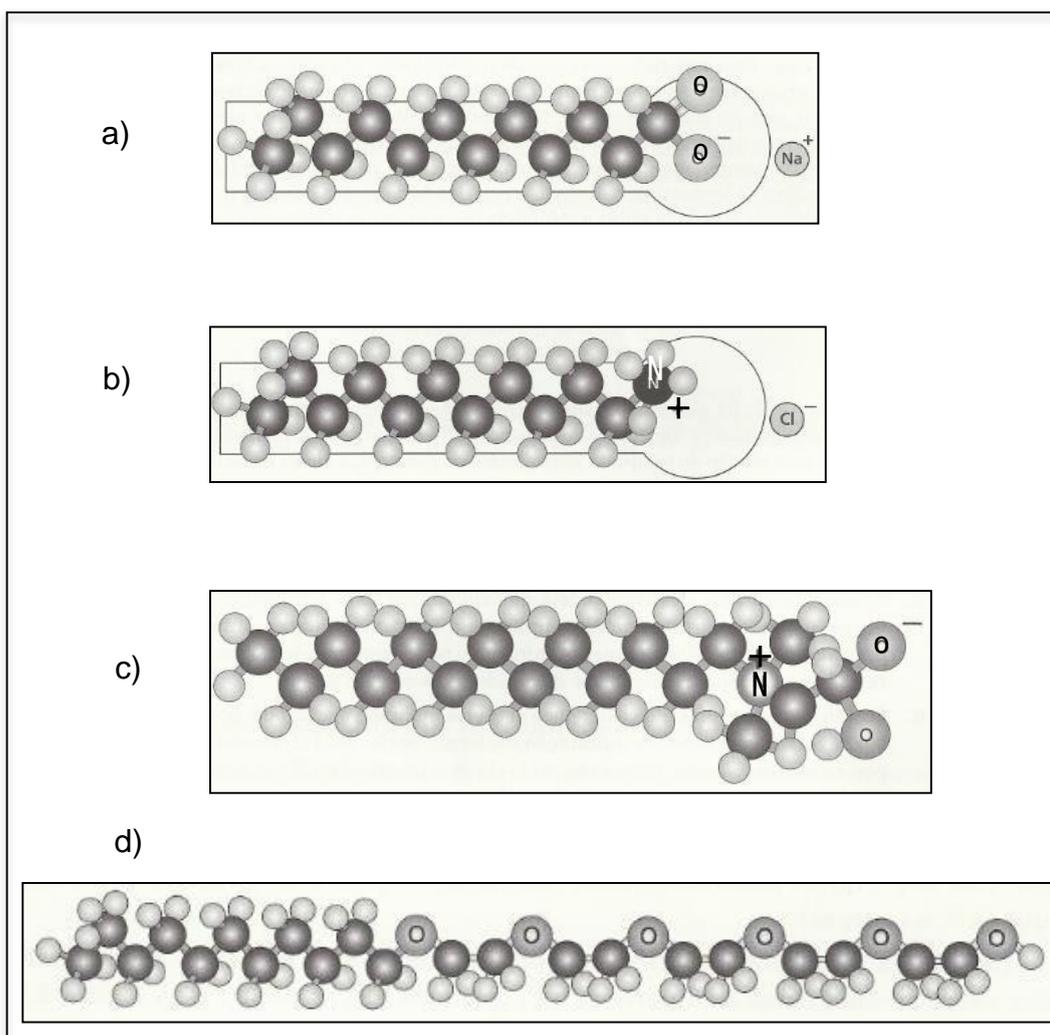


Figura 36. Representação das diferentes classes de tensoativos. (a) Molécula de dodecano de sódio – tensoativo aniônico; (b) Molécula de um sal quaternário de amina graxa – tensoativo catiônico; (c) Molécula de tensoativo anfótero e; (d) Molécula formada por álcool dodecílico etoxilado – tensoativo não iônico (Adaptado de DALVIN, 2011).

Na maioria dos casos, os tensoativos produzidos comercialmente não são substâncias químicas puras. Normalmente eles são uma mistura de compostos com cadeias de comprimento diferentes, por serem na sua maioria derivados de químicos do petróleo, óleos vegetais naturais e gordura natural animal. Em função disso, pode haver uma grande variação na qualidade dos tensoativos caso a produção não seja bem controlada (TADROS, 2005).

Para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, a escolha de um tensoativo deve ser criteriosa, respeitando certos requisitos como:

- ser transparente no comprimento de onda usado para a realização do ensaio,
- ser quimicamente compatível com os materiais do equipamento,
- não dissolver as partículas,

- não ter grande propensão a formação de bolhas,
- ser estável e favorecer a estabilização da suspensão e,
- ter viscosidade adequada para utilização no equipamento (ISO 14887, 2000; MALVERN, 2001-a).

A adição de tensoativos deve ser realizada aos poucos para que possa ser avaliada qual a concentração ideal, uma vez que a utilização de uma concentração muito alta pode resultar na solubilização do material e uma concentração muito baixa pode resultar na ineficaz dispersão das partículas (Figura 37-a). A adição de níveis adequados de tensoativo faz com que estas moléculas atuem formando micelas, ou seja, as partículas ficam envoltas de moléculas de tensoativos, impedindo que as mesmas se aglomerem umas com as outras (Figura 37-b). Outro fator que pode ser evidenciado em função da adição em excesso de um tensoativo é a reaglomeração das partículas (Figura 37-c). Geralmente, as concentrações utilizadas são na faixa de 0,01% a 0,1% (BUMILLER, 2007).

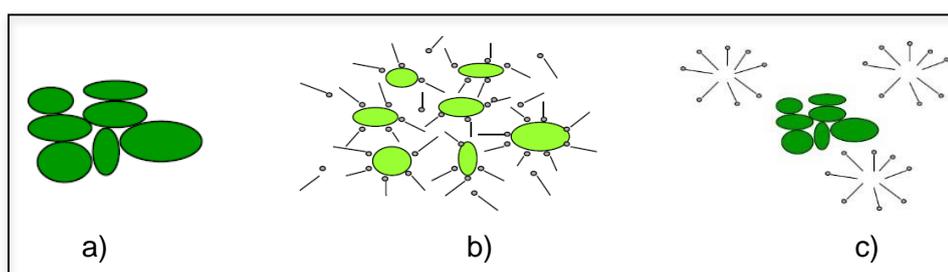


Figura 37. Representação do comportamento das partículas em solução contendo tensoativo, onde: a) partículas aglomeradas; b) partículas em suspensão contendo concentração adequada de tensoativo e, c) partículas reaglomeradas em solução contendo excesso de tensoativo (Retirado de BUMILLER, 2007).

Segundo Bumiller (2007), os tensoativos mais utilizados na análise de distribuição granulométrica com meio de dispersão líquido são: Igepal CA630®, Triton X-100, Span® 80 (oleato de sorbitano 80) e, Tween® 80 e Tween® 20 (polissorbato 80 e polissorbato 20), nesta ordem de frequência. Embora todos estes tensoativos sejam classificados como não iônicos, em um estudo recente foram testadas diferentes soluções contendo tensoativos desta classe (entre eles estavam o polissorbato 80 e triton X-100), para análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA diazepam. Os resultados mostraram que embora todos os tensoativos testados pertencessem a mesma classe (não iônicos), existe uma variação considerável no que diz respeito a capacidade de desaglomeração e

estabilidade das suspensões durante a análise utilizando a referida técnica para este IFA (BONIATTI, 2011).

Quando partículas muito pequenas estão suspensas em um meio líquido, elas se movimentam de forma rápida e aleatória. Esse movimento acontece em decorrência do impacto das moléculas do líquido contra a partícula (movimento Browniano). A menos que exista força de repulsão entre as partículas, haverá colisão entre elas e, se esta colisão resultar em tempo suficiente para que as forças de atração (Van der Waals) atuem e sejam suficientemente fortes para manter as partículas unidas, poderá ser iniciado o processo de formação de flocos. Flocos são as partículas primárias unidas apenas pelas forças de Van der Waals e que se caracterizam por partículas que se movimentam em conjunto. Posteriormente a etapa de formação de flocos pode ocorrer o surgimento de agregados, caracterizados pela ligação das partículas por outras forças de atração (como ligações de hidrogênio), que são mais coesas e resistentes que os flocos (BUMILLER, 2007; DALTIM, 2011).

Desta forma, espera-se que a função do tensoativo na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser seja superar as forças de atração das partículas, separando-as e promovendo a formação de uma suspensão homogênea e estável (BUMILLER, 2007).

A estabilidade das suspensões contra a floculação (e possível agregação) pode ser obtida por dois mecanismos básicos: estabilização eletrostática ou estabilização estérica. Na primeira, forma-se uma nuvem de íons ao redor de cada partícula, conhecida como dupla camada elétrica. À medida que a partícula se movimenta, a nuvem de íons é arrastada junto com ela. A repulsão eletrostática entre essas nuvens tende a manter as partículas afastadas (Figura 38). É desta forma que atuam os tensoativos aniônicos e catiônicos (DALTIM, 2011).

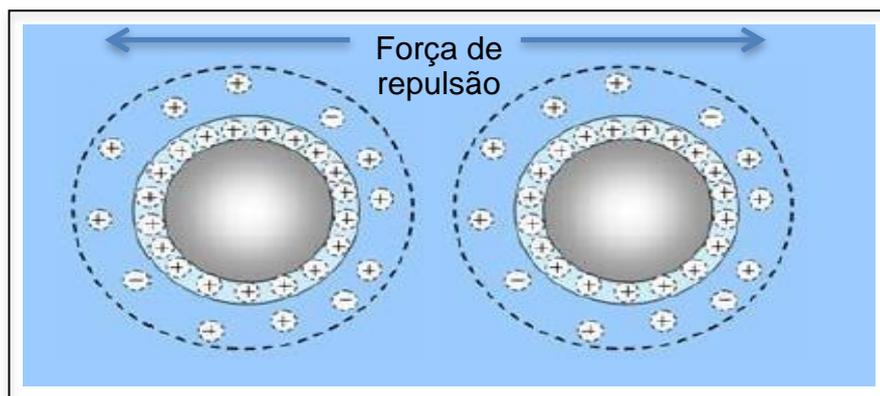


Figura 38. Representação da estabilização eletrostática de suspensão.

Na estabilização estérica, ocorre a adsorção de moléculas sobre a superfície das partículas, formando uma espécie de capa protetora ao redor delas (Figura 39). Assim, as partículas, são mecanicamente impedidas de se aproximarem suficientemente para que entrem no campo de atuação das forças de Van der Waals, evitando assim a floculação. Este mecanismo de ação é típico dos tensoativos não iônicos (DALVIN, 2011).

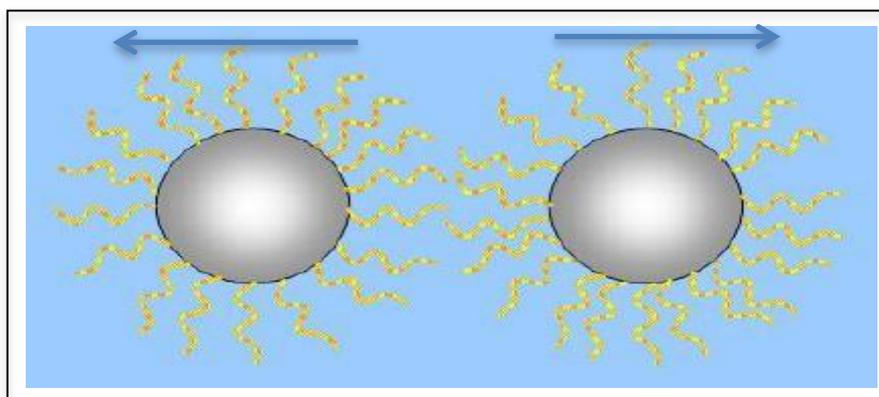


Figura 39. Representação da estabilização estérica de suspensão.

Portanto, fica claro que para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, é necessária a avaliação do tensoativo que melhor irá promover a formação de uma suspensão homogênea e estável, de forma que se mantenha as partículas primárias e minimize as colisões das partículas. Além disso, deve-se dar atenção as características da molécula do insumo farmacêutico que se pretende desenvolver a metodologia, uma vez que já foi mostrado que existe a possibilidade de flutuações na análise e no resultado quando se utiliza diferentes tensoativos, inclusive da mesma classe.

1.3.2.2 Preparo da amostra

A técnica de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser é adequada para uma grande variedade de amostras, mas para que forneça resultados confiáveis e seguros é essencial desenvolver um procedimento de preparo da amostra robusto, com etapas avaliadas previamente e devidamente padronizadas (VIRDEN, 2010). Entretanto, para amostras *spray*, aerossol e que tenham a presença de bolhas, o preparo da amostra deve ser evitado ao máximo, principalmente em função da dificuldade de estabelecer procedimentos que não modifiquem as características deste tipo de amostra (USP 35, 2012). Para tais amostras, já existem no mercado equipamentos adequados para estes tipos de análise e que não necessitam um preparo prévio da amostra (VIRDEN, 2010).

1.4 Efavirenz

O efavirenz ((4S)-6-cloro-4-(2-ciclopropiletinil)-4-(trifluorometil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona) apresenta fórmula molecular $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ (Figura 40), massa molar de 315,675 g/mol e ponto de fusão entre 139-141°C (polimorfo “I” segundo WO99/64405). Este fármaco possui aparência de pó cristalino branco ou quase branco, é praticamente insolúvel em água, mas solúvel em metanol e diclorometano (F.BRAS.V, 2010b). Seu coeficiente de partição octanol/água é igual a $2,51 \times 10^5$ e possui solubilidade aquosa de 9,2 µg/mL a 25°C (DE CLERCQ, 2004). É bem absorvido no trato gastrointestinal e atinge concentrações plasmáticas máximas ($C_{máx}$) dentro de 3-5 horas. A meia-vida de eliminação varia de 52 a 76 horas após dose única. A posologia recomendada do efavirenz para adultos é de 600mg e apresenta ligação a proteínas de 99,5 a 99,75% (EMA, 2012).

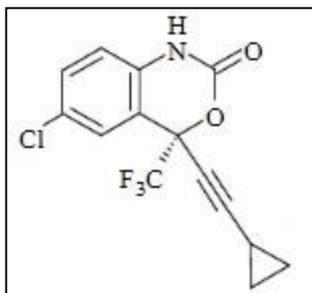


Figura 40. Fórmula estrutural do fármaco efavirenz (F.BRAS.V, 2010b).

De acordo com as características básicas para a biodisponibilidade de um fármaco (solubilidade e permeabilidade pelo trato gastrointestinal), o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS, do inglês *Biopharmaceutical Classification System*) foi proposto em 1995 por Amidon e colaboradores. O fármaco é considerado altamente solúvel se a dose deste for solúvel em um volume de tampão (de pH entre 1,0 e 8,0) menor ou igual a 250 mL. Já a alta permeabilidade ocorre quando a biodisponibilidade absoluta é maior que 90% (AMIDON *et al.*, 1995). Esses fatores são fundamentais no processo de absorção e, conseqüentemente, na biodisponibilidade dos fármacos, uma vez que a velocidade de dissolução é proporcional à solubilidade. Portanto, a velocidade de dissolução é fundamental para que haja absorção e para que as concentrações efetivas do fármaco atinjam níveis necessários. Já a permeabilidade é fundamental no processo de absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco. (ANSEL *et al.*, 2007).

O efavirenz é um fármaco pertencente à classe II do SCB, portanto é considerado como pouco hidrossolúvel e altamente permeável.

Para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, a informação de que este fármaco apresenta baixa solubilidade em água é fundamental para o direcionamento de qual solvente será utilizado em uma análise no módulo líquido. Ou seja, a princípio é possível a utilização de água como meio de dispersão e, provavelmente, deve haver necessidade de utilização de um tensoativo para facilitar a molhabilidade e a adequada dispersão do mesmo.

Já foi relatado na literatura que para a maioria das formas farmacêuticas disponíveis do efavirenz, como por exemplo, cápsulas de 200mg e comprimidos revestidos de 600mg, a dissolução do medicamento (e a conseqüente biodisponibilidade) está relacionada com a distribuição granulométrica do IFA (WHO, 2011). Este fato indica que é necessário realizar uma caracterização robusta da

distribuição granulométrica do IFA efavirenz para garantir que os medicamentos produzidos apresentem adequada atividade terapêutica.

1.5 Validação - Normas e compêndios oficiais que regulamentam a técnica de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser

A validação de um procedimento analítico é estabelecida por estudos laboratoriais devidamente documentados, cujas características do processo devem atender os requisitos para as aplicações analíticas a que se destinam (SUN et al., 2010).

Na indústria farmacêutica, a validação de métodos analíticos é bem estabelecida e documentada. Os métodos de validação são publicados por organizações como: ICH, FDA, USP (bem como as demais farmacopéias de outros países) e a ISO (BELL et al., 1999).

De acordo com o ICH, os laboratórios de desenvolvimento analítico devem investigar parâmetros de: acurácia, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação e linearidade para validar suas metodologias. Porém, a validação de distribuição granulométrica não está incluída nas diretrizes do ICH. Além disso, a aplicabilidade destes parâmetros para a referida técnica geralmente não são válidos na sua totalidade (BELL et al., 1999). Os parâmetros para validação serão brevemente abordados neste trabalho, a fim de ilustrar como a técnica possui dificuldades para se enquadrar na terminologia proposta pelo ICH para os métodos analíticos.

- Acurácia: para análise de distribuição granulométrica este parâmetro passa a ser questionável. Diferentemente de uma análise de HPLC (do inglês, *High Performance Liquid Chromatograph*), onde obtém-se uma resposta certa, a análise de uma amostra está susceptível a variar de acordo com diversas situações, por exemplo: aglomerados, número ou volume de análises, entre outras. Embora a calibração não faça parte da validação do método, é uma prática comum nos procedimentos analíticos e o conceito de acurácia pode ser melhor aplicado a esta ação, pois trata-se da análise de um padrão físico

rastreável, ou seja, uma amostra com distribuição granulométrica estabelecida (BELL et al., 1999).

- Precisão:
 - Repetibilidade: é um dos parâmetros mais utilizados e avaliados para as análises de distribuição granulométrica. A ISO 13320, que trata de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, direciona basicamente a validação do método através da verificação de parâmetros estabelecidos para avaliação da repetibilidade.
 - Precisão intermediária: a análise de resultados obtidos dentro do mesmo laboratório com equipamentos diferentes e/ou analistas diferentes. Embora já existam alguns estudos mostrando que os resultados obtidos por diferentes equipamentos com o mesmo princípio sejam similares, é passível a visualização de diferentes tipos de dispersão, ou seja, diferentes distribuições.
 - Reprodutibilidade: este parâmetro indica a precisão entre laboratórios, e a sua avaliação é apropriada quando há transferência de metodologia.
- Especificidade: Este parâmetro também é bastante questionável para distribuição granulométrica e a discussão é basicamente semelhante ao parâmetro de acurácia. Uma vez que o método estabelecido para a análise de uma determinada amostra é o mais adequado, este fato já determinaria a especificidade para a análise de distribuição granulométrica.
- Limite de detecção: este é outro parâmetro que não é comumente utilizado para distribuição granulométrica, pois o termo não é considerado muito adequado para esta análise. O termo que melhor se encaixa neste sentido seria “faixa”, pois é muito difícil diferenciar detecção e quantificação nesta técnica. Um limite de detecção aproximado pode ser estimado pelas especificações do equipamento.
- Limite de quantificação: mais um parâmetro onde o termo não é usualmente aplicado para a análise de distribuição granulométrica, entretanto preconiza-se apenas que a distribuição granulométrica da amostra esteja dentro do intervalo de leitura do equipamento. Geralmente, para insumos farmacêuticos isto não é um problema pois, grande parte dos equipamentos possui faixa de 20nm a 2000 μ m.

- Linearidade: na análise de distribuição granulométrica, a falta de linearidade pode ser esperada para amostras heterogêneas, por exemplo. Além disso, a concentração, a massa e outros fatores utilizados na análise de uma determinada amostra também não podem influenciar no resultado da distribuição.
- Faixa: deve ser adequada para alcançar toda a faixa de distribuição granulométrica da amostra. Idealmente, este parâmetro deve ser avaliado previamente por uma análise microscópica, o que fornecerá uma ideia de qual faixa de distribuição tal amostra necessitará para a sua medição. Novamente, durante e após o desenvolvimento dos métodos, a análise microscópica deve servir de suporte para correlacionar o resultado obtido por espalhamento de luz.
- Robustez: indica a capacidade do método em manter seus resultados com pequenas alterações rotineiras, como por exemplo: duração da medida, massa, preparo da amostra, entre outros fatores geralmente avaliados no desenvolvimento do método (BELL et al., 1999; MALVERN, 2001; PAPINI, 2003; SMITH-WARD et al., 2005, SUN et al., 2010).

Como é possível evidenciar, devido às características específicas da análise granulométrica por espalhamento de luz laser, não é possível validar esta técnica da mesma forma que é validado outros ensaios analíticos descritos no ICH e nos métodos gerais de diferentes farmacopeias. Desta maneira, para a validação desta técnica, utiliza-se normalmente a ISO 13320, por ela tratar especificamente da técnica de espalhamento de luz laser. Os parâmetros mais enfatizados por ela são a precisão (repetibilidade) e robustez. Por consequência, outros parâmetros utilizados para validação, como especificidade, linearidade, faixa, acurácia, limite de quantificação e detecção normalmente não são utilizados para a validação de métodos de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser (SUN et al., 2010).

A ISO 13320 traz uma grande gama de informações para auxiliar o desenvolvimento adequado de metodologias, cujo sucesso depende de uma rigorosa análise de diversos fatores que podem influenciar os resultados (VIRDEN, 2010).

Os critérios de aceitação são limites numéricos, faixas, ou outra medida adequada para a aceitação dos resultados analíticos (ICH, 2000; SUN et al., 2010)

Segundo a ISO 13320 (1999) a repetibilidade deve ser comprovada realizando a análise de 5 amostragens de uma mesma amostra e os resultados próximos aos cortes d_{10} , d_{50} e d_{90} ¹² devem apresentar coeficientes de variação menor ou igual a 3%, 5% e 3%, respectivamente. Quando os tamanhos de partículas forem menores do que 10 μ m, os limites estipulados do coeficiente de variação dobram.

No trabalho de SHEKUMOV et al. (2007) é apresentada uma tabela relatando os compêndios farmacopêicos e as normas ISO que mencionam técnicas para a análise de distribuição granulométrica, detalhando definições, características técnicas, princípios dos equipamentos mais comuns, entre outros. Através deste trabalho, os autores mencionam o quanto pequena está à descrição detalhada da técnica em compêndios oficiais até o ano de publicação do referido estudo.

Especificamente para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, segundo a publicação de SHEKUMOV et al. (2007), havia descrição apenas na Farmacopeia Americana e na ISO 13320 (1999). Atualmente, a Farmacopeia Europeia (EP 6.0, 2008) e a Farmacopeia Britânica também possuem um tópico dedicado a técnica, porém como mencionado anteriormente, todas estas normas referenciam a ISO 13320.

O descritivo apresentado entre as farmacopeias é bastante similar e, quando comparado com a ISO 13320, ele apenas apresenta uma diferença no parâmetro repetibilidade: para estes compêndios, os resultados próximos aos cortes de d_{10} , d_{50} e d_{90} apresentam limites de 15%, 10% e 15% para o coeficiente de variação, respectivamente. Da mesma maneira que recomendado pela ISO, para partículas abaixo de 10 μ m, estes valores dobram.

¹² d_{10} : é o tamanho em micra das partículas até 10% da distribuição; d_{50} : é o tamanho em micra das partículas até 50% da distribuição e; d_{90} : é o tamanho em micra das partículas até 90% da distribuição (MALVERN, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e validar a metodologia para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do insumo farmacêutico efavirenz.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o preparo de amostra mais adequado para a análise de distribuição granulométrica do IFA efavirenz, discriminando os parâmetros antecedentes a análise;
- Determinar os parâmetros intrínsecos ao equipamento (Mastersizer 2000S – Malvern) para a análise do IFA efavirenz;
- Verificar as condições de análise, garantindo que o método não interfere nas características iniciais da amostra e reportar resultados seguros e coerentes com a realidade;
- Validar a metodologia desenvolvida;
- Determinar o índice de refração da partícula de efavirenz pela metodologia descrita por SAVEYN, et al. (2002) e MALVERN (2002).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Insumos farmacêuticos ativos, reagentes e tensoativo

Para realização deste trabalho utilizaram-se amostras de efavirenz de três fabricantes diferentes. As matérias-primas, bem como a denominação utilizada para cada uma delas, encontram-se relacionadas na Tabela 3.

Tabela 3. Relação das amostras de efavirenz e denominações utilizadas neste trabalho.

| Amostra | Fabricante | Lote | Denominação |
|----------------|-------------------|-------------|--------------------|
| Efavirenz | A | 1 | EFZ-A1 |
| Efavirenz | A | 2 | EFZ-A2 |
| Efavirenz | A | 3 | EFZ-A3 |
| Efavirenz | B | 1 | EFZ-B1 |
| Efavirenz | C | 2 | EFZ-C1 |

Para avaliação da velocidade de dissolução das amostras, que foi realizada por espectrofotometria ultravioleta durante a etapa de desenvolvimento da análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, necessitou-se fazer curvas de calibração. Para tal utilizou-se um padrão secundário de efavirenz (registro de Farmanguinhos: 60327) e acetonitrila grau espectroscópico UV/HPLC (Vetec – lote: 1108475)

Os tensoativos utilizados foram: polissorbato 20 (Vetec – lote: 0908227), 40 (Sigma Aldrich – lote: MKBC7880), 60 (Sigma Aldrich – lote: MKBG3177V), 80 (Vetec – lote: 0905325) e 85 (Sigma Aldrich – lote: 085K0056V), lauril sulfato de sódio (Vetec – lote: 0902038), cloreto de cetiltrimetil amônio (Sigma Aldrich – lote: 584785), Triton X-100 (Vetec – lote: 0907388) e Igepal CA 630 (Sigma Aldrich – lote: MKBG9102V).

Para a realização dos ensaios de índice de refração foram utilizados os

seguintes solventes: acetonitrila grau espectroscópico UV/HPLC (Vetec – lote: 1108475), álcool etílico 96% PA ACS (Vetec – lote: 1202282), metanol (J.T.Baker – lote: K08C68), diclorometano (Tedia – lote: 1109397R), álcool isopropílico PA (Vetec – lote: 0506346), clorofórmio PA (Vetec – lote: 1003933), acetona PA (Vetec – lote: 0903277) e tolueno PA (Vetec – lote: 0904160).

3.1.2 Equipamentos e acessórios

As pesagens foram realizadas em balança semi-analítica AL 204 (Mettler Toledo).

Um banho de ultrassom (Unique® Modelo: USC – 2800A) foi utilizado para auxiliar no preparo de soluções e suspensões.

As análises de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser foram realizadas no equipamento MasterSizer 2000 (Malvern Instruments), utilizando o módulo de dispersão em líquido Hydro 2000S (Malvern Instruments) e a faixa de leitura de 0,02 a 2000 μ m.

As microfotografias para a caracterização da morfologia e dimensão das partículas dos insumos farmacêuticos de efavirenz foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (Jeol, Modelo: JSM6390LV), utilizando porta amostra metálico e fita dupla face (3M, Modelo: 12mm x 30m). Para o preparo da amostra (metalização), utilizou-se um metalizador Denton Vacuum Desck IV. Também foram obtidas imagens por microscopia ótica para a avaliação da dispersão do efavirenz em diferentes meios. Para tal, utilizou-se um microscópio ótico da marca Olympus, modelo BX50.

O índice de refração e o pH das soluções preparadas neste trabalho foram determinadas utilizando um refratômetro de Abbe (Atago RX 5000 α -plus), e potenciômetro (pH Meter 780-Metrohm), respectivamente.

Para a avaliação da velocidade de dissolução do efavirenz durante o desenvolvimento da análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, utilizou-se seringa descartável de 10 mL (BDPlastipack™) e membranas filtrantes (JetBiofilm®, Modelo: FPE-204-030; 30mm, membrana 0,22 μ m) para

obtenção das soluções e um espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu, Modelo: UV1800) para a leitura das mesmas.

Todas as vidrarias e os micropipetadores utilizados neste trabalho foram devidamente calibrados.

3.2 Métodos

3.2.1 Amostras e denominações

A Tabela 4 apresenta as amostras utilizadas em cada etapa/ensaio deste trabalho.

Tabela 4. Relação das amostras utilizadas em cada etapa/ensaio deste trabalho.

| Etapa/Ensaio | Amostra |
|---|----------------|
| Microscopia ótica e Microscopia eletrônica de varredura | EFZ-A1 |
| | EFZ-A2 |
| | EFZ-A3 |
| | EFZ-B1 |
| | EFZ-C1 |
| Desenvolvimento da metodologia | EFZ-A1 |
| | EFZ-A2 |
| Velocidade de dissolução durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser - efavirenz | EFZ-A1 |
| | EFZ-B1 |
| | EFZ-C1 |
| Índice de refração da partícula - efavirenz | EFZ-A1 |
| | EFZ-A2 |
| Validação da metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz | EFZ-A3 |
| | EFZ-B1 |
| | EFZ-C1 |

3.2.2 Homogeneização das amostras

Antecedendo cada análise realizada neste estudo, os frascos foram submetidos a homogeneização manual através de 10 movimentos vertical/horizontal e 10 movimentos de rolagem sobre a bancada. Este procedimento foi padronizado a fim de minimizar segregação das partículas e aumentar a homogeneidade da amostra a ser coletada. A Figura 41 exemplifica os movimentos citados.



Figura 41. Movimentos de homogeneização da amostra: a) vertical/horizontal e b) rolagem sobre a bancada.

3.2.3 Microscopia

3.2.3.1 Microscopia ótica (MO)

A MO foi utilizada avaliação prévia da dispersão das amostras frente aos diferentes tensoativos testados no decorrer do estudo. Além disso, utilizou-se a MO para a visualização das dimensões das partículas e avaliação da dispersão em óleo mineral.

Primeiramente realizou-se a higienização das lâminas de vidro com álcool 70%. Em seguida, na parte posterior da lâmina de vidro desenharam-se três círculos e dividiram-se os mesmos em quatro quadrantes denominados: CSD – canto superior direito, CSE – canto superior esquerdo, CID – canto inferior direito e CIE – canto inferior esquerdo. A Figura 42 exemplifica a lâmina utilizada para as análises das suspensões por MO.

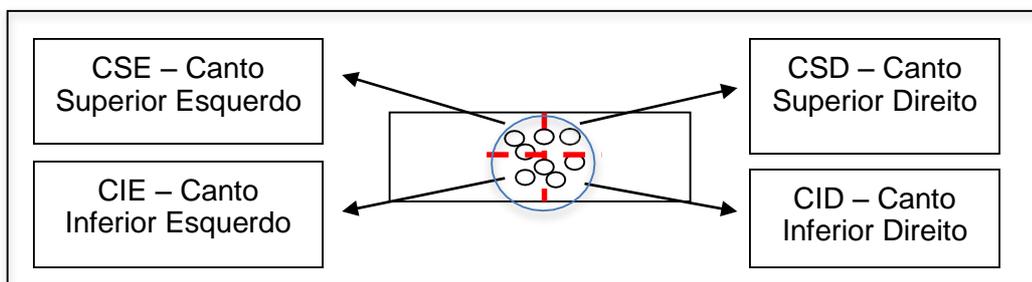


Figura 42. Representação esquemática da lâmina utilizada durante as análises das dispersões.

Para cada amostra, pesou-se, aproximadamente, 50mg em um béquer de vidro. Em seguida, com auxílio de um micropipetador adicionou-se 10mL da solução contendo o tensoativo. Para auxiliar na desaglomeração, as suspensões foram submetidas a banho de ultrassom por um minuto. Posteriormente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, foi coletada uma alíquota da suspensão com o cuidado necessário para que no momento da coleta, uma amostra representativa do fundo, do meio e da superfície da suspensão fosse obtida. Para evitar que partículas de diferentes dimensões fossem desprezadas no ato de depositar uma gota na lâmina de vidro para análise, pequenas batidas foram realizadas sobre uma superfície com a ponta da pipeta Pasteur. Foram analisadas três gotas de cada amostra para cada solução tensoativa estudada, objetivando obter uma análise representativa.

A Figura 43 exemplifica o procedimento utilizado para visualização das lâminas contendo as suspensões (com tensoativos), por microscopia ótica.

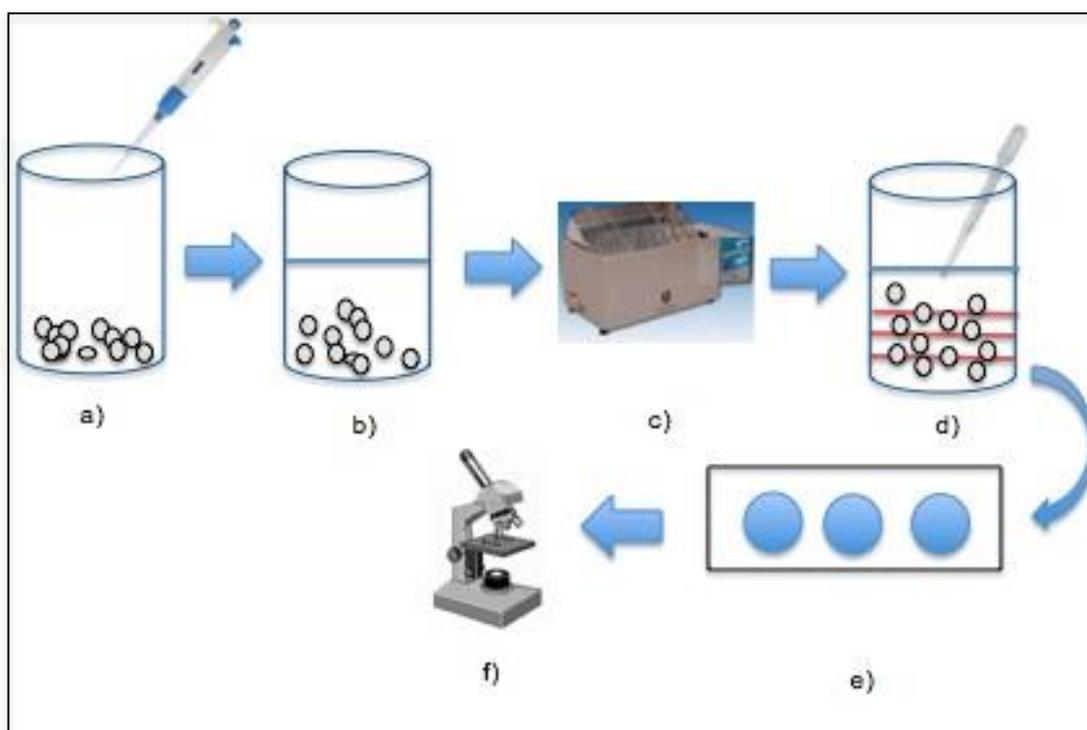


Figura 43. Esquema do procedimento de preparo das lâminas para análise por microscopia ótica (soluções contendo tensoativo): a) adição da solução tensoativa em béquer contendo a amostra (pó); b) suspensão (alguns aglomerados presentes); c) banho de ultrassom; d) coleta da amostra nos três estágios, conforme indicação: fundo, meio e superfície; e) lâmina de vidro com amostra em suspensão para análise; f) análise da lâmina de vidro em microscópio ótico.

Além disso, o óleo mineral, foi utilizado na MO com o intuito de fornecer imagens de caráter comparativo a cada uma das soluções tensoativas testadas. Entretanto, se procedimento de preparo das amostras basearam-se apenas na adição do óleo mineral sobre a amostra (pó) e em seguida leva agitação manual com uma espátula. As alíquotas foram retiradas com auxílio de uma pipeta Pasteur. Todas as lâminas preparadas foram submetidas a análise no microscópio ótico, utilizando as ampliações de 500x e 1000x (imersão).

3.2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Com o intuito de obter imagens com melhor resolução e nitidez acerca das dimensões e morfologia das partículas, as amostras de efavirenz foram analisadas por MEV.

A amostra foi adicionada diretamente sobre suporte metálico contendo fita adesiva dupla face. Em seguida, a amostra foi submetida a metalização com ouro (tempo de metalização: 16 minutos e fluxo de argônio contínuo a 10mA) para tornar a superfície condutora de elétrons. Posteriormente, os suportes já metalizados foram acondicionados no porta amostra para visualização microscópica. Este procedimento pode ser melhor visualizado na Figura 44.

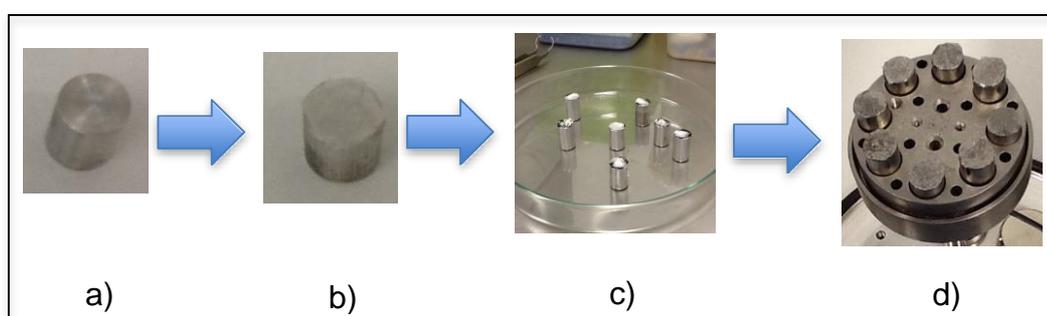


Figura 44. a) *Stub*; b) *Stub* com a fita dupla face – pronto para receber a amostra; c) *Stub's* contendo a amostra antes da metalização com ouro e, d) *Stub's* metalizadoa no suporte do metalizador – prontos para serem analisados.

Com o intuito de obter imagens representativas de toda a área do *stub*, dividiu-se os mesmos em quatro quadrantes denominados: CSD – canto superior direito, CSE – canto superior esquerdo, CID – canto inferior direito e CIE – canto inferior esquerdo. A Figura 45 exemplifica esta metodologia de análise.

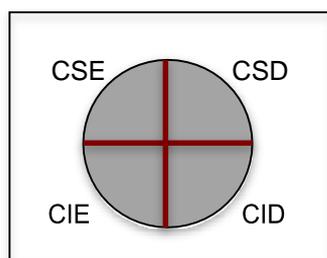


Figura 45. Representação esquemática da divisão dos *stub's* em 4 quadrantes para a obtenção das imagens.

Para cada um dos quadrantes obteve-se imagens nas magnificações de: 200x, 2000x, 4000x, 8000x e 15000x.

3.2.4 Distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser

3.2.4.1 Amostras

Para a realização do desenvolvimento da metodologia do IFA efavirenz utilizaram-se duas amostras de lotes diferentes de um mesmo fabricante (A1 e A2).

Para a determinação da quantidade de amostra a ser analisada, levou-se em consideração a massa que forneceu uma obscuração adequada (entre 10 e 35%) para a realização da análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

3.2.4.2 Preparo da amostra e seleção de parâmetros externos

3.2.4.2.1 Pasta

Este método de preparo de amostra consistiu em pesar a amostra e, em seguida, adicionar uma ou duas gotas de solução tensoativa. Posteriormente, com auxílio de uma espátula, homogeneizou-se até a obtenção de uma pasta. Segundo a ISO 13320 (2009), a amostra deve ficar com aspecto de um “creme dental”.

Posteriormente, a pasta foi adicionada aos poucos na cuba do equipamento para a realização da análise.

3.2.4.2.2 Suspensão

Para este método de preparo, adicionou-se 10mL de solução tensoativa diretamente ao pó previamente pesado. Em seguida procederam-se movimentos de agitação manual do béquer de forma extremamente branda.

O uso de parâmetros externos como, por exemplo, a inserção da amostra em banho de ultrassom e/ou agitação antes da análise granulométrica, podem ser utilizados para auxiliar na dispersão e formação de uma suspensão adequada e estável. Em função disso, avaliou-se o impacto da inserção prévia da amostra (suspensão) em banho de ultrassom externo por 1 minuto.

Para a realização das análises, a totalidade da suspensão preparada foi adicionada na cuba do equipamento.

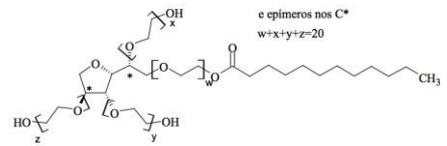
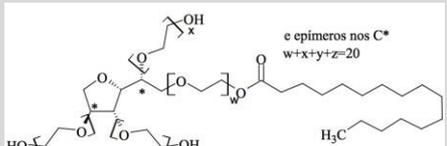
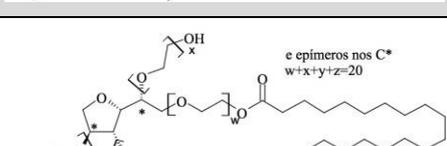
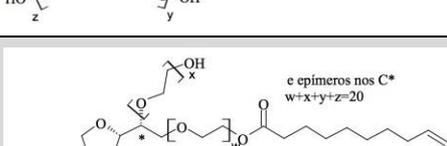
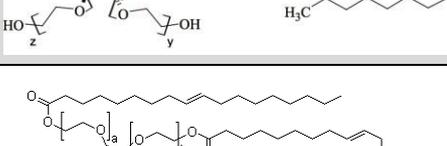
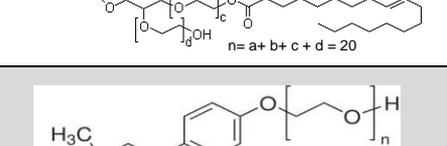
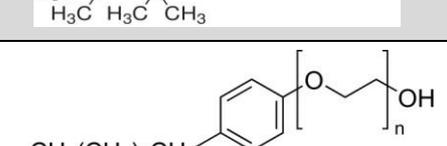
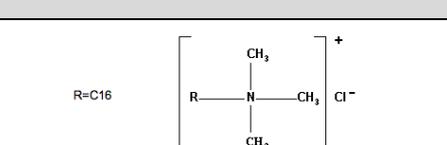
3.2.4.2.3 Soluções tensoativas

Como citado anteriormente, para a realização de uma adequada análise granulométrica por espalhamento de luz laser em líquido, as partículas devem

permanecer em uma suspensão estável. Neste contexto, para o desenvolvimento da metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz, avaliou-se o uso de soluções contendo diferentes tensoativos, de diferentes classes, conforme descrito na Tabela 5.

Para a seleção da solução tensoativa, a concentração utilizada para a realização dos experimentos foi 0,02% (p/v). Para os tensoativos que apresentaram comportamento adequado frente a dispersão e desaglomeração das partículas, as concentrações 0,01% (p/v) e 0,05% (p/v) também foram avaliadas.

Tabela 5. Tensoativos avaliados durante o desenvolvimento da metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do efavirenz.

| Tensoativo | Classe | Estrutura química | Fórmula estrutural | Referência |
|---------------------------------|------------|--|--------------------------------------|----------------------------------|
| Polissorbato 20 | Não iônico |  | $C_{58}H_{114}O_{26}$ | Retirado de F.BRAS. V (2011) |
| Polissorbato 40 | Não iônico |  | $C_{62}H_{122}O_{26}$ | Retirado de F.BRAS. V (2011) |
| Polissorbato 60 | Não iônico |  | $C_{64}H_{126}O_{26}$ | Retirado de F.BRAS. V (2011) |
| Polissorbato 80 | Não iônico |  | $C_{64}H_{124}O_{26}$ | Retirado de F.BRAS. V (2011) |
| Polissorbato 85 | Não iônico |  | $C_{100}H_{186}O_{26}$ | Retirado de Sigma Aldrich (2012) |
| Triton X-100 | Não iônico |  | $C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ | Retirado de Sigma Aldrich (2012) |
| Igepal® CA 360 | Não iônico |  | $(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$ | Retirado de Sigma Aldrich (2012) |
| Lauril Sulfato de sódio | Aniônico |  | $C_{12}H_{25}Na^+O_4S$ | Retirado de F.BRAS. V (2011) |
| Cloreto de cetiltrimetil amônio | Catiônico |  | $CH_3(CH_2)_{14}CH_2N^+(CH_3)_3Cl^-$ | Retirado de Sigma Aldrich (2012) |

3.2.4.2.3.1 Análise do índice de refração – soluções tensoativas

Cada uma das soluções contendo os diferentes tensoativos testados foi submetida à análise de índice de refração, utilizando um refratômetro de Abbé (Atago® Modelo RXi 5000 Plus) com temperatura estabilizada ($20,0 \pm 0,01^{\circ}\text{C}$), faixa de medição de 1,32422 a 1,58000 e precisão de 0,00001 unidades. As amostras foram analisadas em triplicata e delas foi extraída uma média. Para evitar possíveis contaminações e interferências nos resultados, efetuou-se uma medição com água destilada entre as leituras das amostras.

3.2.4.2.3.2 Análise de pH – soluções tensoativas

O pH das soluções contendo tensoativo foi medido através da inserção do eletrodo do peagâmetro (devidamente calibrado) em cada uma das soluções preparadas. Com o intuito de garantir a qualidade da análise, entre cada leitura procedeu-se a limpeza do eletrodo com água destilada e, em seguida, a secagem cuidadosa com papel adequado.

3.2.4.3 Seleção de parâmetros do equipamento

3.2.4.3.1 Meio de dispersão

O meio de dispersão presente na cuba do equipamento foi água purificada em temperatura ambiente (25°C).

3.2.4.3.2 Agitação e Ultrassom

O equipamento apresenta a possibilidade de utilização de agitação mecânica e ultrassom, os quais podem auxiliar na dispersão e manutenção de uma suspensão estável. A seleção destes parâmetros baseou-se na variação dos mesmos. As escalas Os níveis de agitação e ultrassom avaliados foram: 25, 50 e 75% (Figura 46).

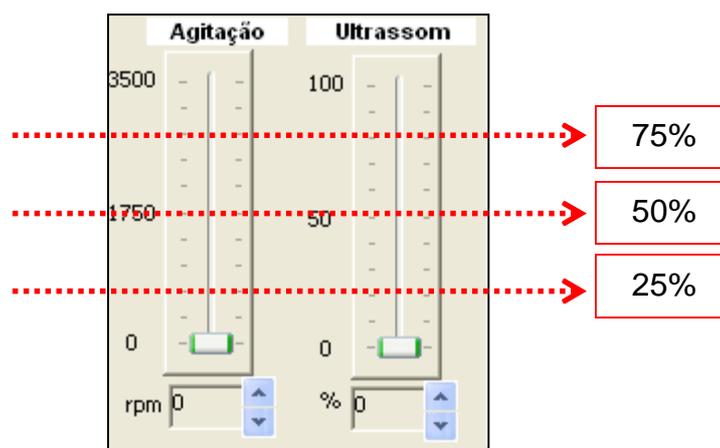


Figura 46. Apresentação esquemática dos níveis de agitação e ultrassom avaliados durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser (Adaptado de Malvern, software 5.54).

Para determinar o melhor nível de agitação e ultrassom, elaborou-se uma matriz com todos os pontos escolhidos, o que gerou nove combinações diferentes (Tabela 5). Com o intuito de facilitar a compilação dos dados, os níveis estudados foram divididos em Grupo 1, Grupo 2 e Grupo 3, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Relação das combinações de agitação e ultrassom analisadas e a divisão das combinações em grupos.

| Variação dos parâmetros de agitação e ultrassom do equipamento | | | |
|---|-----------------------|----------------------|-------|
| Combinação | Agitação (A) (rpm) | Ultrassom (U) (%) | Grupo |
| 1 | 875 (25%) | 25 | 1 |
| 2 | 875 (25%) | 50 | |
| 3 | 875 (25%) | 75 | |
| 4 | 1750 (50%) | 25 | 2 |
| 5 | 1750 (50%) | 50 | |
| 6 | 1750 (50%) | 75 | |
| 7 | 2625 (75%) | 25 | 3 |
| 8 | 2625 (75%) | 50 | |
| 9 | 2625 (75%) | 75 | |

Como ponto de partida para a realização dos testes referentes as combinações de agitação e ultrassom, pesou-se $25 \pm 0,05\text{mg}$ de amostra em balança semi-analítica e em seguida adicionou-se 10mL de solução tensoativa (polissorbato 80 – 0,02% (p/v)) com auxílio de um micropipetador. Posteriormente a suspensão foi submetida a banho de ultrassom por 1 minuto e, na sequência, a suspensão foi totalmente adicionada na cuba do equipamento para a realização da análise. Para esta etapa do desenvolvimento, utilizou-se as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2, as quais foram analisadas em triplicata (3 amostragens) para cada uma das combinações determinadas. Este procedimento pode ser visualizado na Figura 47.

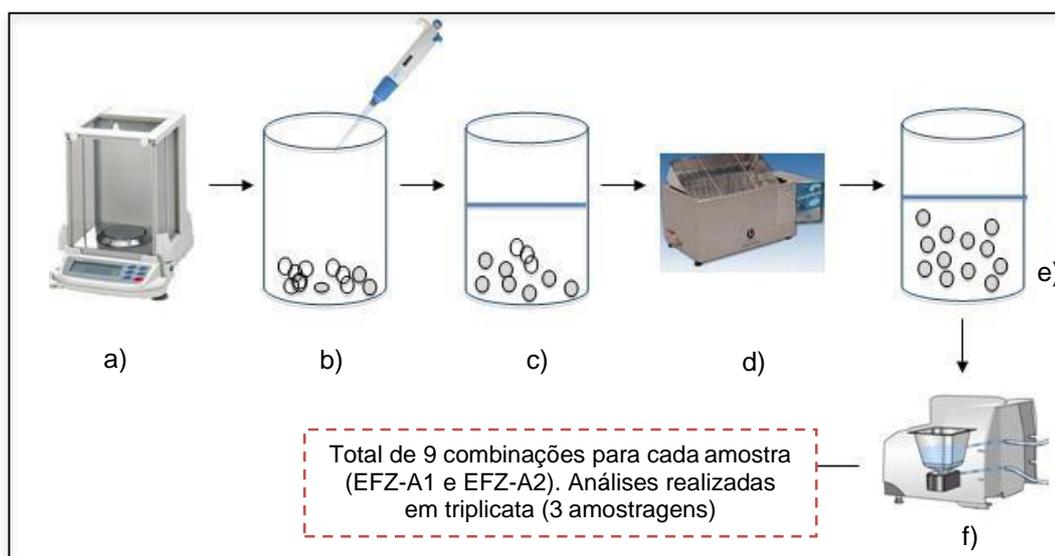


Figura 47. Procedimento utilizado na realização dos experimentos para definir dos níveis de agitação e ultrassom do equipamento Mastersizer 2000 (módulo Hydro2000S), onde: a) pesagem da amostra; b) adição da solução tensoativa (polissorbato 80 – 0,02% (p/v) – 10mL); c) suspensão formada, ainda com alguns aglomerados; d) suspensão submetida a banho de ultrassom por 1 minuto; e) suspensão com as partículas mais dispersas e, f) adição da totalidade da suspensão preparada na cuba do equipamento para análise.

Para insumos farmacêuticos, a literatura é bastante deficitária no que diz respeito ao índice de refração das partículas, requisito fundamental para uso do modelo ótico Mie. Em função disso, utilizou-se o modelo ótico Franhoufer.

Outros parâmetros requeridos pelo *software* foram determinados. No que diz respeito ao material, utilizou-se:

- índice de refração do meio: 1,333 (água purificada);
- índice de refração da partícula e absorção: zero;
- tempo de leitura da amostra e *background*¹: 10 segundos ou 10000 *snaps*²;
- número de leituras: 3, e a partir delas uma média (sem intervalo de tempo entre as leituras).

No que tange os ajustes para a realização dos cálculos através do *software*, utilizou-se:

¹ *Background*: leitura do meio de dispersão contido na cuba do equipamento sem a presença da amostra (MALVERN, 2012).

² *Snaps*: é a medida do padrão de difração das partículas que passam pelo feixe em um tempo específico. Uma medida completa normalmente contém mais de 2000 de *snaps* e cada *snap* dura 2ms (MALVERN, 2012).

- modelo ótico: Fraunhofer;
- *modelo: general pourpose – normal sensitivity*³;
- morfologia das partículas: irregulares.

3.2.4.4 Avaliação do desempenho de diferentes soluções tensoativas na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz

Para a avaliação do desempenho das soluções tensoativas na concentração 0,02% (p/v), realizou-se análise de distribuição granulométrica por LLS em triplicata (3 amostragens) de duas amostras de efavirenz (EFZ-A1 e EFZ-A2) utilizando cada um dos nove tensoativos citados no item 3.2.4.2.3. O acompanhamento de cada amostragem baseou-se na leitura da amostra após a inserção da mesma no equipamento. Os tempos definidos para as leituras foram: 3, 5, 8, 10 e 12 minutos após a adição da amostra no equipamento. Este procedimento visou mapear o comportamento das amostras durante o tempo estipulado, frente cada solução tensoativa testada. Tal ação permitiu visualizar eventos, como dissolução da amostra no interior da cuba do equipamento ou reaglomeração das partículas durante o período de análise. A Figura 48 apresenta o esquema das análises realizadas para a avaliação do desempenho das diferentes soluções tensoativas.

³ *General pourpose – normal sensitivity*: Modelo de leitura utilizado quando não se conhece a distribuição granulométrica da amostra (MALVERN, 2012).

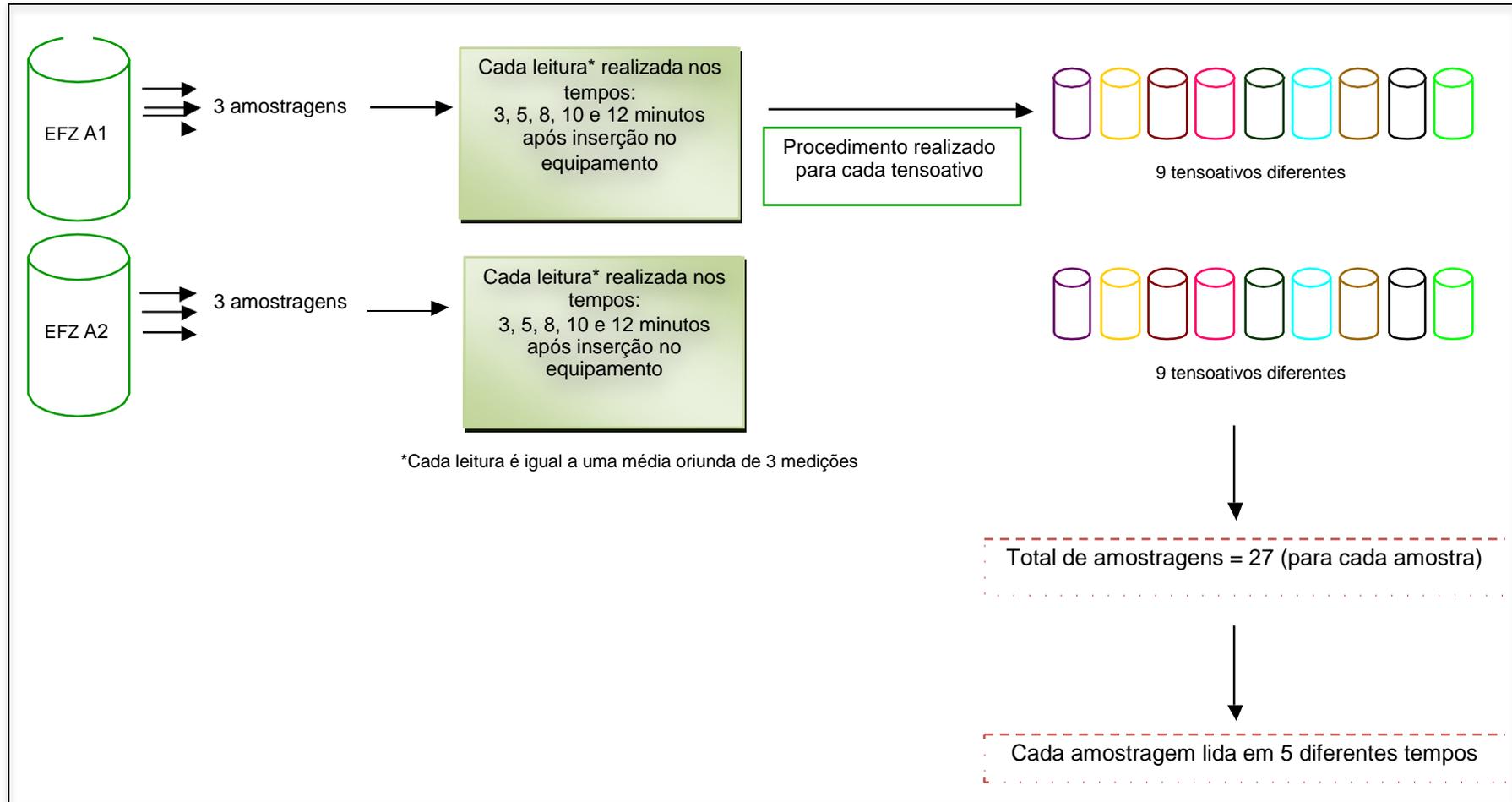


Figura 48. Representação do procedimento de análise das diferentes soluções tensoativas.

3.2.4.5 Avaliação da concentração – Soluções tensoativas

Após a seleção dos tensoativos que apresentaram melhor desempenho na concentração de 0,02% (p/v), procedeu-se a análise da influência da variação da concentração. Para tal, selecionou-se uma concentração abaixo [0,01% (p/v)] e outra acima [0,05% (p/v)] daquela utilizada inicialmente.

3.2.4.6 Avaliação da dissolução do IFA durante o período de análise

Um dos parâmetros fundamentais para a conclusão de uma metodologia adequada é a avaliação da quantidade de massa que está sendo dissolvida durante a análise. O ensaio de determinação da dissolução da amostra durante o período de análise foi realizado após a determinação do preparo da amostra, dos parâmetros e o tempo para análise e preparo da amostra. Para esta mensuração foram retiradas alíquotas de 10mL utilizando-se uma seringa de plástico (10mL). Em seguida, acoplou-se a ela uma membrana filtrante com poro de 0,45 μ m. Esta membrana foi utilizada para filtrar a suspensão retirada do analisador de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser e obter uma solução adequada (livre de partículas) para leitura em espectrofotômetro de ultravioleta ($\lambda=293$ nm) (para a quantificação de IFA dissolvido). Ressalta-se que para cada uma das alíquotas retiradas preparou-se uma nova amostragem, o que visou manter a mesma concentração do IFA nos diferentes tempos avaliados. O ensaio foi realizado com uma amostra de cada fabricante de efavirenz (EFZ-A1, EFZ-B1 e EFZ-C1). A Figura 49 exemplifica o procedimento utilizado para a execução deste ensaio. Analisou-se cada uma das amostras em duplicata e em dias de análise diferentes.

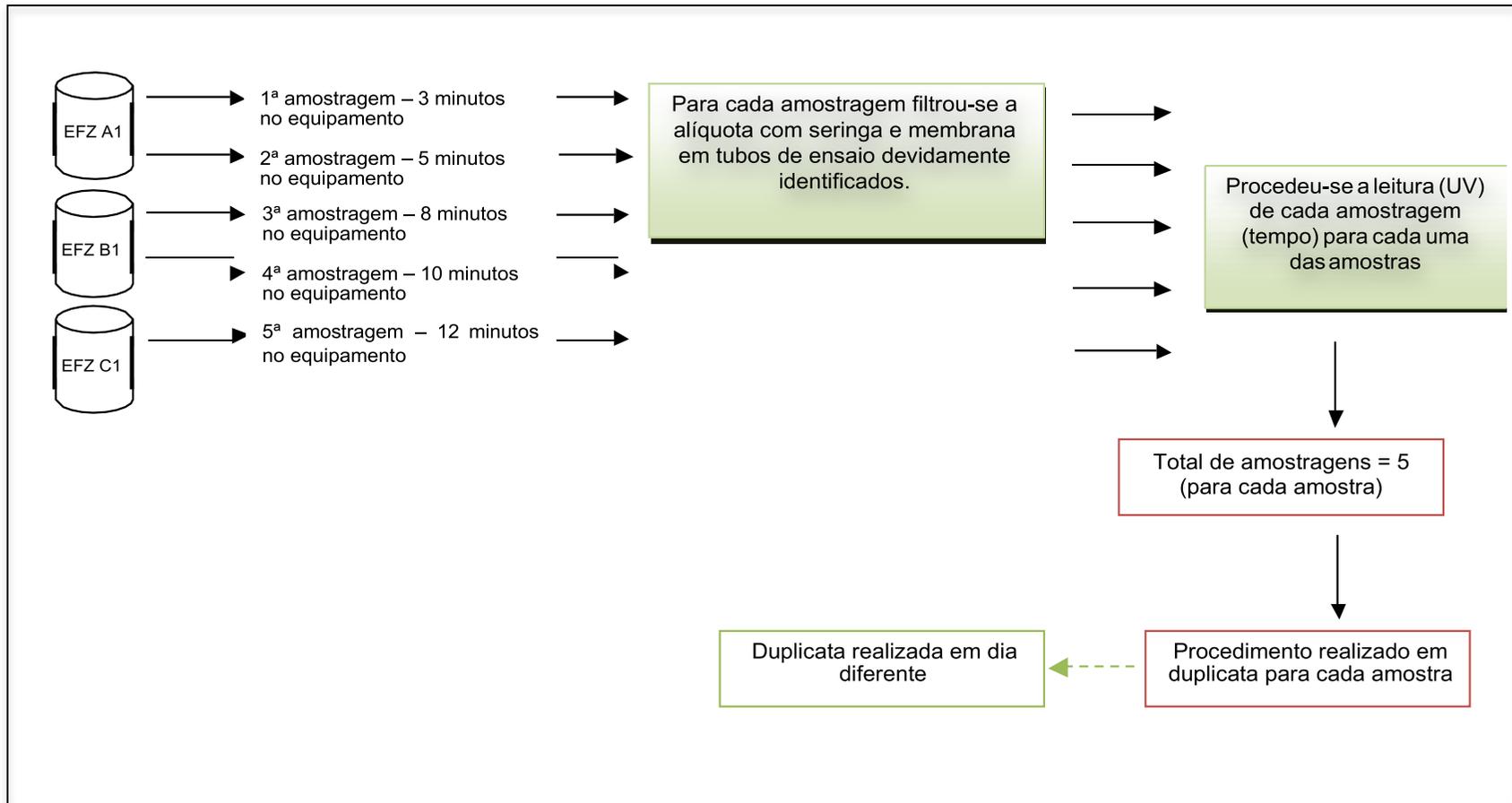


Figura 49. Procedimento realizado para a avaliação da dissolução na cuba do equipamento durante a análise utilizando a metodologia desenvolvida para distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do efavirenz.

Para a quantificação da concentração do IFA dissolvido durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, realizou-se uma curva de calibração com padrão secundário de efavirenz.

Inicialmente preparou-se uma solução, denominada solução mãe, a qual pesou-se uma quantidade de efavirenz definida, adicionou-se 15 mL de acetonitrila (para auxiliar na completa solubilização do efavirenz) e completou-se com a solução tensoativa na concentração 0,0014 g/mL. Esta última solução foi denominada “solução tensoativa diluída”, uma vez que a sua concentração era a presente na cuba do equipamento durante a análise. De posse da solução de partida, procedeu-se 5 diluições de concentrações conhecidas utilizando a “solução tensoativa diluída”. Para a análise destas concentrações preparou-se um branco para cada ponto, exatamente de acordo com o procedimento descrito, a única diferença é que não havia presença de efavirenz. Esta ação visou diminuir a interferência entre a leitura do branco e da amostra preparada.

A leitura das 5 concentrações conhecidas foram realizadas no comprimento de onda de 293 nm, característico da absorção do efavirenz no UV. Por fim, efetuou-se uma regressão linear e a reta resultante foi utilizada para o cálculo da concentração das alíquotas retiradas do equipamento, nos diferentes tempos de análise. Utilizou-se como critério de aceitação $r^2 \leq 0,99$, conforme RE 899 (ANVISA, 2005).

3.2.5 Validação

325.1 Elaboração do protocolo de validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser – dispersão em líquido - Efavirenz

Baseando-se nas características da análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, elaborou-se uma proposta de protocolo de validação para metodologias desenvolvidas por dispersão em líquido.

A divisão do protocolo baseou-se em 7 partes:

- 1) Informações de capa;
- 2) Descrição da amostra/equipamento/método prévio;
- 3) Microscopia;
- 4) Repetibilidade do sistema;
- 5) Repetibilidade da metodologia;
- 6) Precisão intermediária.
- 7) Formulário de validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser - dispersão em líquido.

Toda a etapa de validação seguiu as abordagens previstas no Protocolo e no Formulário de Validação elaborados. Os itens que necessitaram a realização de experimentos estão descritos a seguir.

3.2.5.1 Amostras – validação

Para a etapa de validação da metodologia desenvolvida utilizou-se uma amostra de cada um dos três fabricantes de efavirenz previamente estabelecidos.

As amostras selecionadas (EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1) foram descritas anteriormente na Tabela 3. Cabe ressaltar que a amostra do fabricante A utilizada para a validação foi um lote distinto daqueles utilizados nos ensaios de desenvolvimento da metodologia. Este procedimento foi adotado para que durante

esta etapa, o fabricante A também tivesse uma amostra com características desconhecidas.

3.2.5.2 Análise da repetibilidade do sistema

Para a avaliação da repetibilidade do sistema, realizou-se 1 amostragem para cada amostra selecionada para validação. Posteriormente procedeu-se a análise conforme metodologia previamente desenvolvida. Ajustou-se o equipamento para realizar 6 leituras da amostra e, a partir destas, uma média. Calculou-se o desvio padrão e o coeficiente de variação das leituras. A Figura 50 apresenta o procedimento efetuado para a etapa de repetibilidade do sistema durante a validação.

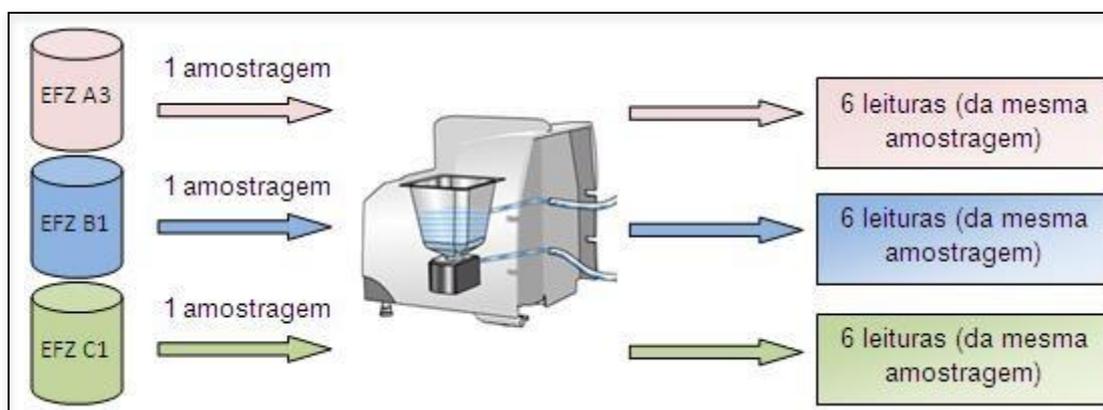


Figura 50. Representação do procedimento de análise para as 3 amostras selecionadas para validação, na etapa de repetibilidade do sistema.

O critério de aceitação para esta etapa foi o coeficiente de variação, o qual foi estabelecido em $\leq 5\%$ para a os cortes de d10, d50 e d90 das 6 leituras obtidas.

3.2.5.3 Análise da repetibilidade da metodologia

Para a avaliação da repetibilidade da metodologia, realizou-se 5 amostragens para cada amostra selecionada para validação. Posteriormente procedeu-se a análise conforme metodologia previamente desenvolvida. Ajustou-se o equipamento para realizar 3 leituras de cada amostragem e, a partir destas, uma média. Calculou-se o desvio padrão e o coeficiente de variação das 5 médias obtidas a partir das 5 amostragens. Esta etapa foi realizada na sua totalidade por um analista denominado A. A Figura 51 apresenta o procedimento descrito para a etapa de repetibilidade da metodologia durante a validação.

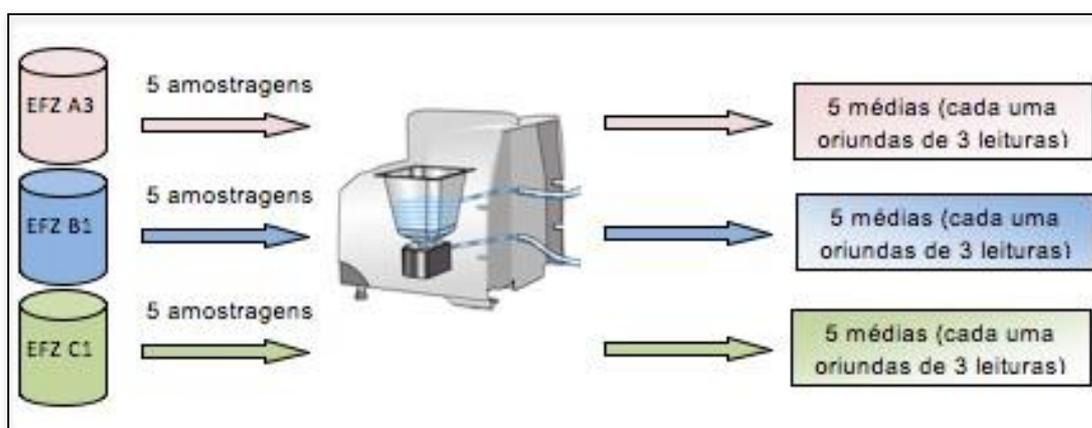


Figura 51. Representação do procedimento de análise para as 3 amostras selecionadas para validação, na etapa de repetibilidade da metodologia.

O critério de aceitação para esta etapa foi o estabelecido pela farmacopeia americana (USP 35, 2012): coeficiente de variação do $d_{10} \leq 15\%$, $d_{50} \leq 10\%$ e $d_{90} \leq 15\%$.

3.2.5.4 Precisão intermediária

Para a avaliação da precisão intermediária, procedeu-se exatamente a mesma metodologia e utilizou-se o mesmo equipamento da repetibilidade da metodologia, entretanto, os ensaios foram realizados por um analista diferente,

denominado analista B. Para este procedimento, o analista B realizou as análises em dias diferentes do analista A, conforme preconizado pela RE 899 (2003). Além disso, seguiu-se o sugerido pela referida resolução: utilizar um mínimo de 2 dias de intervalo entre a análise dos analistas A e B.

O critério de aceitação estabelecido para esta etapa foi: coeficiente de variação do $d_{10} \leq 15\%$, $d_{50} \leq 10\%$ e $d_{90} \leq 15\%$ entre as análises realizadas pelo analista A e B.

3.2.6 Determinação do Índice de refração da partícula de efavirenz

Para estimar o índice de refração da partícula de efavirenz, procedeu-se a metodologia adaptada de SAVEYN e colaboradores (2002) e MALVERN (2002).

Oito solventes foram selecionados para a determinação experimental do índice de refração do efavirenz em solução. Para cada solvente, realizou-se uma curva com cinco diferentes concentrações de efavirenz, até o máximo de 1% (p/v) de IFA dissolvido. Utilizou-se como critério de aceitação $r^2 \leq 0,995$. O índice de refração dos solventes puros e das soluções de efavirenz foram determinadas utilizando um refratômetro de Abbé (Atago® Modelo RXi 5000 Plus) com temperatura estabilizada ($20,0 \pm 0,01^\circ\text{C}$), faixa de medição de 1,32422 a 1,58000 e precisão de 0,00001 unidades.

De posse das curvas de calibração, procedeu-se a extrapolação para 100%, a qual é uma aproximação para o índice de refração da partícula de efavirenz. Posteriormente, comparou-se o valor obtido para cada solvente utilizado e calculou-se o desvio padrão entre eles.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Microscopia

4.1.1 Microscopia ótica (MO)

A obtenção de imagens por microscopia ótica das amostras no seu estado original (“a seco”) não foi possível em função da alta aglomeração das partículas. Ao realizar o procedimento, observaram-se apenas aglomerados e não se pôde identificar a morfologia e tamanho das partículas primárias. Inicialmente, a análise de MO foi efetuada utilizando como dispersante cada uma das nove soluções tensoativas avaliadas neste trabalho, todas na concentração 0,02% (p/v). Entretanto, não foi possível obter imagens com a resolução e a nitidez necessárias para contribuir de forma efetiva na caracterização da morfologia e das dimensões. Acredita-se que este fato ocorreu devido a baixa viscosidade das soluções tensoativas (que favoreceu um movimento “acelerado”) das partículas em suspensão) e a câmera disponível na MO, que não era adequada para imagens em movimento.

Em função disso, procedeu-se a avaliação por microscopia ótica das amostras suspensas em óleo mineral, o qual é um meio com maior viscosidade e, por isso, a velocidade do movimento das partículas é menor. Esta análise foi realizada apenas nas amostras utilizadas no desenvolvimento da metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do efavirez (A1 e A2).

As Figuras 52 e 53 apresentam algumas das microfotografias obtidas para as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2, respectivamente, utilizando como meio de dispersão óleo mineral.

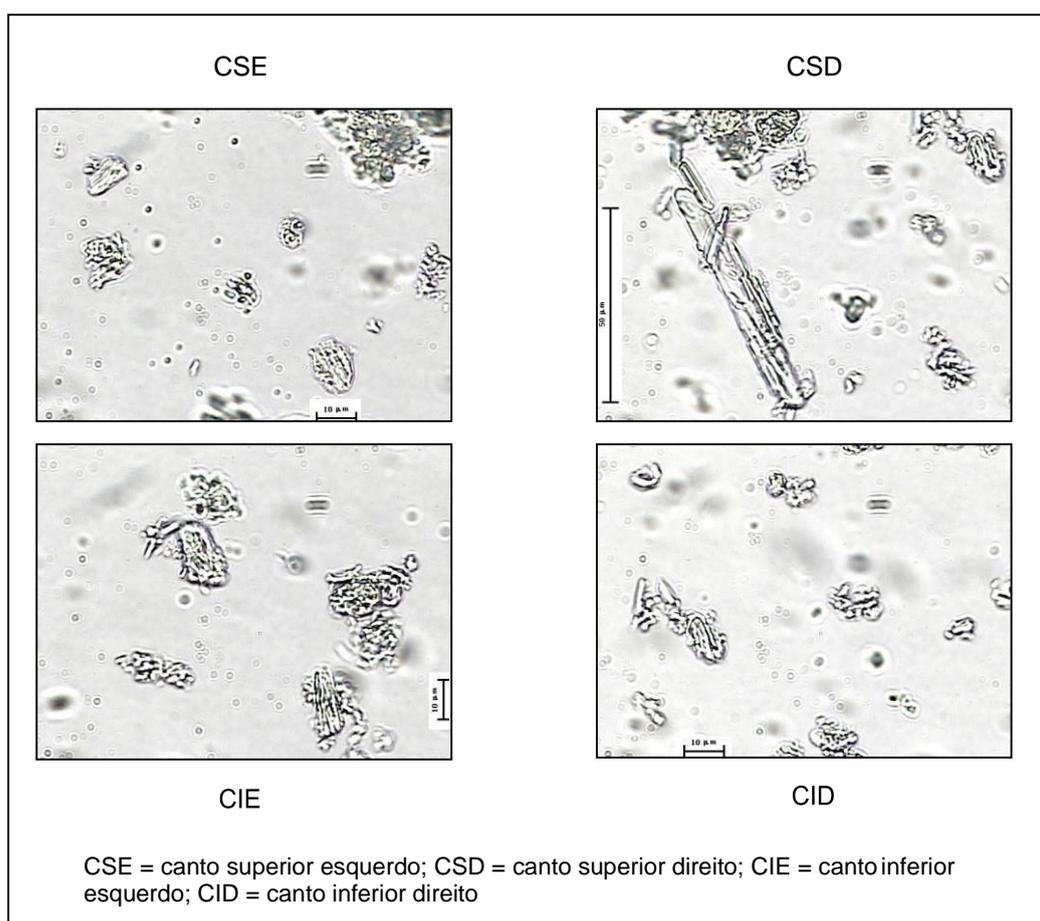


Figura 52. Microfotografias obtidas por MO da amostra de EFZ-A1 utilizando como meio de dispersão óleo mineral (escala |-----| 10µm).

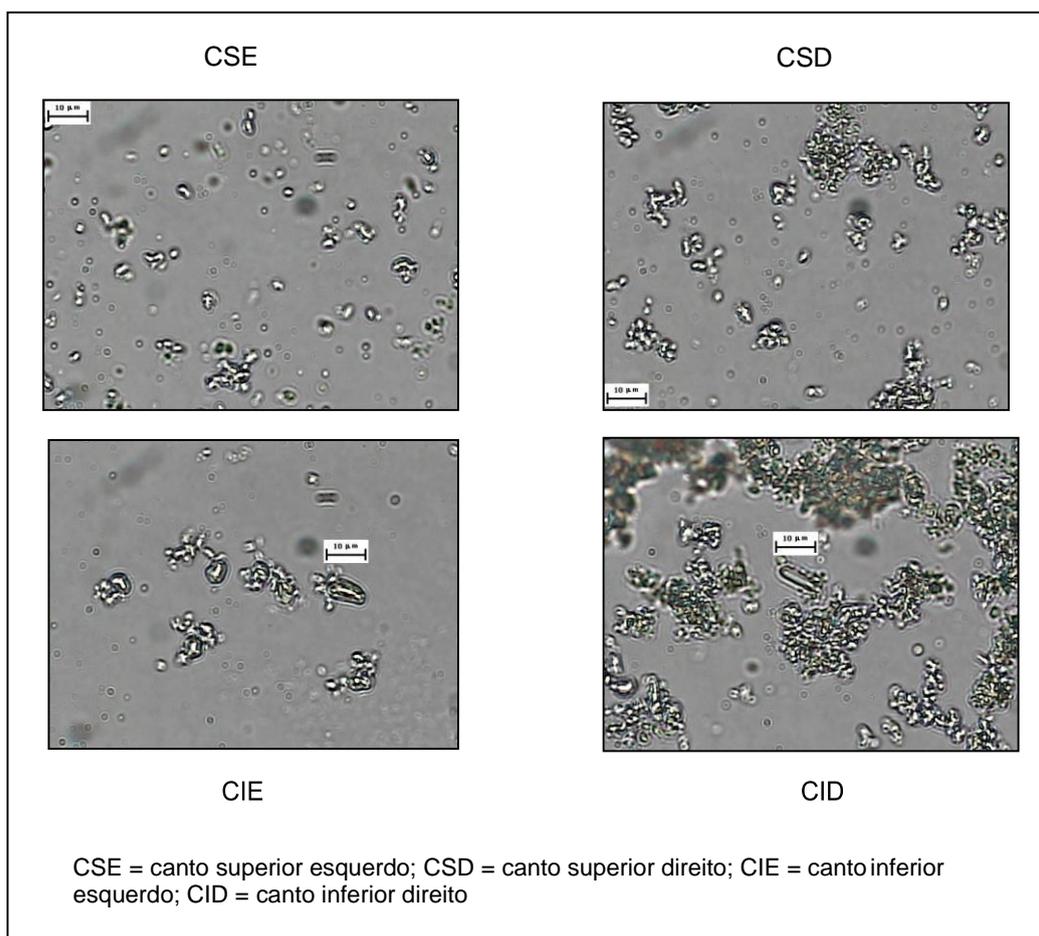


Figura 53. Microfotografias obtidas por MO da amostra de EFZ-A2 utilizando como meio de dispersão óleo mineral (escala |-----| 10µm).

A análise de microscopia ótica, utilizando óleo mineral como dispersante, não se mostrou muito eficaz na obtenção de imagens nítidas, dificultando assim a identificação real da morfologia e tamanho das partículas. Este fato deve-se principalmente à: limitação do aumento utilizado para avaliação das amostras; a característica intrínseca do material, neste caso amostras micronizadas; e, a qualidade da câmera disponível para a captura das imagens.

Com relação as amostras serem micronizadas, cabe citar que o processo de micronização consiste na redução do tamanho das partículas, realizado por um equipamento capaz de promover intensa quebra das mesmas. É uma das técnicas mais comuns para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis e, no caso do efavirenz, esta prática vem sendo a mais viável para superar os problemas apresentados com a dissolução (LACHMAN et al., 2001; GAO et al., 2007). Entretanto, a caracterização destas partículas de tamanho reduzido passa a ser um

obstáculo para a microscopia ótica, pelo seu tamanho em si e pela dificuldade de desaglomeração das mesmas. Uma explicação plausível para esta intensa aglomeração das partículas é o possível aumento da energia eletrostática do pó durante o procedimento de micronização. Além disso, apesar deste procedimento ser considerado positivo para o desenvolvimento de formulações com fármacos de baixa solubilidade, é necessário mencionar que a redução no tamanho das partículas tem forte impacto na manipulação dos pós, afetando, por exemplo, a fluidez e a densidade do material (FERRAZ, 2009).

A utilização de um maior aumento (1000x, com e sem imersão) também foi testado, porém este mostrou-se ainda mais deficitário na aquisição de imagens nítidas. A princípio, este fato também está relacionado com a baixa qualidade da câmera fotográfica acoplada ao microscópio.

Entretanto, mesmo com a baixa qualidade das imagens obtidas por microscopia ótica, pode-se inferir que a amostra EFZ-A1 apresenta partículas com dimensões maiores que a amostra EFZ-A2.

4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Como a análise de microscopia eletrônica de varredura pode fornecer imagens com aumentos muito maiores e resolução e nitidez melhores que a microscopia ótica (CUFFINI et al., 2009), foram realizadas análises de MEV nas amostras em seu estado original. As imagens obtidas para cada uma das seis amostras (A1, A2, A3, B1 e C1) de efavirenz utilizadas neste trabalho estão apresentadas nas Figuras 54, 55, 56, 57 e 58, respectivamente.

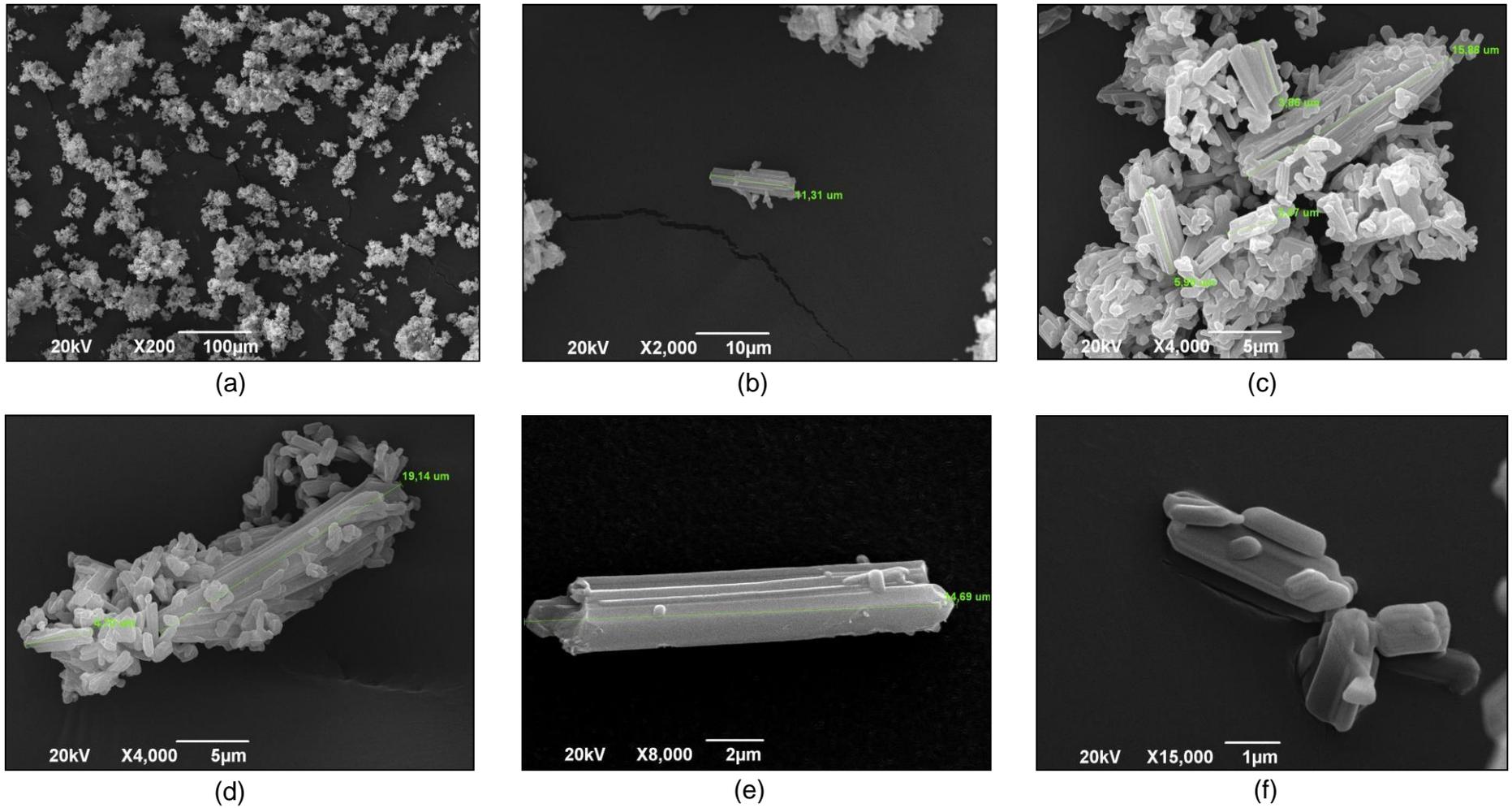


Figura 54. Microfotografias da amostra EFZ-A1. (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) e (d) Magnificação 4000x; (e) Magnificação 8000x e (f) Magnificação 15000x.

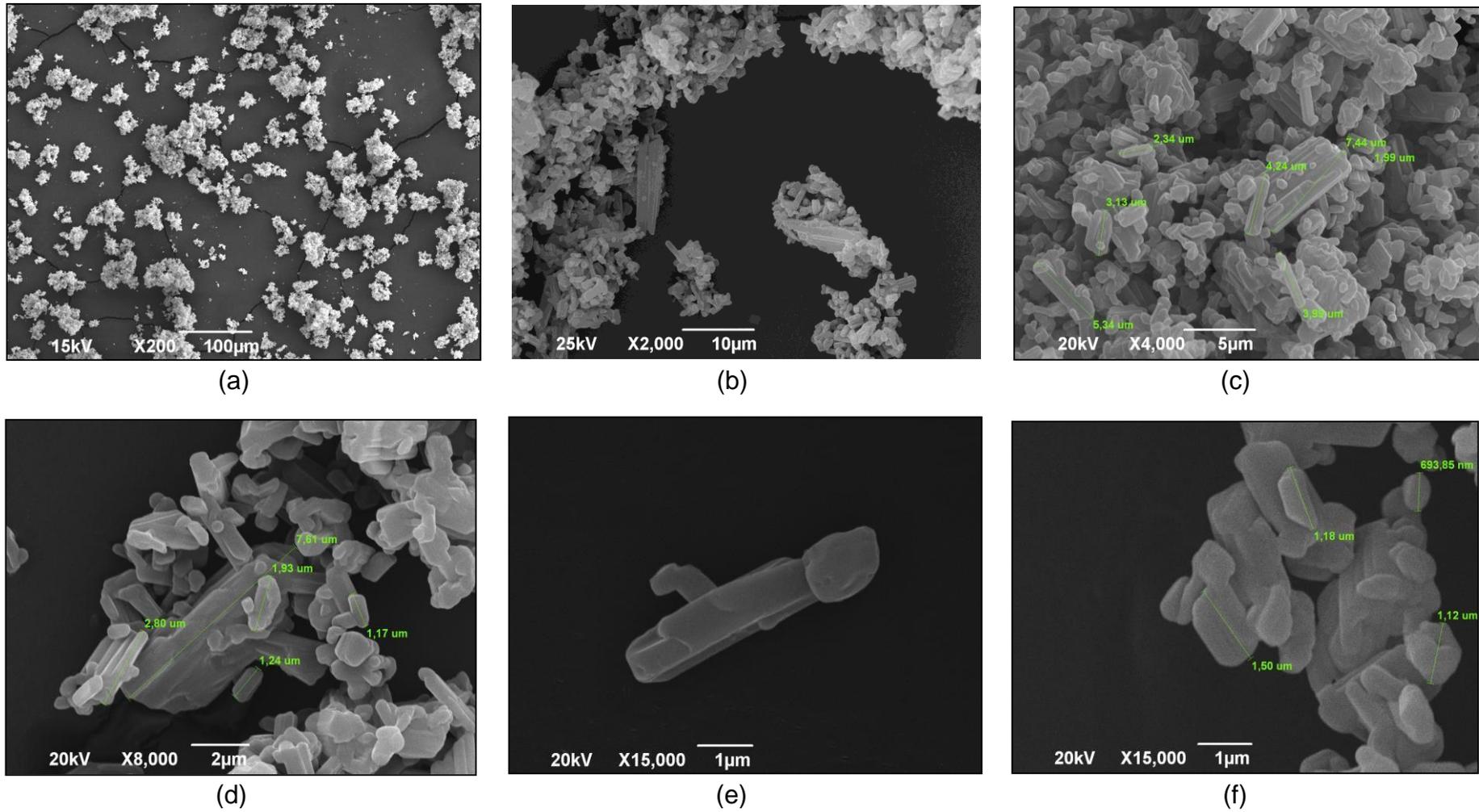


Figura 55. Microfotografias da amostra EFZ-A2 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) Magnificação 8000x e (e) e (f) Magnificação 15000x.

É possível evidenciar que as partículas das amostras EFZ-A1 e EFZ-A2 apresentam semelhanças na morfologia, porém os seus tamanhos são diferenciados. Através das microfotografias da amostra EFZ-A1, pode-se visualizar que as partículas com tamanhos maiores encontram-se na faixa de 11 μ m a até aproximadamente 20 μ m. Enquanto que na amostra EFZ-A2, observa-se que as maiores partículas estão na faixa entre 7 μ m e 10 μ m, aproximadamente. Além disso, as imagens sugerem que a distribuição granulométrica para esta última amostra é mais homogênea, uma vez que a maioria das suas partículas possuem tamanhos mais semelhantes.

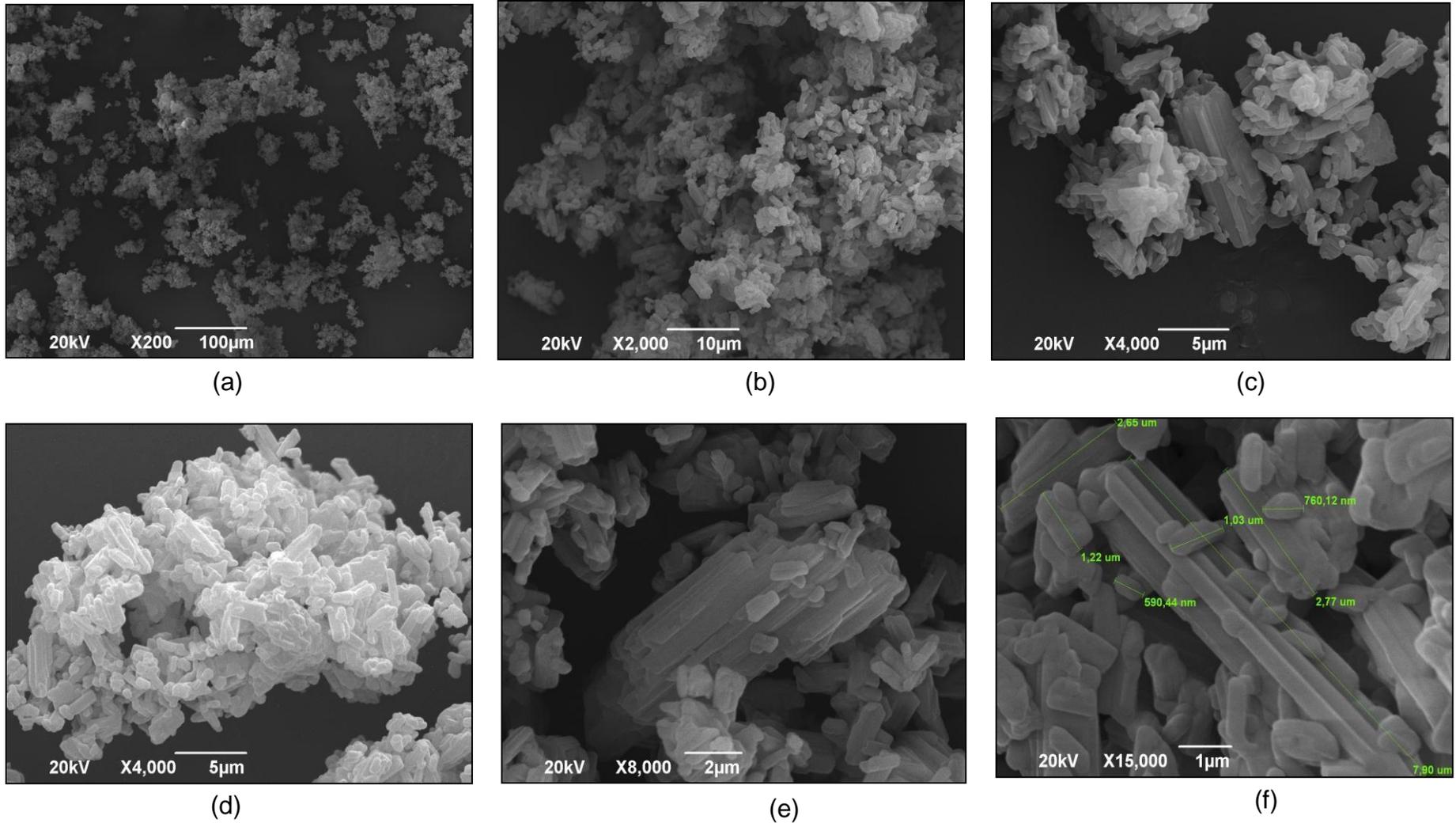


Figura 56. Microfotografias da amostra EFZ-A3 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) e (d) Magnificação 4000x; (e) Magnificação 8000x e (f) Magnificação 15000x.

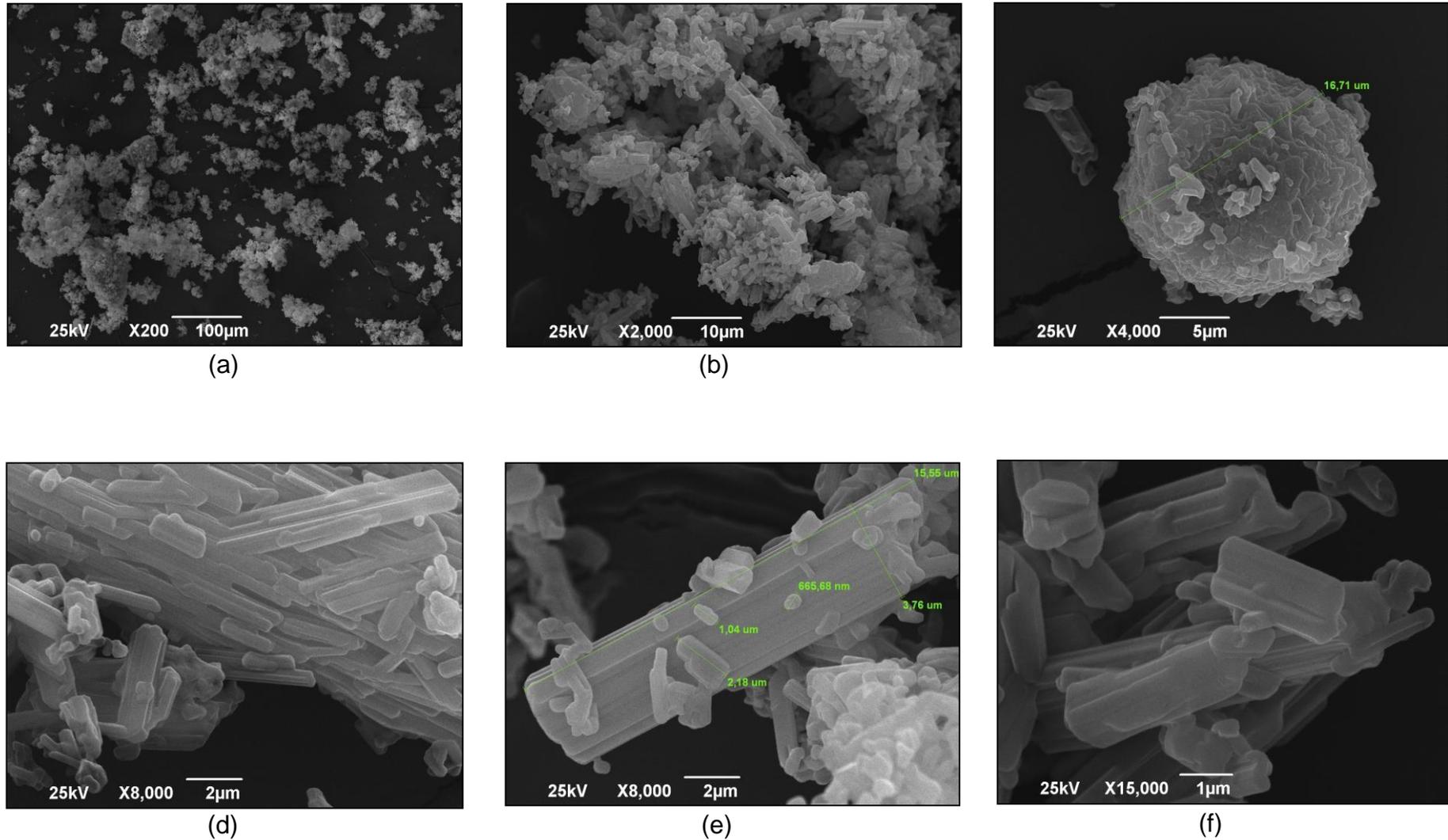


Figura 57. Microfotografias da amostra EFZ-B1 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) e (e) Magnificação 8000x e, (f) Magnificação 15000x.

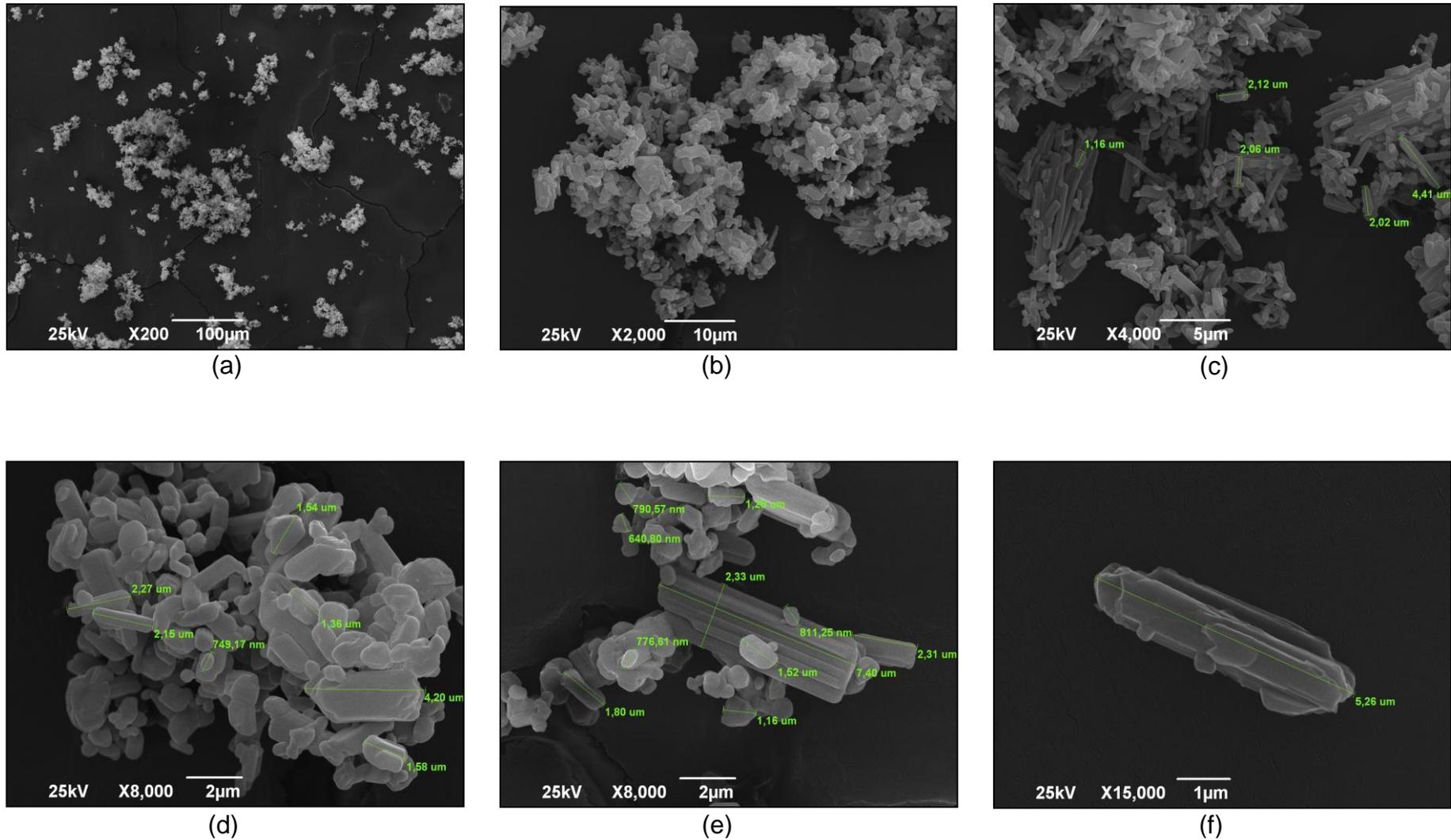


Figura 58. Microfotografias da amostra EFZ-C1 (a) Magnificação 200x; (b) Magnificação 2000x; (c) Magnificação 4000x; (d) e (e) Magnificação 8000x e, (f) Magnificação 15000x.

As Figuras 56, 57 e 58 apresentam as microfotografias das 3 amostras de efavirenz (EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1) que foram utilizadas para a validação da metodologia desenvolvida neste trabalho. Pode-se perceber que para todas elas a morfologia das partículas é semelhante. Já as dimensões das partículas são bastante reduzidas, o que era de se esperar pois elas são micronizadas como as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2. Além disso, as imagens obtidas das amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1 sugerem que as dimensões das suas partículas são similares entre si.

4.2 Desenvolvimento da metodologia de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser para o IFA efavirenz

Com o intuito de facilitar a compreensão frente as diferentes etapas que envolvem um desenvolvimento de metodologia analítica para distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, foi elaborado um fluxograma (Figura 59) que apresenta as possíveis direções a serem tomadas em função das características da amostra (via líquida ou via seca). No caso do efavirenz, em função das características de: tamanho reduzido das partículas (amostras micronizadas), alta capacidade de agregação e solubilidade (praticamente insolúvel em água), decidiu-se conduzir o desenvolvimento da metodologia pela dispersão em líquido. Para tal, determinou-se como meio de dispersão na cuba do equipamento água purificada e a amostra foi previamente preparada (suspensão) com a utilização de solução tensoativa.

4.2 Desenvolvimento da metodologia de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser para o IFA efavirenz

Com o intuito de facilitar a compreensão frente as diferentes etapas que envolvem um desenvolvimento de metodologia analítica para distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, foi elaborado um fluxograma (Figura 59) que apresenta as possíveis direções a serem tomadas em função das características da amostra (via líquida ou via seca). No caso do efavirenz, em função das características de: tamanho reduzido das partículas (amostras micronizadas), alta capacidade de agregação e solubilidade (praticamente insolúvel em água), decidiu-se conduzir o desenvolvimento da metodologia pela dispersão em líquido. Para tal, determinou-se como meio de dispersão na cuba do equipamento água purificada e a amostra foi previamente preparada (suspensão) com a utilização de solução tensoativa.

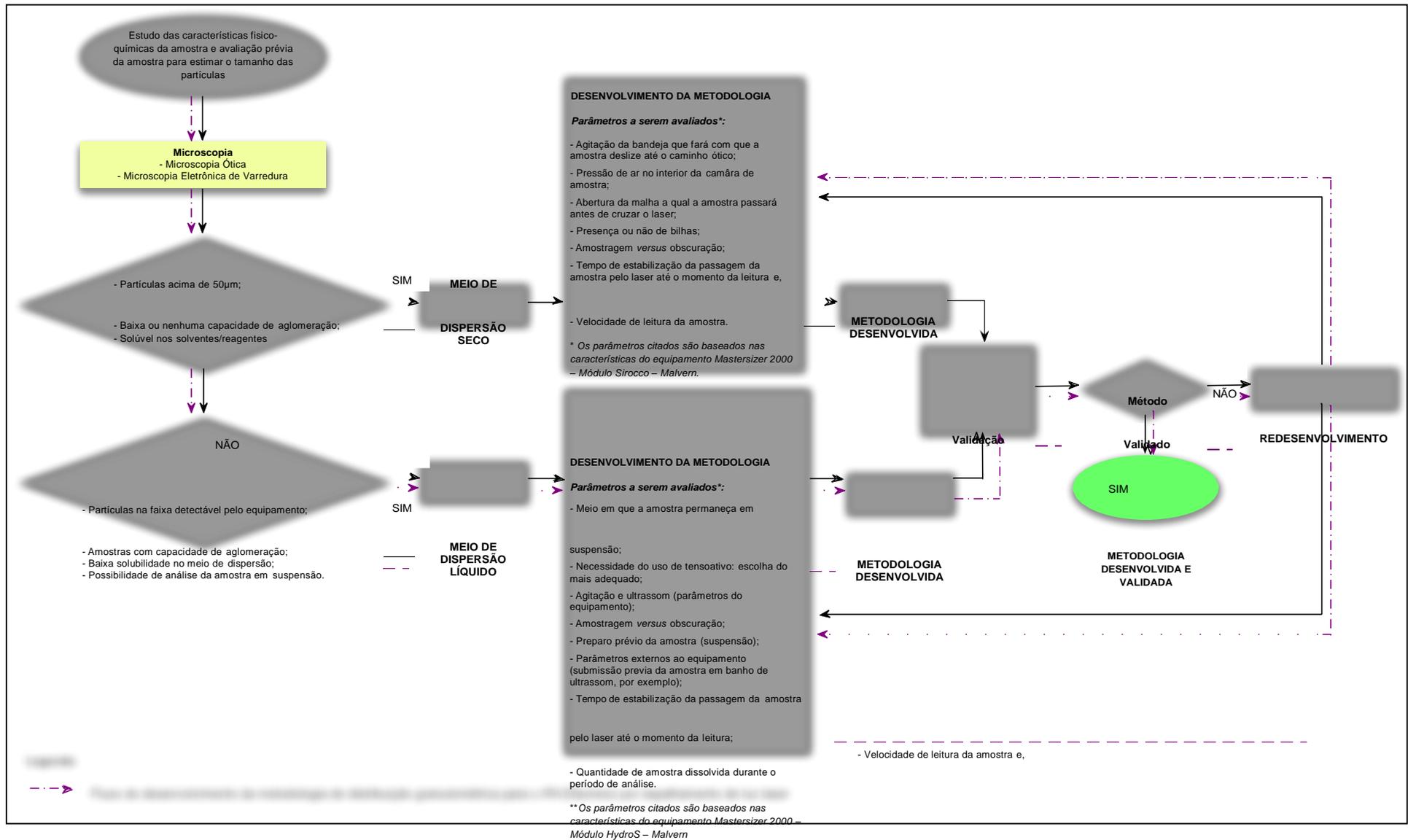


Figura 59. Fluxograma para o desenvolvimento de metodologias para análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

4.2.1 Soluções tensoativas

A Figura 60 apresenta o aspecto visual das diferentes soluções tensoativas utilizadas.

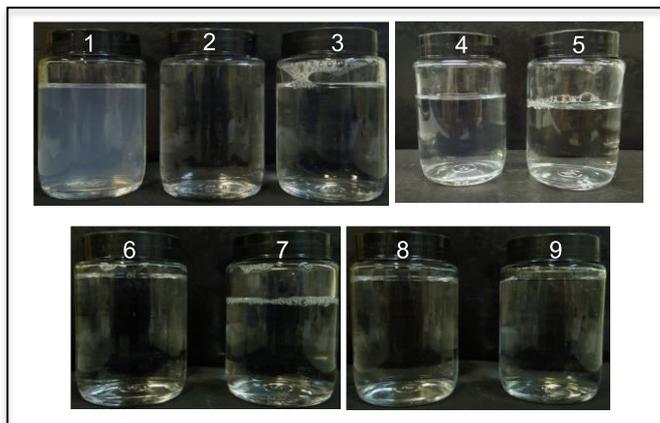


Figura 60. Aspecto visual das soluções tensoativas (todas na concentração 0,02% (p/v)) utilizadas na execução deste trabalho, onde: 1) polissorbato 85, 2) polissorbato 80, 3) polissorbato 60, 4) polissorbato 40, 5) polissorbato 20, 6) Igepal®CA-630, 7) triton X-100, 8) lauril sulfato de sódio e, 9) cloreto de cetil trimetil amônio.

Com exceção do polissorbato 85, todas as soluções apresentaram-se límpidas. Algumas delas apresentaram maior formação de bolhas no momento da homogeneização, entretanto, pouco tempo após o preparo a quantidade já era mínima ou nula.

No caso do polissorbato 85, a turbidez não foi considerada um empecilho para o prosseguimento dos testes de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser pois, ao adicionar o volume de solução que é utilizado nas análises em um béquer contendo 140mL de água purificada (140mL é o volume aproximado da cuba do equipamento Hydro2000S), a mesma apresentou-se límpida.

4.2.1.1 Análise do índice de refração – soluções tensoativas

Os resultados do índice de refração de todas as soluções tensoativas utilizadas encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados do índice de refração das diferentes soluções tensoativas utilizadas.

| Tensoativo | Concentração (p/v) | Índice de Refração |
|---|--------------------|--------------------|
| Polissorbato 20 | 0,02% | 1,33301 |
| Polissorbato 40 | 0,01% | 1,33299 |
| | 0,02% | 1,33300 |
| | 0,05% | 1,33305 |
| Polissorbato 60 | 0,01% | 1,33299 |
| | 0,02% | 1,33301 |
| | 0,05% | 1,33305 |
| Polissorbato 80 | 0,01% | 1,33299 |
| | 0,02% | 1,33301 |
| | 0,05% | 1,33305 |
| Polissorbato 85 | 0,02% | 1,33301 |
| Igepal®CA-360 | 0,02% | 1,33304 |
| Triton X-100 | 0,02% | 1,33306 |
| Cloreto de cetil trimetil amônio (CCTA) | 0,02% | 1,33300 |
| Lauril sulfato de sódio (LSS) | 0,02% | 1,33303 |

A inserção do valor do índice de refração (IR) do meio, no *software* do equipamento de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, é feita utilizando-se 3 casas decimais e o valor do IR da água purificada é 1,333. Como todas as soluções tensoativas analisadas possuem o mesmo IR da água purificada (1,333), não foi necessário efetuar ajustes deste parâmetro no *software* do equipamento durante todo o trabalho.

4.2.1.2 Análise de pH – soluções tensoativas

Os resultados de pH de todas as soluções tensoativas utilizadas encontram-se descritos na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados de pH das diferentes soluções tensoativas utilizadas.

| Tensoativo | Concentração (p/v) | pH |
|---|--------------------|------|
| Polissorbato 20 | 0,02% | 6,91 |
| Polissorbato 40 | 0,01% | 6,30 |
| | 0,02% | 6,51 |
| | 0,05% | 6,57 |
| Polissorbato 60 | 0,01% | 7,91 |
| | 0,02% | 7,95 |
| | 0,05% | 7,96 |
| Polissorbato 80 | 0,01% | 7,12 |
| | 0,02% | 7,08 |
| | 0,05% | 7,27 |
| Polissorbato 85 | 0,02% | 6,81 |
| Igepal®CA-360 | 0,02% | 6,72 |
| Triton X-100 | 0,02% | 6,88 |
| Cloreto de cetil trimetil amônio (CCTA) | 0,02% | 7,18 |
| Lauril sulfato de sódio (LSS) | 0,02% | 6,89 |

O pH pode ser um interferente na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser de diferentes insumos farmacêuticos. Porém, como os valores obtidos para as diferentes soluções tensoativas não apresentaram variações significativas, esta etapa teve apenas caráter informativo neste trabalho.

4.2.2 Preparo da amostra - Seleção de parâmetros externos

4.2.2.1 Preparo de pasta

Ao ser preparada a amostra neste método da pasta, foi possível visualizar a presença de grandes aglomerados e uma grande quantidade de partículas

sobrenadantes, com aspecto de “secas”. Apesar das inúmeras tentativas (preparando com pouca quantidade de massa (25mg), grande quantidade de massa

Nao imprimir esta!

sobrenadantes, com aspecto de “secas”. Apesar das inúmeras tentativas (preparando com pouca quantidade de massa (25mg), grande quantidade de massa (150mg), uso de espátula para dispersão manual e ultrassom), não foi possível atingir o aspecto de pasta, conforme descrito pela ISO 13320 (2009). A Figura 61 apresenta algumas imagens obtidas nas tentativas de obtenção da pasta.

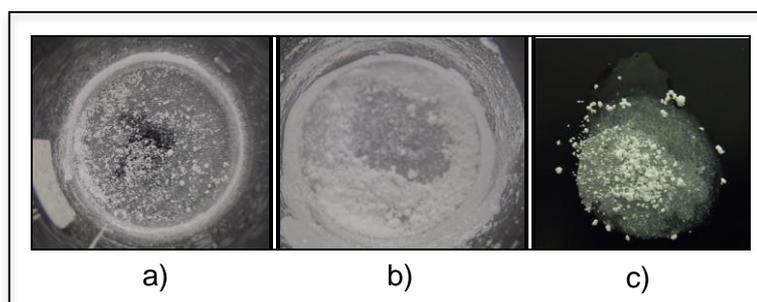


Figura 61. Aspectos visuais durante o preparo da amostra EFZ-A1 pelo método da pasta, para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

Pode-se sugerir que em função da alta eletrostática da amostra (principalmente por ser micronizada), este método de preparo não seja o mais indicado pois, em todos os casos testados, esta metodologia apresentou má dispersão, presença de inúmeros aglomerados e, partículas que não tiveram uma molhabilidade adequada. Sendo assim, este método não foi utilizado para a realização das análises subsequentes.

4.2.2.2 Suspensão – Adição da solução tensoativa

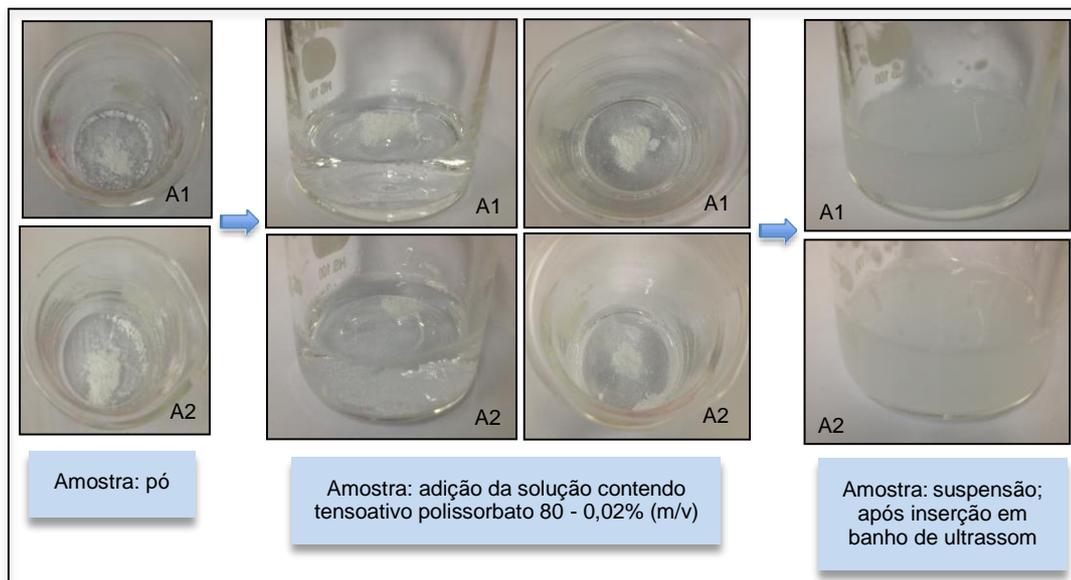
Este método de preparo da amostra se mostrou mais adequado, entretanto, logo após a adição da solução tensoativa, percebeu-se ainda a presença de aglomerados e partículas não molhadas. Este fato foi evidenciado para a maioria dos tensoativos utilizados, porém não foi possível, a olho nu, agrupa-los de acordo com maior ou menor capacidade de desaglomeração.

Na tentativa de melhorar a desaglomeração das partículas na suspensão, submetem-se as diferentes soluções tensoativas a banho de ultrassom por 1 minuto. Como nesta avaliação inicial as soluções de tensoativo promoveram a

dispersão das partículas, para todos os testes subsequentes utilizou-se como parte do preparo prévio da amostra o tempo de 1 minuto de ultrassom.

A Figura 62 exemplifica o preparo da amostra, através da adição de solução tensoativa de polissorbato 80 [0,02% (p/v)] diretamente na amostra (EFZ-A1 e EFZ-A2), bem como os diferentes aspectos apresentados após a inserção no banho de ultrassom.

Figura 62. Aspectos visuais durante o preparo das amostras EFZ-A1 e EFZ-A2 (adição de



solução tensoativa) para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

Foi possível observar que os diferentes tensoativos testados apresentaram comportamento distinto no que diz respeito a formação de bolhas/espuma. Evidenciou-se esta característica com maior intensidade nos tensoativos Igepal® CA-630 e cloreto de cetil trimetil amônio. Sabe-se que a presença desta característica torna o tensoativo menos propício a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser. Entretanto, os tensoativos citados não foram descartados para as análises posteriores pois, acreditava-se que tais problemas pudessem ser minimizados em função da diluição do tensoativo que ocorre na cuba do equipamento.

A Figura 63 exemplifica a suspensão formada com o uso de cada tensoativo utilizado neste trabalho [concentração de 0,02% (p/v)], antes da inserção da amostra EFZ-A1 no banho de ultrassom. Após o banho de ultrassom, todas as dispersões formadas apresentaram-se de forma semelhante.

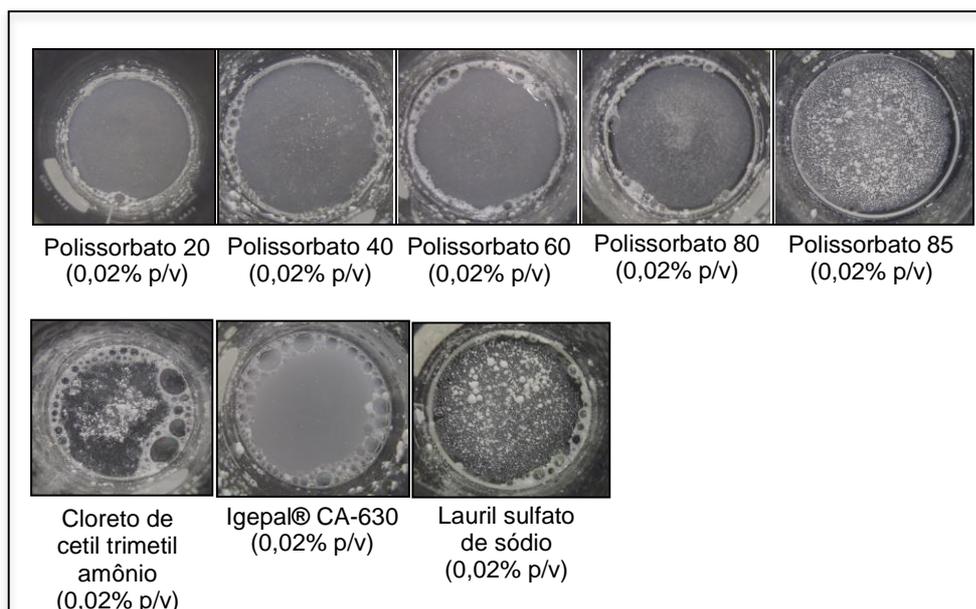


Figura 63. Aspectos visuais durante o preparo da amostra EFZ-A1 (adição de solução tensoativa) para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, utilizando diferentes soluções tensoativas.

4.2.3 Seleção de parâmetros do equipamento – Mastersizer 2000 – Hydro2000S

4.2.3.1 Agitação (A) e Ultrassom (U)

Os resultados obtidos para a cada uma das combinações realizadas são apresentados nos Gráficos 1 (amostra EFZ-A1) e 2 (amostra EFZ-A2).

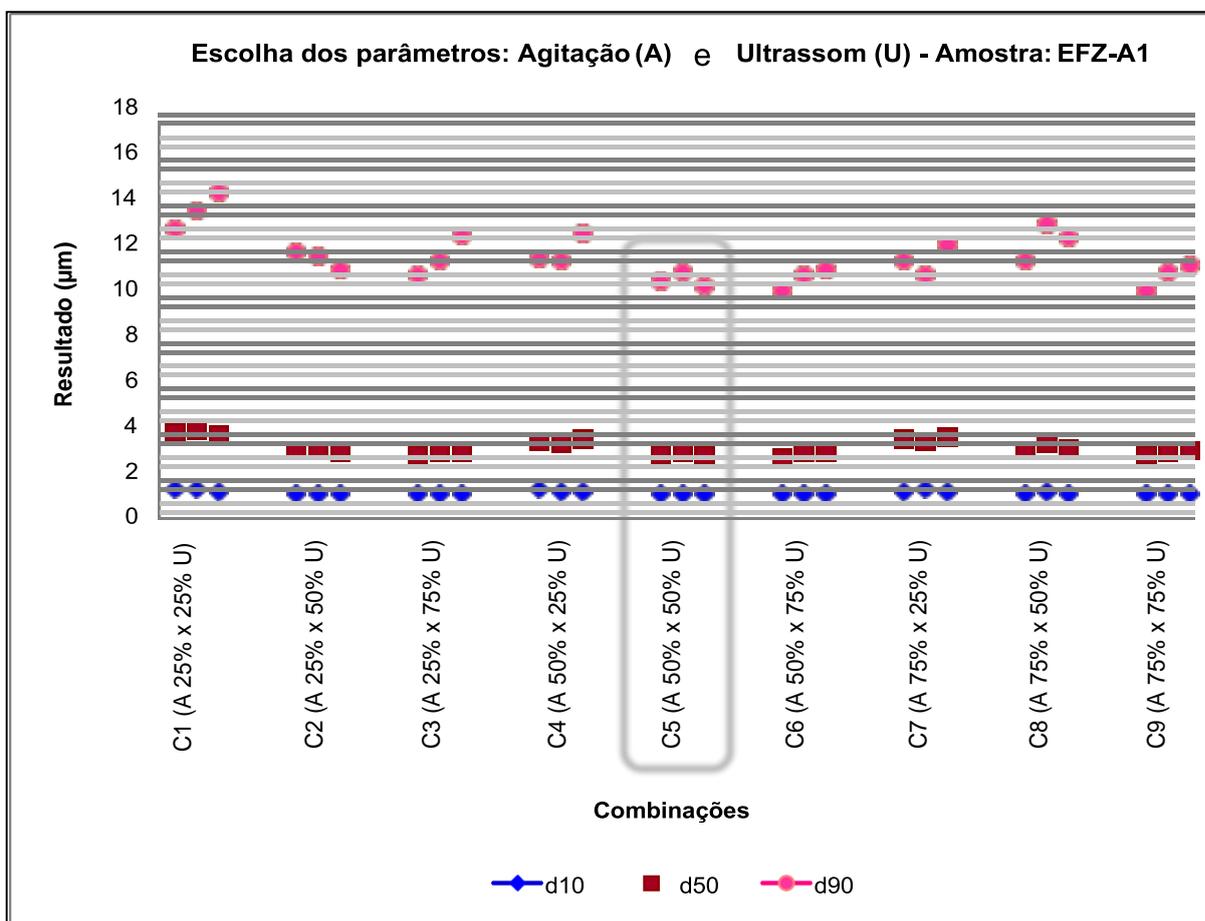


Gráfico 1. Resultados obtidos para cada uma das combinações testadas de agitação (A) e ultrassom (U) com a amostra EFZ-A1 (triplicata / 3 amostragens).

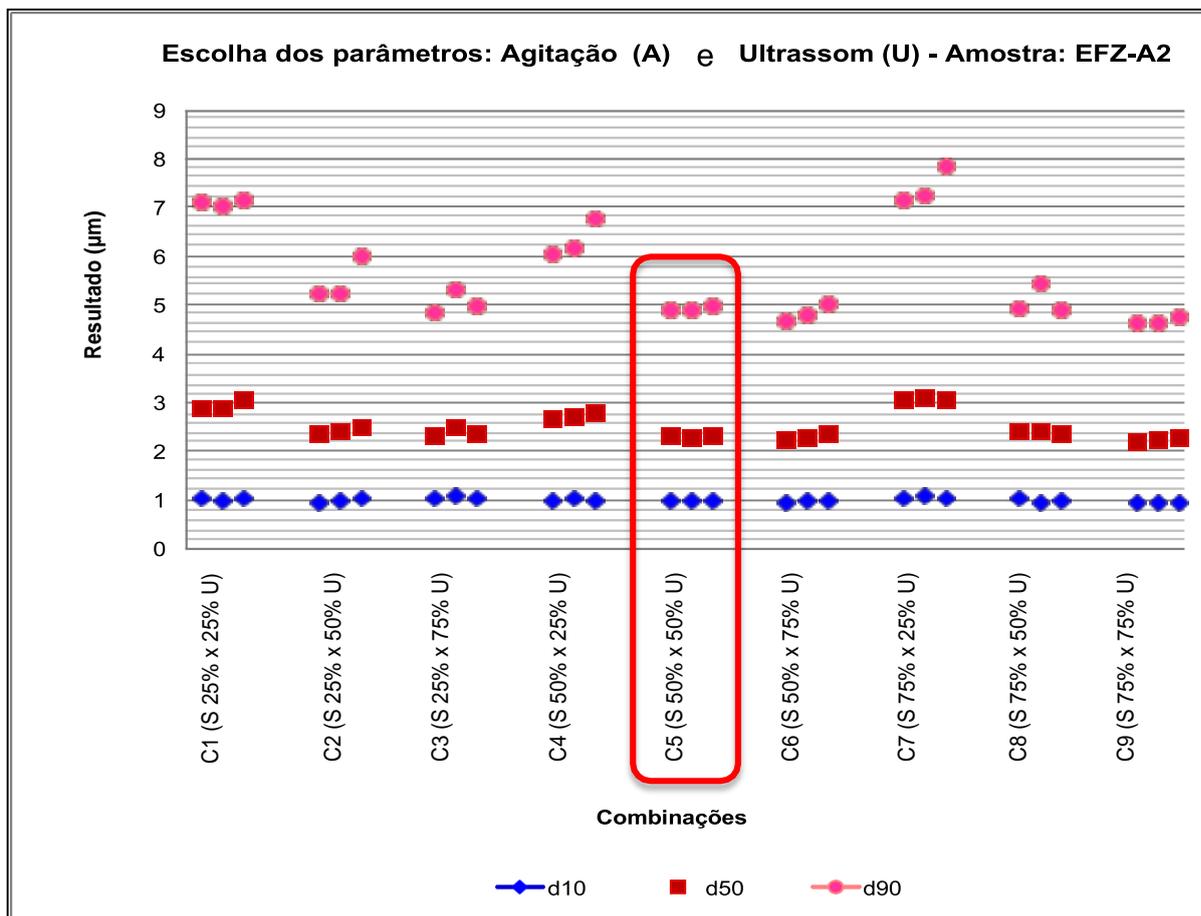


Gráfico 2. Resultados obtidos para cada uma das combinações testadas de agitação (A) e ultrassom (U) com a amostra EFZ-A2 (triplicata / 3 amostragens).

Como pode ser evidenciado nos gráficos, para ambas as amostras os resultados que apresentaram maior homogeneidade (EFZ-A1: d10 – CV(%)=1,24, d50 – CV(%)= 2,01, d90 – CV (%)= 2,51; EFZ-A2: d10 – CV (%)= 1,28, d50 – CV(%)= 0,96, d90 – CV(%)= 0,98) encontram-se na combinação 5, a qual é utilizada agitação em 1750 rpm (50%) e 50% ultrassom durante todo o período de análise. Cabe ressaltar que as amostragens apresentadas nos gráficos são amostragens distintas, logo, na combinação 5 houve melhor repetibilidade da metodologia para as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2.

A Tabela 10 apresenta os valores numéricos de diferentes percentuais da distribuição granulométrica e os dados estatísticos (média, desvio padrão (DP) e os coeficientes de variação (CV)) para a amostra EFZ-A1. O Gráfico 3 apresenta a sobreposição das curvas de distribuição granulométrica das 3 amostragens, que é referente aos dados da Tabela 10. Da mesma forma, a Tabela 11 e Gráfico 4 apresentam os dados referentes a amostra EFZ-A2.

Tabela 09. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 na combinação 5 (1750 rpm (50%) de agitação e 50% de ultrassom).

| AMOSTRA: EFZ-A1 | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Agitação em 50% - 50% ultrassom | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 260 | 23,5 | 0,954 | 2,676 | 10,288 | 14,647 | 20,029 | 23,446 | 33,057 | 4,390 | 0,871 | 3,489 |
| 2 | 264 | 24,1 | 0,978 | 2,781 | 10,636 | 14,891 | 20,034 | 23,289 | 33,307 | 4,519 | 0,751 | 3,473 |
| 3 | 268 | 24,6 | 0,966 | 2,702 | 10,128 | 14,426 | 19,684 | 23,042 | 33,309 | 4,361 | 0,624 | 3,391 |
| Média | | 24,1 | 0,966 | 2,720 | 10,351 | 14,655 | 19,916 | 23,259 | 33,224 | 4,423 | 0,749 | 3,451 |
| DP | | | 0,012 | 0,055 | 0,260 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,242 | 2,011 | 2,509 | | | | | | | |

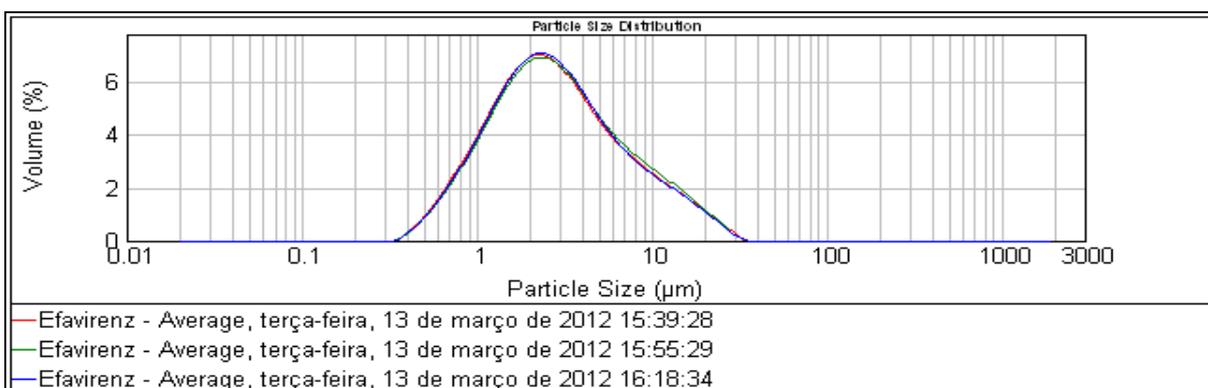


Gráfico 3. Sobreposição das curvas de distribuição granulométrica referentes as 3 amostragens apresentadas na Tabela 8 para a amostra EFZ-A1.

Tabela 10. Resultados obtidos para a amostra EFZ A2-na combinação 5 (1750 rpm (50%) de agitação e 50% de ultrassom).

| AMOSTRA: EFZ-A2 | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Agitação em 50% - 50% ultrassom | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 140 | 21,000 | 0,995 | 2,313 | 4,877 | 5,835 | 6,973 | 7,730 | 9,919 | 2,678 | 0,339 | 1,678 |
| 2 | 144 | 22,700 | 0,970 | 2,287 | 4,877 | 5,848 | 7,011 | 7,797 | 11,186 | 2,661 | 0,370 | 1,709 |
| 3 | 148 | 24,800 | 0,985 | 2,331 | 4,960 | 5,936 | 7,091 | 7,857 | 9,932 | 2,705 | 0,346 | 1,705 |
| Média | | 22,8 | 0,983 | 2,310 | 4,905 | 5,873 | 7,025 | 7,795 | 10,346 | 2,681 | 0,352 | 1,697 |
| DP | | | 0,013 | 0,022 | 0,048 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,280 | 0,957 | 0,977 | | | | | | | |

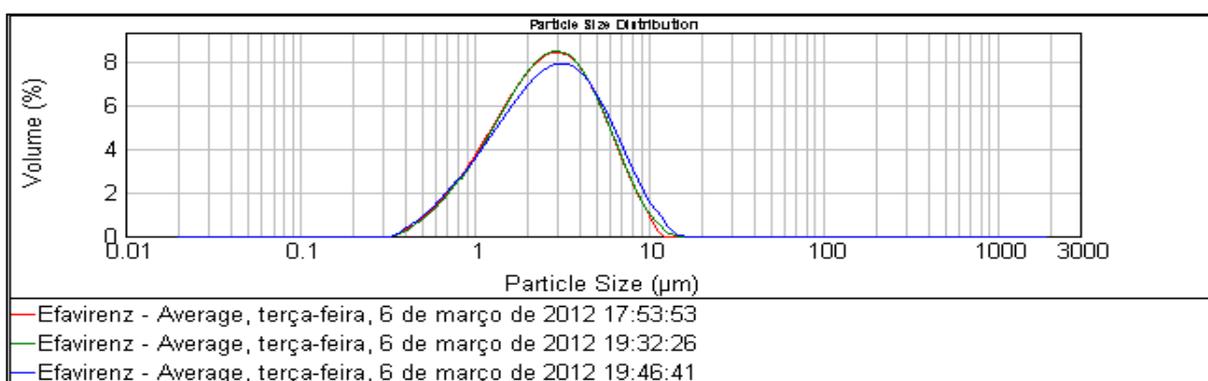


Gráfico 4. Sobreposição das curvas de distribuição granulométrica referentes as 3 amostragens apresentadas na Tabela 9 para a amostra EFZ-A2.

A seleção dos parâmetros de agitação e ultrassom do equipamento baseou-se na combinação que apresentou melhor repetibilidade e, conseqüentemente, menor coeficiente de variação. Aliado a este critério, foi verificado se os resultados numéricos obtidos nesta combinação estavam coerentes com as microfotografias obtidas por microscopia.

Os resultados numéricos, quando comparados as microfotografias das respectivas amostras, sugerem que esta combinação está traduzindo a realidade da população de partículas presente em ambas as amostras de efavirenz.

Outro aspecto que pode ser visualizado com os resultados apresentados é a diferença da população de partículas entre as amostras EFZ-A1 (maiores dimensões) e EFZ-A2 (menores dimensões), o que também corrobora com o resultado evidenciado na microscopia ótica e eletrônica de varredura.

Além disso, todos os resultados foram avaliados criticamente a fim de verificar a influência da agitação e ultrassom no que tange a desaglomeração das partículas. As tabelas referentes as demais combinações testadas estão apresentadas nos Anexos I, II, III, IV, V e VI deste trabalho. Nelas, foi possível observar que, tanto para a amostra EFZ-A1, como para a amostra EFZ-A2, o uso de agitação e ultrassom nos seus níveis mais baixos (25% de agitação e ultrassom) influenciou negativamente na desaglomeração da amostra. Este fato pode ser facilmente observado pelos valores registrados para o corte de d100, os quais indicam a presença de partículas com dimensões irreais. Sabe-se que o uso do corte d100 é considerado irrelevante e errôneo para algumas finalidades, porém, aqui, ele foi usado apenas para discutir a efetividade da metodologia em traduzir a realidade da amostra. Ou seja, como o corte d100 relata a maior dimensão que uma partícula pode apresentar na distribuição analisada, pode-se verificar se há evidências de aglomerações ou não, comparando o referido corte com a realidade das dimensões visualizadas na microscopia.

4.2.4 Seleção da solução tensoativa

Os resultados de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A1, obtidos durante a etapa de avaliação das diferentes soluções contendo tensoativo foram divididos em dois gráficos para facilitar a visualização. No Gráfico 5 são apresentados os dados referentes as análises com polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85 durante 5 diferentes tempos para a análise (3, 5, 8, 10 e 12min), enquanto que no Gráfico 6 são apresentados os resultados com as soluções contendo os tensoativos Igepal® CA-630, Triton X-100, lauril sulfato de sódio (LSS) e cloreto de cetil trimetil amônio (CCTA).

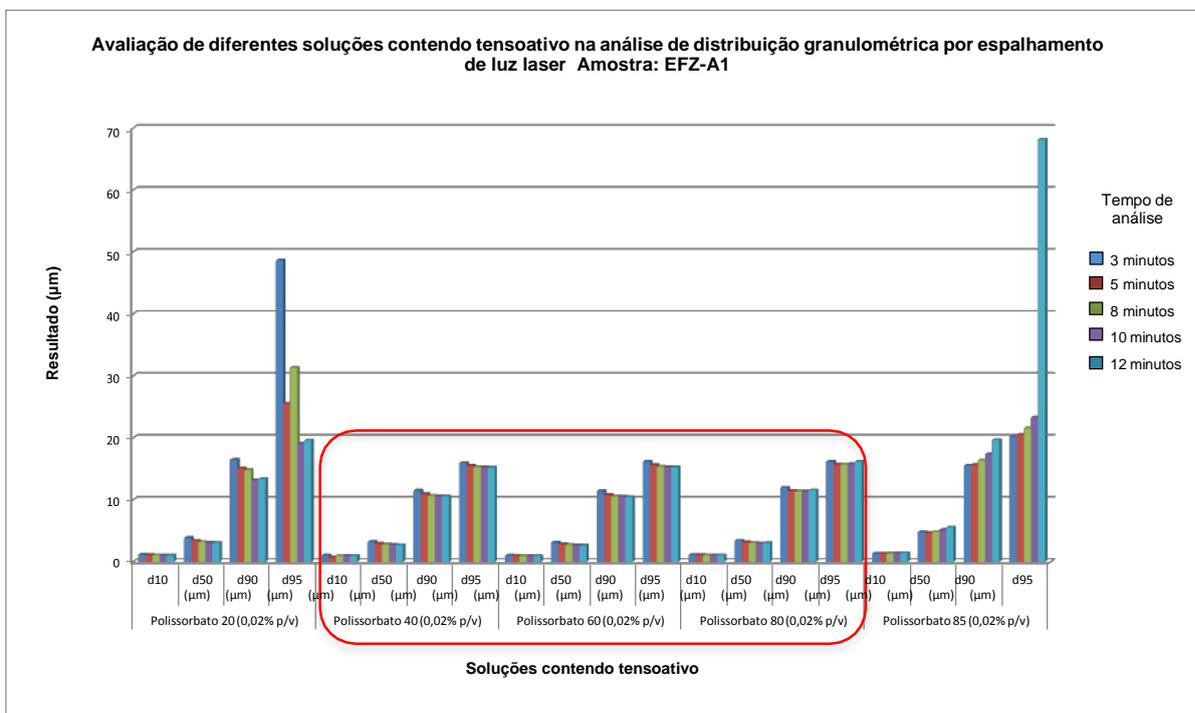


Gráfico 5. Desempenho de diferentes soluções tensoativas (polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A1.

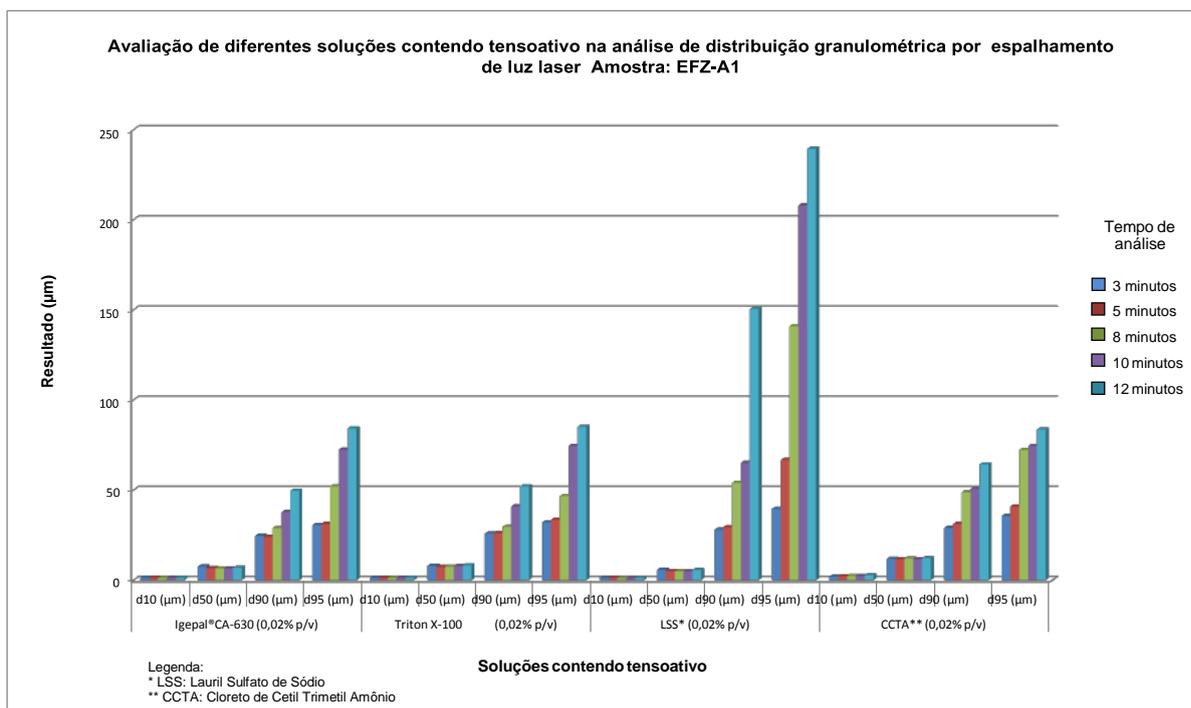


Gráfico 6. Desempenho de diferentes soluções tensoativas (Igepal® CA-630, Triton X- 100, LSS e CCTA) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ A1.

Os Anexos VII e VIII apresentam os valores numéricos de diferentes percentuais da distribuição granulométrica (d10, d50, d90, d95 e d100), as curvas de distribuição granulométrica incremental e os dados estatísticos (média, desvio padrão (DP) e os coeficientes de variação (CV)) para a amostra EFZ-A1, frente a utilização dos 9 tensoativos testados.

Através dos resultados apresentados para amostra EFZ-A1 nos Gráficos 5 e 6, pode-se visualizar que os tensoativos que demonstraram desempenho adequado para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser foram os polissorbatos 40, 60 e 80. Para estes três casos obtiveram-se suspensões com partículas dispersas e estáveis. Estas características podem ser traduzidas pelos valores numéricos que estão indicando coerência com as dimensões reais das partículas presentes na amostra (obtidas por microscopia) e devido a estabilidade dos resultados ao longo do período de análise. Ou seja, no decorrer do tempo de dispersão da amostra durante a análise (até 12 minutos) evidenciou-se estabilidade dos resultados numéricos para os diferentes cortes analisados (d10, d50, d90 e d95).

Igualmente, para a amostra EFZ-A2, os resultados obtidos na avaliação das diferentes soluções contendo tensoativo também foram divididos em dois gráficos.

No Gráfico 7 são apresentados os dados referentes as análises com polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85, enquanto que no Gráfico 8 são apresentados os resultados obtidos utilizando as soluções contendo os tensoativos Igepal® CA-630, Triton X-100, lauril sulfato de sódio (LSS) e cloreto de cetil trimetil amônio (CCTA). Assim como para a amostra EFZ-A1, mapeou-se 5 diferentes tempos para análise (3, 5, 8, 10 e 12min).

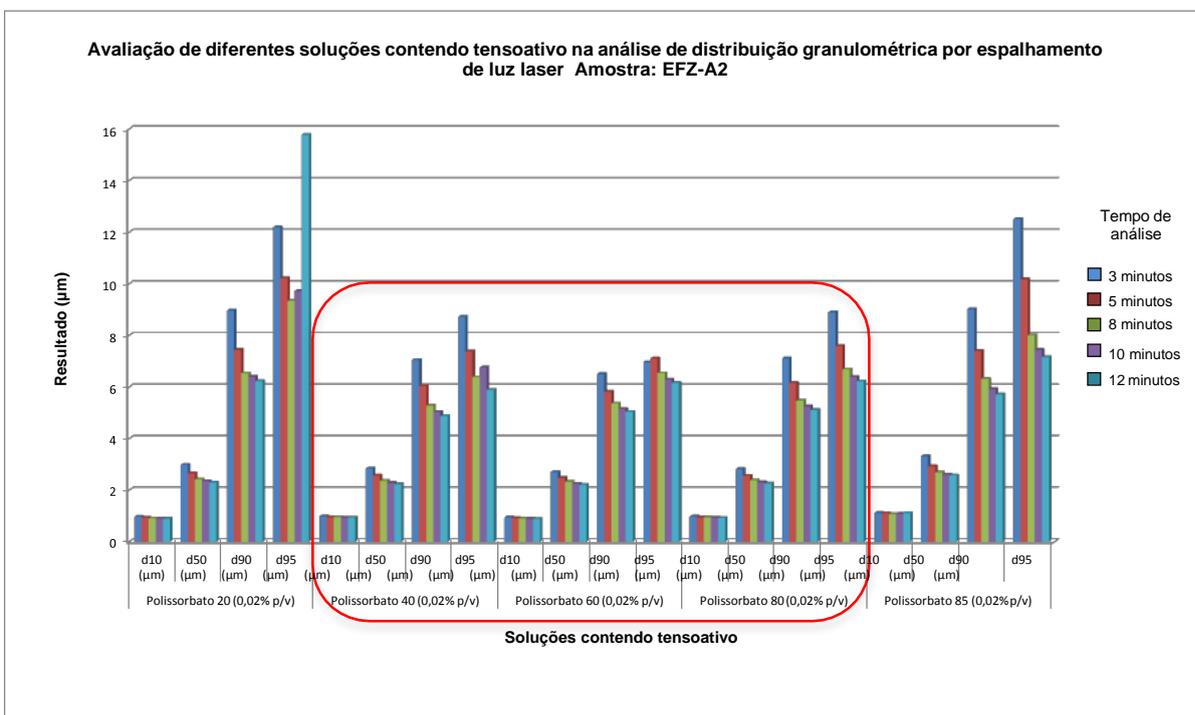


Gráfico 7. Desempenho de diferentes soluções tensoativas (polissorbato 20, 40, 60, 80 e 85) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A2.

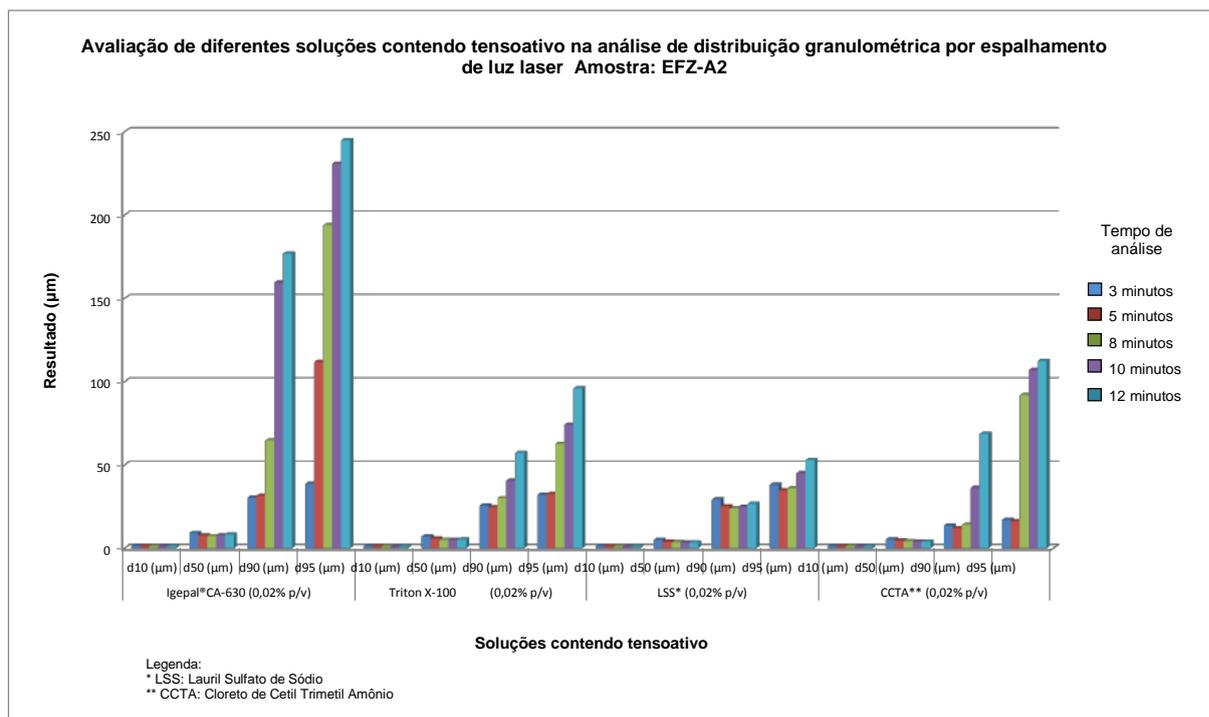


Gráfico 8. Desempenho de diferentes soluções tensoativas (Igepal® CA-630, Triton X-100, LSS e CCTA) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA EFZ-A2.

Os Anexos IX e X apresentam os valores numéricos de diferentes percentuais da distribuição granulométrica (d10, d50, d90, d95 e d100), as curvas de distribuição granulométrica incremental e os dados estatísticos (média, desvio padrão (DP) e os coeficientes de variação (CV)) para a amostra EFZ-A2, frente a utilização dos 9 tensoativos testados.

Os resultados obtidos para a amostra EFZ-A2 frente aos diferentes tensoativos avaliados é bastante semelhante àqueles verificados na amostra EFZ- A1. Percebe-se que os polissorbato 40, 60 e 80 são os que apresentaram melhor desempenho na análise.

Já os demais tensoativos testados não se mostraram capazes de desaglomerar as partículas e manter a suspensão estável durante o período de análise, o que é facilmente evidenciado pelo aumento gradativo dos valores numéricos da distribuição granulométrica com o passar do tempo, devido a aglomeração progressiva da amostra. Este fato sugere que os tensoativos polissorbato 20, polissorbato 85, Igepal® CA-630, Triton X-100, lauril sulfato de sódio (LSS) e cloreto de cetil trimetil amônio (CCTA) têm dificuldade para manter as partículas de efavirenz afastadas uma das outras. Provavelmente, a força de atração entre as partículas do IFA são maiores que as forças de repulsão causadas pelo efeito do tensoativo, impedindo assim que as mesmas fiquem afastadas umas das outras e produzam uma suspensão estável e adequada para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

4.2.4.1 Avaliação da concentração – soluções tensoativas

Devido aos resultados obtidos no item 4.2.4, apenas os polissorbato 40, 60 e 80 foram utilizados na avaliação da concentração da solução contendo tensoativo, para o preparo da amostra de efavirenz. Desta forma, os Gráficos 9, 10 e 11 apresentam os respectivos resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 utilizando os três tensoativos mencionados, nas 3 concentrações propostas (0,01%, 0,02% e 0,05% p/v).

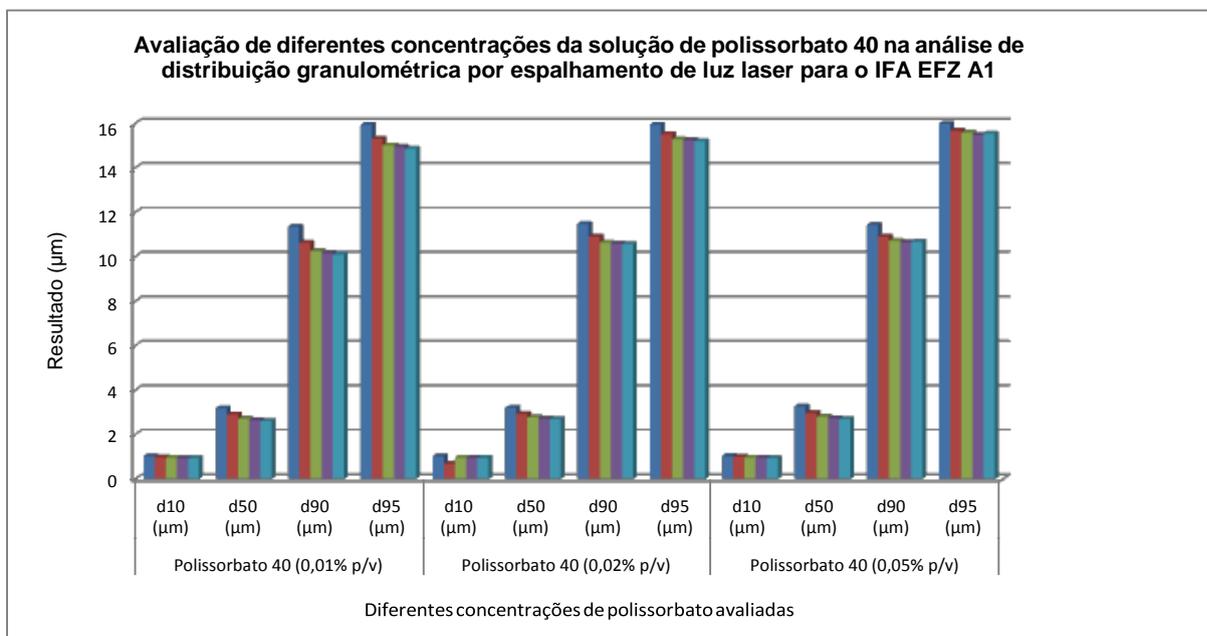


Gráfico 9. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

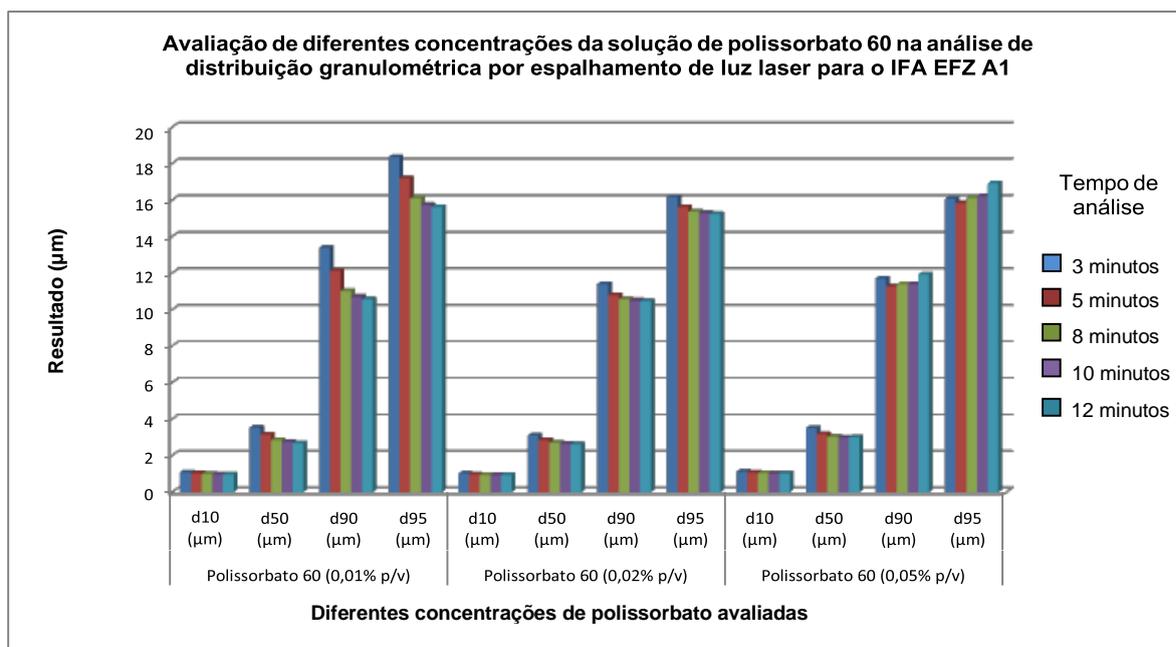


Gráfico 10. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

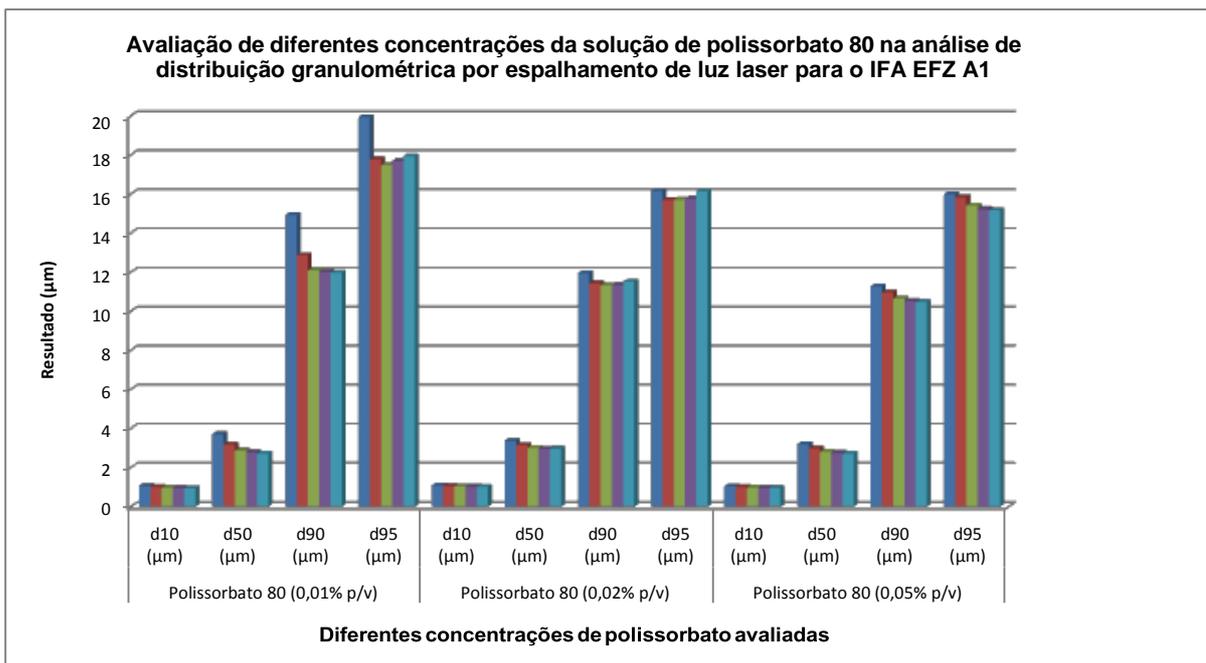


Gráfico 11. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A1 durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

Os Anexos XI, XII e XIII apresentam os valores numéricos de diferentes percentuais da distribuição granulométrica (d10, d50, d90 e d95), as curvas de distribuição granulométrica incremental e os dados estatísticos (média, desvio padrão (DP) e os coeficientes de variação (CV)) para a amostra EFZ-A1, frente a análise de distribuição granulométrica de espalhamento de luz laser utilizando o polissorbato 40 (0,01%, 0,02% e 0,05% (p/v)), 60 (0,01%, 0,02% e 0,05% (p/v)) e 80 (0,01%, 0,02% e 0,05% (p/v)), respectivamente.

Para a amostra EFZ-A1, os polissorbatos 60 e 80 na concentração 0,01% (p/v) não foram efetivos durante o período da análise, pois pode-se observar que nesta concentração houve um variação considerável dos resultados, principalmente aqueles expressos pelo d90. Este fato pode ser um indicativo da dificuldade do tensoativo em manter as partículas suspensas de forma adequada, possivelmente em função da sua baixa quantidade. Diferentemente, o polissorbato 40 na concentração 0,01% (p/v) apresentou-se capaz de promover a adequada molhabilidade e suspensão das partículas durante a análise, uma vez que manteve-se um “platô” dos resultados durante o período de análise. Por outro lado, os polissorbatos 40, 60 e 80 apresentaram resultados similares nas concentrações 0,02% e 0,05% (p/v) e, para uma mesma concentração, os seus resultados também foram similares quando comparados entre si. Portanto, na tentativa de discriminar os

resultados obtidos para estas concentrações, realizou-se uma avaliação estatística dos resultados através de gráficos de Box Plot. Os Gráficos 12 e 13 apresentam o Box Plot da amostra EFZ-A1 utilizando os tensoativos polissorbato 40, 60 e 80, nas concentrações 0,02 e 0,05% (p/v), respectivamente.

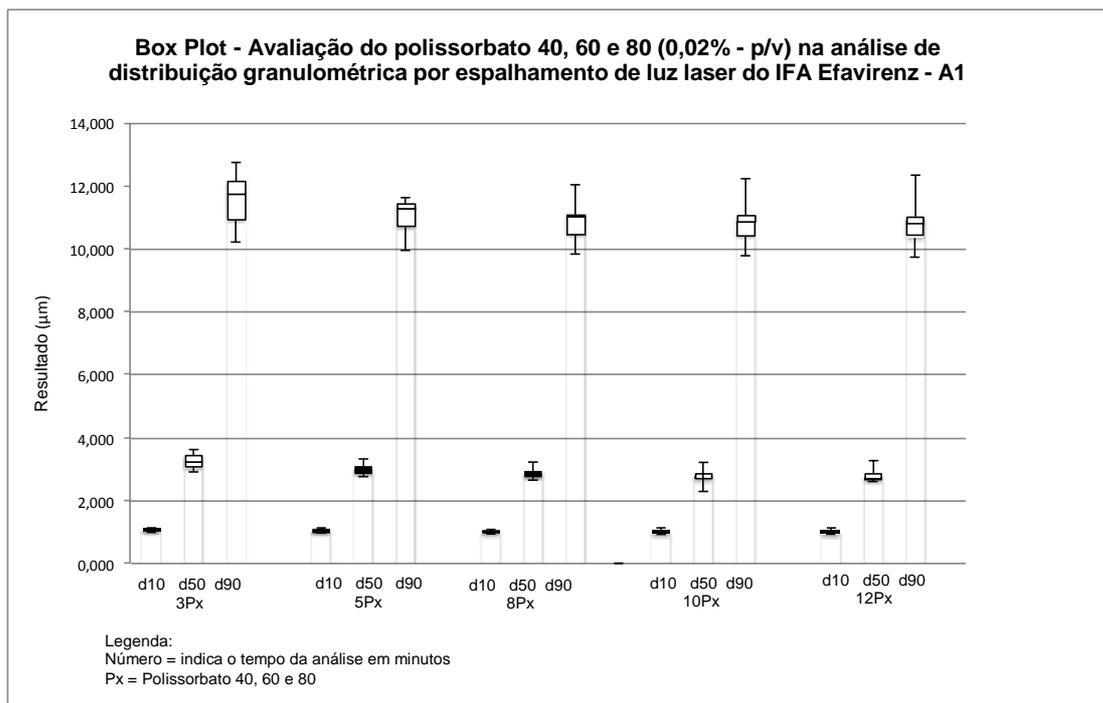


Gráfico 12. Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A1, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,02% (p/v).

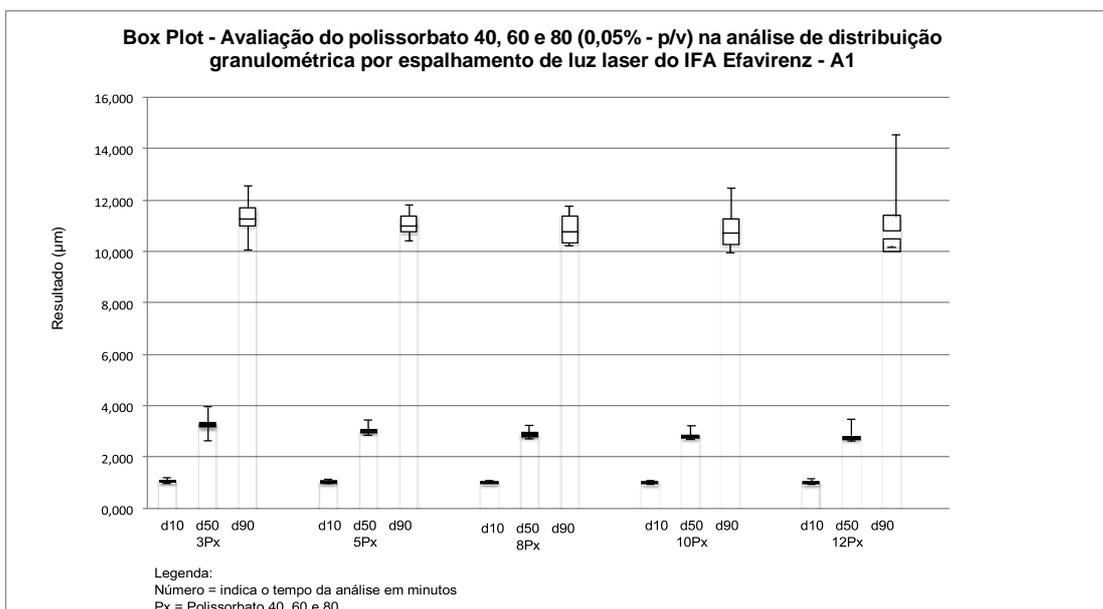


Gráfico 13. Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A1, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,05% (p/v).

Os resultados dos gráficos de Blox Plot indicam que a amostra EFZ-A1 apresentou-se com pouca dispersão de resultados para ambas as concentrações de tensoativo (0,02 e 0,05 (p/v)), quando comparados os tensoativos polissorbato 40, 60 e 80.

Os Gráficos 14, 15 e 16 apresentam os resultados obtidos para a amostra EFZ-A2 utilizando o polissorbato 40, 60 e 80, respectivamente, nas 3 diferentes concentrações propostas (0,01%, 0,02% e 0,05% (p/v)).

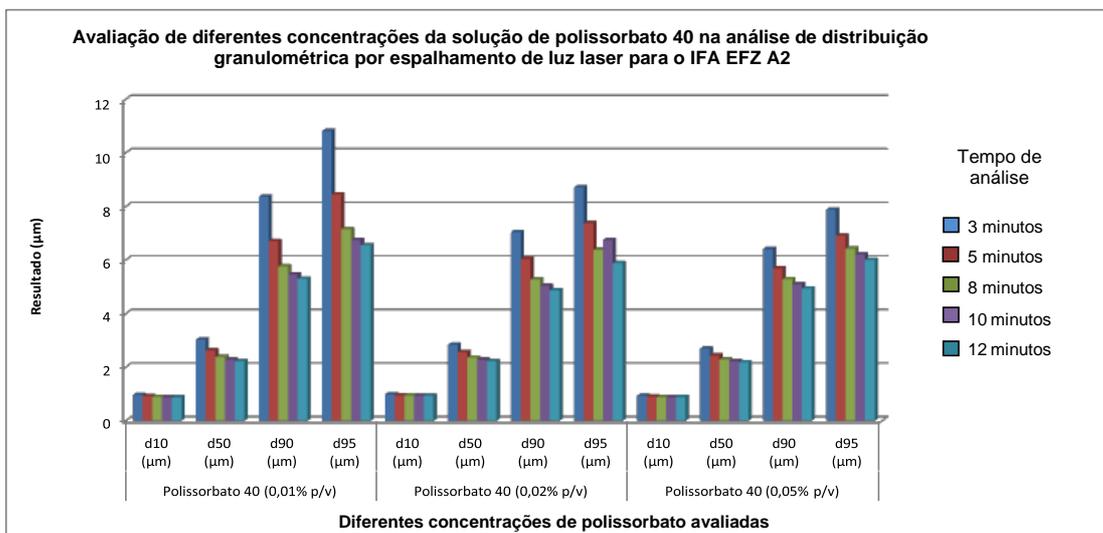


Gráfico 14. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

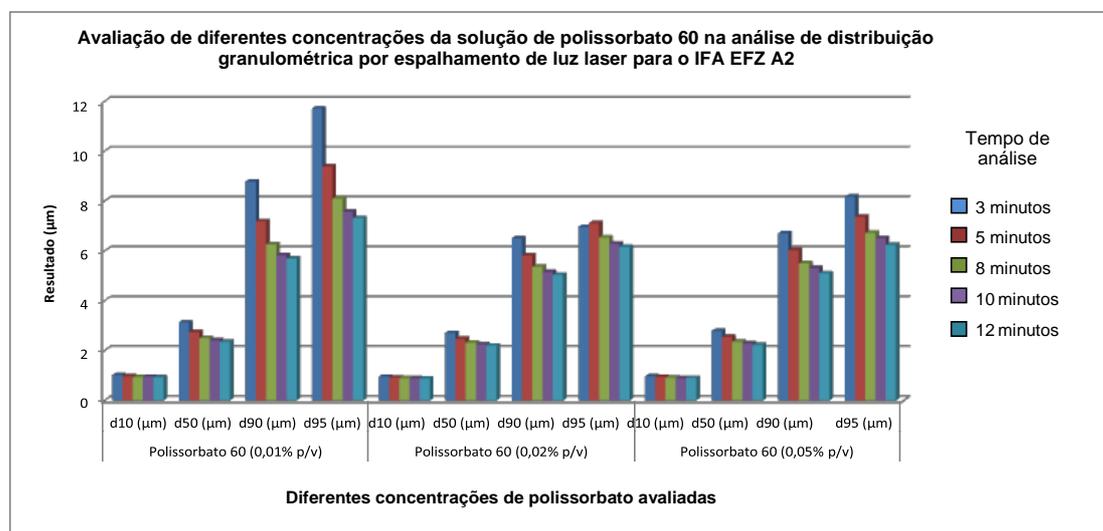


Gráfico 15. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

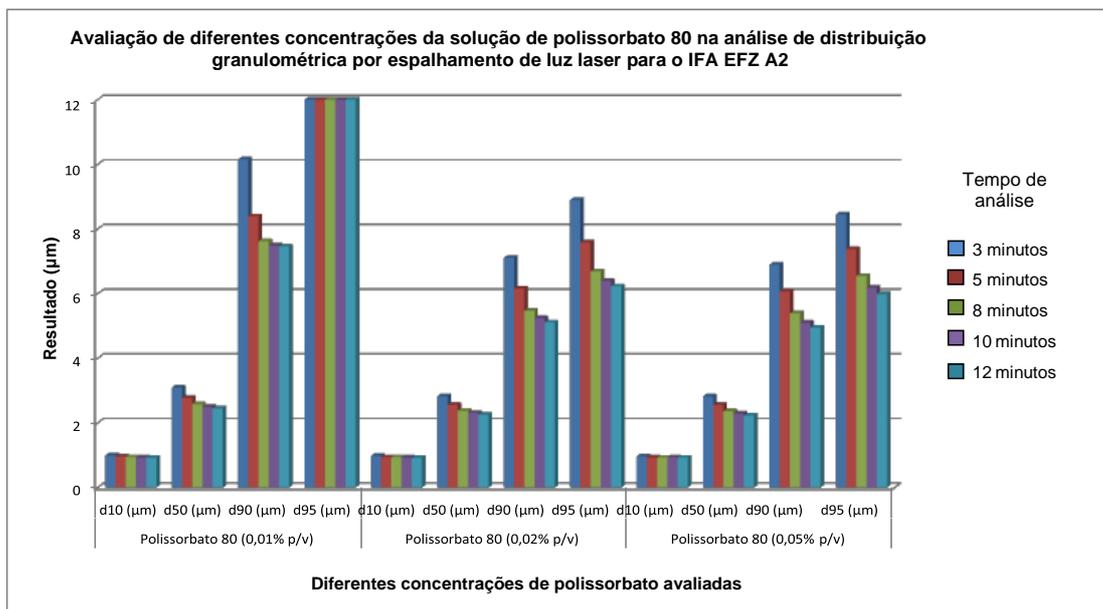


Gráfico 16. Resultados obtidos para a amostra EFZ-A2, durante a avaliação de diferentes concentrações de polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

Os Anexos XIV, XV e XVI apresentam os valores numéricos de diferentes percentuais da distribuição granulométrica (d10, d50, d90 e d95), as curvas de distribuição granulométrica incremental e os dados estatísticos (média, desvio padrão (DP) e os coeficientes de variação (CV)) para a amostra EFZ-A2, frente a análise de distribuição granulométrica de espalhamento de luz laser utilizando o polissorbato 40 (0,01%, 0,2% e 0,05% (p/v)), 60 (0,01%, 0,2% e 0,05% (p/v)) e 80 (0,01%, 0,2% e 0,05% (p/v)), respectivamente.

Não foi possível obter resultados satisfatórios para a amostra EFZ-A2 (sem aglomerações e que traduzam a realidade das dimensões das partículas presentes na amostra e evidenciadas pela microscopia) quando utilizado o polissorbato 40, 60 ou 80 na concentração 0,01% (p/v).

Sabe-se que amostras do mesmo insumo farmacêutico (diferentes fabricantes e/ou diferentes lotes de um mesmo fabricante) podem apresentar características físicas (como por exemplo, energia eletrostática, capacidade de agregação, quantidade de flocos, entre outras) distintas. Logo, pelo que foi observado para as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2, fica evidenciado que não é adequado o uso da concentração 0,01% (p/v) de polissorbato 40, 60 ou 80 na metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz.

Assim como ocorreu para a amostra EFZ-A1, houve similaridade entre os resultados obtidos para amostra EFZ-A2, quando se utilizou como solução tensoativa os polissorbatos 40, 60 ou 80 nas concentrações de 0,02% e 0,05% (p/v). Este fato fez com que também fosse realizada uma avaliação estatística para a amostra EFZ-A2. Os Gráficos 18 e 19 apresentam o Box Plot da amostra EFZ-A2 utilizando os tensoativos polissorbato 40, 60 e 80, nas concentrações 0,02 e 0,05% (p/v), respectivamente.

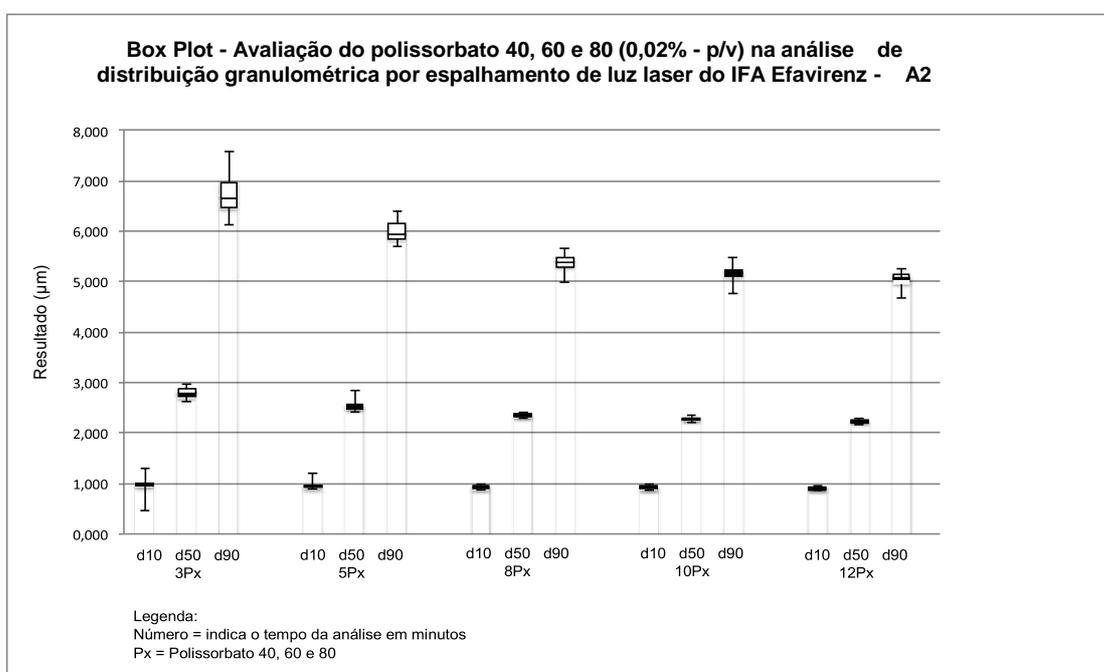


Gráfico 17. Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A2, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,02% (p/v).

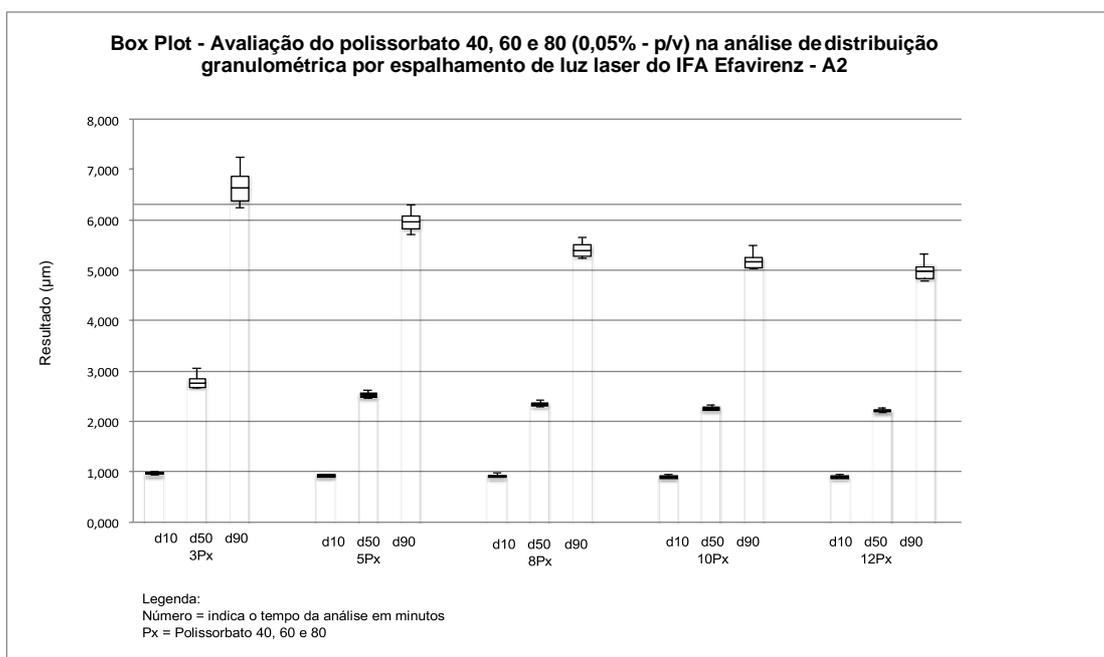


Gráfico 18. Box Plot – Análise estatística da dispersão dos resultados obtidos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser da amostra EFZ-A2, frente a diferentes meios de dispersão (polissorbato 40, 60 e 80) na concentração 0,05% (p/v).

Comparando os resultados estatísticos do desempenho dos tensoativos polissorbato 40, 60 e 80 frente as duas concentrações avaliadas (0,02% e 0,05% (p/v)), para a amostra EFZ-A2, observou-se que os resultados possuem uma dispersão um pouco maior do que o encontrado para os ensaios com o EFZ-A1. Sendo que este aumento deveu-se principalmente aos resultados obtidos para os pontos de 3 e 5min. Uma explicação plausível para a diferença encontrada nos dois tratamentos estatísticos é que como a amostra EFZ-A1 possui uma distribuição granulométrica maior do que a amostra EFZ-A2, as partículas desta última podem possuir um tendência maior de aglomeração. Neste caso, haveria necessidade da amostra permanecer um tempo maior no equipamento para que ela pudesse se dispersar de forma adequada. Devido ao exposto e a necessidade de se ter uma metodologia robusta de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, resolveu-se descartar os tempos de 3 e 5min.

Com relação aos outros tempos (8, 10 e 12min), a análise estatística mostrou que os dados são próximos a uma distribuição normal e existem poucos resultados discrepantes da totalidade da população de partículas. Por isso, preferiu-se aguardar a avaliação da dissolução do IFA durante o período da análise, para subsidiar melhor a escolha.

Em relação ao tensoativo, apesar dos resultados sugerirem que os três (polissorbato 40, 60 e 80) podem apresentar desempenho adequado para a análise do IFA efavirenz, selecionou-se o polissorbato 80, principalmente por ele ser o tensoativo mais utilizado dentre os três no setor farmacêutico, para análises de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

Para a concentração de tensoativo, optou-se pela concentração 0,02% (p/v) ao invés de 0,05% (p/v) por ela ser a concentração mais baixa de tensoativo que conseguiu desaglomerar satisfatoriamente as partículas primárias, tanto para amostra EFZ-A1 como para a amostra EFZ-A2.

4.2.5 Avaliação da dissolução do IFA durante o período de análise

Os resultados obtidos na avaliação da dissolução das amostras EFZ-A1, EFZ-A2, EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1, durante o período da análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, estão apresentados no Gráfico 19. As curvas de calibração utilizadas para a realização desta etapa são apresentadas no Anexo XVII.

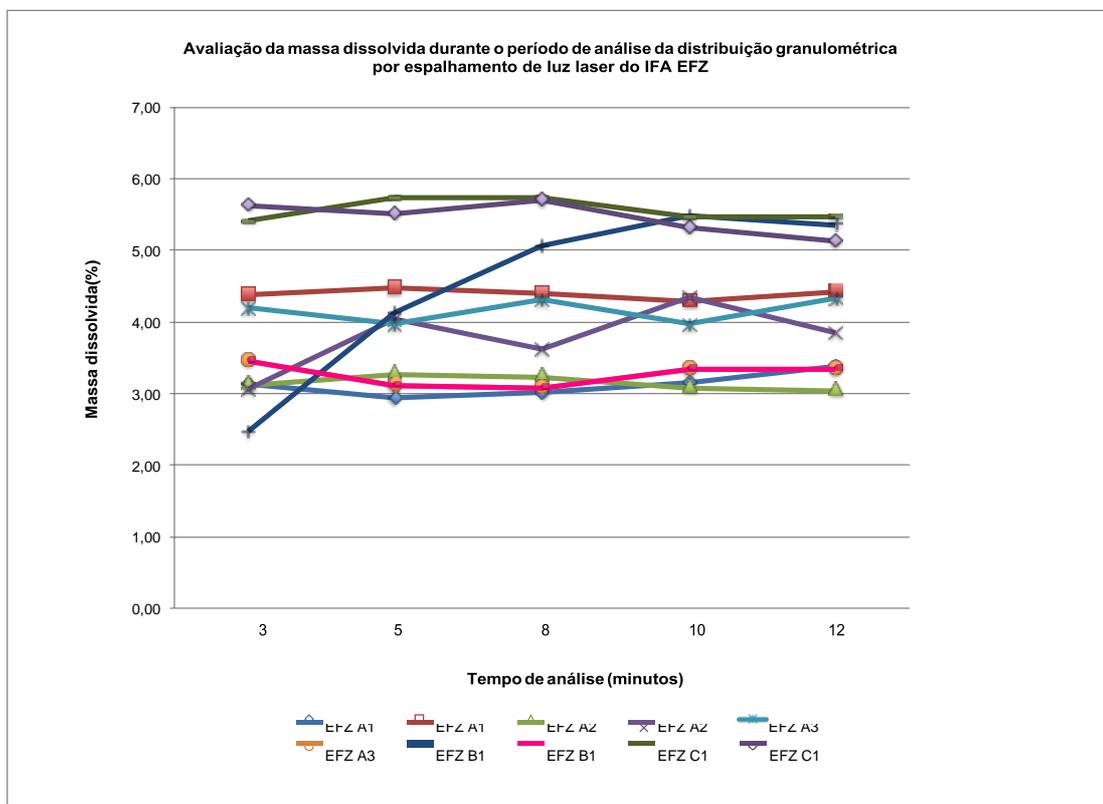


Gráfico 19. Perfil da dissolução da amostra durante a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz.

Através dos resultados obtidos para 5 amostras de efavirenz de diferentes fabricantes e lotes, verificou-se que a dissolução das amostras durante o período mapeado foi menor que 6%. Além disso, com exceção da amostra EFZ-B1, todas as amostras apresentaram um percentual de massa dissolvida praticamente constante durante todo o tempo mapeado neste ensaio.

Pelo exposto, definiu-se como 10 minutos o tempo de dispersão da amostra após a sua inserção no equipamento, mesmo sabendo-se que o tempo de 8 minutos pudesse ser efetivo na análise. Como foi possível verificar pequenos desvios nos resultados de 3 e 5 minutos durante o tratamento estatístico apresentado no item 4.2.4.1 para a amostra EFZ-A2, preferiu-se pelo tempo de 10 min a fim de garantir uma dispersão adequada das partículas em amostras diferenciadas, como por exemplo, amostras com mais eletrostática. Já o tempo de 12 minutos foi preterido com o intuito de minimizar a possibilidade de alguma amostra com característica distinta sofrer dissolução excessiva no interior da cuba do equipamento.

4.3 Validação

4.3.1 Elaboração de um protocolo de validação de metodologia de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser – dispersão em líquido – efavirenz

O protocolo de validação desenvolvido é apresentado no Anexo XVIII deste documento.

4.3.2 Análise de repetibilidade do sistema

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para cada uma das amostragens das amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1, os quais ficaram dentro dos limites estabelecidos.

Tabela 11. Resultados obtidos na etapa de repetibilidade do sistema para as amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1.

| Repetibilidade do sistema - Amostra: EFZ-A3 | | | | | | | | | | |
|--|---------|----------------|----------|----------|----------|---------|----------|-------|------------|-----------------|
| Amostragem | Corrida | Obscureção (%) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | dm (µm) | residual | span | Massa (mg) | Tempo (análise) |
| 1 | 15 | 27,17 | 0,975 | 2,544 | 8,570 | 4,162 | 0,600 | 2,985 | 22,3 | 50 |
| | 16 | 27,42 | 0,986 | 2,573 | 8,452 | 4,078 | 0,405 | 2,902 | | |
| | 17 | 27,36 | 0,983 | 2,563 | 8,461 | 4,084 | 0,448 | 2,917 | | |
| | 18 | 27,30 | 0,980 | 2,555 | 8,495 | 4,103 | 0,509 | 2,941 | | |
| | 19 | 27,24 | 0,977 | 2,551 | 8,558 | 4,152 | 0,560 | 2,972 | | |
| | 20 | 27,36 | 0,983 | 2,563 | 8,461 | 4,084 | 0,448 | 2,917 | | |
| Média | | 27,31 | 0,98 | 2,56 | 8,50 | 4,11 | 0,50 | 2,94 | | |
| DP | | | 0,00 | 0,01 | 0,05 | | | | | |
| CV (%) | | | 0,42 | 0,40 | 0,61 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Repetibilidade do sistema - Amostra: EFZ-B1 | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | Obscureção (%) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | dm (µm) | residual | span | Massa (mg) | Tempo (análise) |
| 1 | 7 | 30,01 | 1,07 | 3,48 | 9,07 | 4,39 | 0,32 | 2,30 | 22,6 | 33 |
| | 8 | 30,21 | 1,05 | 3,34 | 8,72 | 4,23 | 0,33 | 2,29 | | |
| | 9 | 30,25 | 1,05 | 3,31 | 8,63 | 4,19 | 0,33 | 2,29 | | |
| | 10 | 30,09 | 1,06 | 3,43 | 8,92 | 4,32 | 0,32 | 2,29 | | |
| | 11 | 30,15 | 1,06 | 3,38 | 8,81 | 4,28 | 0,32 | 2,29 | | |
| | 12 | 30,27 | 1,05 | 3,27 | 8,55 | 4,15 | 0,33 | 2,29 | | |
| Média | | 30,16 | 1,06 | 3,37 | 8,78 | 4,26 | 0,32 | 2,29 | | |
| DP | | | 0,01 | 0,08 | 0,19 | | | | | |
| CV (%) | | | 0,73 | 2,26 | 2,18 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Repetibilidade do sistema - Amostra: EFZ-C1 | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | Obscureção (%) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | dm (µm) | residual | span | Massa (mg) | Tempo (análise) |
| 1 | 16 | 32,47 | 0,97 | 2,34 | 5,10 | 2,74 | 0,73 | 1,78 | 22,1 | 17 |
| | 14 | 32,56 | 0,98 | 2,35 | 5,16 | 2,77 | 0,65 | 1,78 | | |
| | 13 | 32,59 | 0,98 | 2,37 | 5,20 | 2,79 | 0,61 | 1,78 | | |
| | 16 | 32,47 | 0,97 | 2,34 | 5,10 | 2,74 | 0,73 | 1,78 | | |
| | 17 | 32,43 | 0,97 | 2,31 | 5,08 | 2,72 | 0,77 | 1,78 | | |
| | 18 | 32,39 | 0,97 | 2,30 | 5,05 | 2,71 | 0,78 | 1,78 | | |
| Média | | 32,49 | 0,97 | 2,34 | 5,12 | 2,74 | 0,71 | 1,78 | | |
| DP | | | 0,01 | 0,03 | 0,05 | | | | | |
| CV (%) | | | 0,57 | 1,09 | 1,06 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |

A sobreposição das curvas de distribuição granulométrica incremental para cada uma das amostras utilizadas (EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1) encontra-se no Anexo XIX.

4.3.3 Análise de repetibilidade da metodologia

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos para cada uma das amostragens das amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1, os quais ficaram dentro dos limites estabelecidos.

Tabela 12. Resultados obtidos na etapa de repetibilidade da metodologia para as amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1.

| Repetibilidade da metodologia - Amostra: EFZ-A3 | | | | | | | | | | |
|--|----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-------------|-------------------|------------------------|
| <i>Amostragem</i> | <i>Corrida</i> | <i>Obscurção (%)</i> | <i>d10 (µm)</i> | <i>d50 (µm)</i> | <i>d90 (µm)</i> | <i>dm (µm)</i> | <i>residual</i> | <i>span</i> | <i>Massa (mg)</i> | <i>Tempo (análise)</i> |
| 1 | 252 | 35,54 | 0,94 | 2,45 | 8,63 | 4,15 | 0,34 | 3,13 | 22,9 | 40 |
| 2 | 256 | 35,67 | 0,94 | 2,46 | 8,67 | 4,03 | 0,45 | 3,15 | 23,4 | 57 |
| 3 | 260 | 30,52 | 0,97 | 2,54 | 8,85 | 4,22 | 0,33 | 3,11 | 22,2 | 13 |
| 4 | 2674 | 33,99 | 0,95 | 2,50 | 8,80 | 4,18 | 0,33 | 3,15 | 22,1 | 30 |
| 5 | 268 | 28,30 | 0,96 | 2,51 | 8,61 | 4,02 | 0,36 | 3,05 | 22,3 | 9 |
| Média | | | 0,89 | 2,30 | 5,73 | 2,91 | 0,36 | 2,11 | | |
| DP | | | 0,02 | 0,06 | 0,16 | | | | | |
| CV (%) | | | 2,24 | 2,57 | 2,70 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Repetibilidade da metodologia - Amostra: EFZ-B1 | | | | | | | | | | |
| <i>Amostragem</i> | <i>Corrida</i> | <i>Obscurção (%)</i> | <i>d10 (µm)</i> | <i>d50 (µm)</i> | <i>d90 (µm)</i> | <i>dm (µm)</i> | <i>residual</i> | <i>span</i> | <i>Massa (mg)</i> | <i>Tempo (análise)</i> |
| 1 | 48 | 32,04 | 1,06 | 3,35 | 9,43 | 4,45 | 0,30 | 2,50 | 23,5 | 31 |
| 2 | 52 | 34,50 | 1,01 | 3,08 | 8,44 | 4,04 | 0,33 | 2,41 | 24,4 | 51 |
| 3 | 56 | 21,35 | 1,17 | 3,30 | 8,01 | 4,03 | 0,59 | 2,07 | 23,2 | 33 |
| 4 | 76 | 35,20 | 1,00 | 3,07 | 8,41 | 4,02 | 0,33 | 2,41 | 24,1 | 47 |
| 5 | 80 | 31,47 | 1,02 | 3,13 | 8,44 | 4,05 | 0,37 | 2,37 | 22,6 | 15 |
| Média | | | 1,05 | 3,19 | 8,54 | 4,12 | 0,38 | 2,35 | | |
| DP | | | 0,07 | 0,13 | 0,52 | | | | | |
| CV (%) | | | 6,57 | 4,11 | 6,14 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Repetibilidade da metodologia - Amostra: EFZ-C1 | | | | | | | | | | |
| <i>Amostragem</i> | <i>Corrida</i> | <i>Obscurção (%)</i> | <i>d10 (µm)</i> | <i>d50 (µm)</i> | <i>d90 (µm)</i> | <i>dm (µm)</i> | <i>residual</i> | <i>span</i> | <i>Massa (mg)</i> | <i>Tempo (análise)</i> |
| 1 | 24 | 39,69 | 0,88 | 2,30 | 5,68 | 2,90 | 0,36 | 2,09 | 23,5 | 12 |
| 2 | 60 | 34,14 | 0,92 | 2,39 | 5,94 | 3,02 | 0,36 | 2,10 | 23,4 | 35 |
| 3 | 64 | 39,58 | 0,86 | 2,27 | 5,71 | 2,89 | 0,37 | 2,14 | 23,0 | 51 |
| 4 | 68 | 37,63 | 0,89 | 2,33 | 5,82 | 2,96 | 0,35 | 2,12 | 23,2 | 10 |
| 5 | 72 | 38,18 | 0,89 | 2,24 | 5,52 | 2,81 | 0,37 | 2,08 | 22,9 | 27 |
| Média | | 32,804 | 0,95 | 2,49 | 8,71 | 4,12 | 0,36 | 3,12 | | |
| DP | | | 0,01 | 0,03 | 0,11 | | | | | |
| CV (%) | | | 1,48 | 1,40 | 1,21 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |

A sobreposição das curvas de distribuição granulométrica incremental para a amostra utilizada (EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1) encontra-se no Anexo XX.

4.3.4 Precisão intermediária

A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos para cada uma das amostragens das amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1, os quais ficaram dentro dos limites estabelecidos.

Tabela 13. Resultados obtidos na etapa de precisão intermediária para as amostras EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1.

| Precisão intermediária - Amostra: EFZ-A3 | | | | | | | | | | |
|--|---------|----------------|----------|----------|----------|---------|----------|------|------------|-----------------|
| Amostra | Corrida | Obscureção (%) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | dm (µm) | residual | span | Massa (mg) | Tempo (análise) |
| 1 | 252 | 35,54 | 0,94 | 2,45 | 8,63 | 4,15 | 0,34 | 3,13 | 22,9 | 40 |
| 2 | 256 | 35,67 | 0,94 | 2,46 | 8,67 | 4,03 | 0,45 | 3,15 | 23,4 | 57 |
| 3 | 260 | 30,52 | 0,97 | 2,54 | 8,85 | 4,22 | 0,33 | 3,11 | 22,2 | 13 |
| 4 | 2674 | 33,99 | 0,95 | 2,50 | 8,80 | 4,18 | 0,33 | 3,15 | 22,1 | 30 |
| 5 | 268 | 28,30 | 0,96 | 2,51 | 8,61 | 4,02 | 0,36 | 3,05 | 22,3 | 9 |
| 1 | 325 | 38,55 | 0,93 | 2,40 | 8,06 | 3,83 | 0,33 | 2,96 | 24,1 | 48 |
| 2 | 329 | 36,04 | 0,94 | 2,43 | 8,14 | 3,92 | 0,33 | 2,97 | 22,5 | 21 |
| 3 | 333 | 35,74 | 0,94 | 2,43 | 8,48 | 3,94 | 0,55 | 3,10 | 22,7 | 39 |
| 4 | 337 | 36,11 | 0,93 | 2,44 | 8,68 | 4,01 | 0,53 | 3,17 | 23,2 | 56 |
| 5 | 341 | 34,39 | 1,02 | 2,49 | 8,09 | 3,85 | 0,76 | 2,84 | 22,0 | 12 |
| Média | | 34,485 | 0,95 | 2,47 | 8,50 | 4,01 | 0,43 | 3,06 | | |
| DP | | | 0,03 | 0,04 | 0,30 | | | | | |
| CV (%) | | | 2,98 | 1,69 | 3,50 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Precisão intermediária - Amostra: EFZ-B1 | | | | | | | | | | |
| 1 | 48 | 32,04 | 1,06 | 3,35 | 9,43 | 4,45 | 0,30 | 2,50 | 23,5 | 24 |
| 2 | 52 | 34,50 | 1,01 | 3,08 | 8,44 | 4,04 | 0,33 | 2,41 | 24,4 | 39 |
| 3 | 56 | 21,35 | 1,17 | 3,30 | 8,01 | 4,03 | 0,59 | 2,07 | 23,2 | 52 |
| 4 | 76 | 35,20 | 1,00 | 3,07 | 8,41 | 4,02 | 0,33 | 2,41 | 24,1 | 15 |
| 5 | 80 | 31,47 | 1,02 | 3,13 | 8,44 | 4,05 | 0,37 | 2,37 | 22,6 | 23 |
| 1 | 192 | 21,60 | 1,07 | 3,19 | 8,36 | 4,08 | 0,33 | 2,28 | 24,6 | 35 |
| 2 | 196 | 29,70 | 1,04 | 3,18 | 8,42 | 4,05 | 0,52 | 2,32 | 23,8 | 50 |
| 3 | 200 | 30,61 | 1,04 | 3,22 | 8,82 | 4,22 | 0,31 | 2,41 | 24,2 | 8 |
| 4 | 204 | 24,81 | 1,05 | 3,17 | 8,39 | 4,07 | 0,33 | 2,31 | 23,3 | 24 |
| 5 | 208 | 26,36 | 1,14 | 3,27 | 8,06 | 4,02 | 0,93 | 2,12 | 23,6 | 39 |
| Média | | 28,764 | 1,06 | 3,20 | 8,48 | 4,10 | 0,43 | 2,32 | | |
| DP | | | 0,05 | 0,09 | 0,40 | | | | | |
| CV (%) | | | 5,19 | 2,87 | 4,72 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |
| Precisão intermediária - Amostra: EFZ-C1 | | | | | | | | | | |
| 1 | 24 | 39,69 | 0,88 | 2,30 | 5,68 | 2,90 | 0,36 | 2,09 | 23,5 | 6 |
| 2 | 60 | 34,14 | 0,92 | 2,39 | 5,94 | 3,02 | 0,36 | 2,10 | 23,4 | 17 |
| 3 | 64 | 39,58 | 0,86 | 2,27 | 5,71 | 2,89 | 0,37 | 2,14 | 23,0 | 26 |
| 4 | 68 | 37,63 | 0,89 | 2,33 | 5,82 | 2,96 | 0,35 | 2,12 | 23,2 | 38 |
| 5 | 72 | 38,18 | 0,89 | 2,24 | 5,52 | 2,81 | 0,37 | 2,08 | 22,9 | 51 |
| 1 | 212 | 33,56 | 0,91 | 2,36 | 5,62 | 2,89 | 0,34 | 2,00 | 23,3 | 8 |
| 2 | 216 | 35,60 | 0,90 | 2,35 | 5,59 | 2,87 | 0,38 | 2,00 | 23,5 | 21 |
| 3 | 220 | 38,23 | 0,90 | 2,34 | 5,62 | 2,88 | 0,33 | 2,03 | 24,9 | 36 |
| 4 | 224 | 28,27 | 0,98 | 2,47 | 5,48 | 2,90 | 0,93 | 1,82 | 23,3 | 44 |
| 5 | 228 | 27,52 | 0,90 | 2,41 | 5,80 | 2,95 | 0,37 | 2,04 | 23,5 | 1 |
| Média | | 35,240 | 0,90 | 2,34 | 5,68 | 2,91 | 0,41 | 2,04 | | |
| DP | | | 0,03 | 0,07 | 0,14 | | | | | |
| CV (%) | | | 3,42 | 2,94 | 2,49 | | | | | |
| Resultado: de acordo com o limite estabelecido | | | | | | | | | | |

A sobreposição das curvas de distribuição granulométrica incremental para cada uma das amostras utilizadas (EFZ-A3, EFZ-B1 e EFZ-C1) encontra-se no Anexo XXI.

4.4 Estimativa do índice de refração da partícula de efavirenz

A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos para o índice de refração (IR) da partícula de efavirenz para as amostras EFZ-A1 e EFZ-A2. Como estes resultados são oriundos da extrapolação do índice de refração de diversas soluções de efavirenz, os valores obtidos são uma estimativa para o valor real do índice de refração da partícula. A regressão linear que foi realizada para cada um dos oito ensaios realizados encontra-se no Anexo XXII.

Tabela 14. Resultados obtidos para o índice de refração da partícula do efavirenz.

| <i>Índice de Refração - Efavirenz</i> | | |
|--|---------------|---------------|
| Solvente | EFZ A1 | EFZ A2 |
| Acetona | 1,51880 | 1,49880 |
| Acetonitrila | 1,50400 | 1,50400 |
| Álcool Isopropílico | 1,50720 | 1,50720 |
| Clorofórmio | 1,53590 | 1,53600 |
| Diclorometano | 1,52420 | 1,51420 |
| Etanol 96% | 1,50270 | 1,51270 |
| Metanol | 1,47910 | 1,47910 |
| Tolueno | 1,54620 | 1,53620 |
| Média | 1,51476 | 1,51103 |
| DP | 0,02 | 0,02 |
| CV % | 1,40 | 1,25 |

O método proposto por SAVEYN, et al. (2002), que utiliza a análise do IR do material em soluções contendo diferentes solventes e concentrações conhecidas (até 1% p/v) mostrou-se útil para a realizar uma estimativa do índice de refração do efavirenz.

Embora se saiba que a amostra em solução perde suas características físicas, foram analisadas duas amostras de efavirenz com o intuito de verificar possíveis variações no método.

Os resultados indicaram que para ambas as amostras, o coeficiente de variação entre os diferentes solventes utilizados foram bastante baixos (EFZ-A1 igual a 1,40% e EFZ-A2 igual a 1,25%).

Embora outros testes necessitam ser realizados para verificar o real impacto deste método para estimar o índice de refração das partículas na área farmacêutica,

os resultados indicam que esta abordagem pode ser promissora para auxiliar as análises de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser que utilizam modelos óticos que requerem esta informação.

5 CONCLUSÕES

A análise microscópica das 6 amostras do insumo farmacêutico ativo (IFA) efavirenz estudadas mostrou que todas as amostras possuem morfologia semelhante.

A metodologia de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz foi desenvolvida e validada, sendo que:

- O método de pasta não é satisfatório para o preparo das amostras.
- A adição de solução tensoativa sobre o pó, seguida de dispersão em banho de ultrassom, é um método adequado para o preparo das amostras.
- Dentre todas as soluções tensoativas testadas, a melhor opção é a solução de polissorbato 80 na concentração de 0,02% (p/v).
- Os parâmetros do equipamento MasterSizer 2000 (módulo Hydro2000S) que apresentam melhor desempenho são: 50% de agitação (1750 rpm) e 50% de ultrassom, durante todo o período de análise.
- O tempo mais adequado para a dispersão da amostra no equipamento antes da medição é 10 minutos.
- Na etapa de validação, os coeficientes de variação ficaram dentro dos limites previamente estabelecidos, para os quesitos repetibilidade do sistema, repetibilidade da metodologia e precisão intermediária.

Durante o procedimento de desenvolvimento e validação, foram elaborados:

- Um fluxograma que contempla as principais etapas e decisões para o desenvolvimento de metodologias de análise de distribuição granulométrica utilizando diferentes meios de dispersão e,
- Um Protocolo de Validação para metodologias de análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, utilizando dispersão em líquido.

Por fim, foi realizado um estudo inicial sobre o índice de refração da partícula de efavirenz e o mesmo foi estimado entre 1,48 e 1,54.

6 PERSPECTIVAS

Publicar os dados obtidos em congressos e periódicos.

Utilizar a estimativa do índice de refração da partícula do efavirenz obtida neste trabalho para recalculer os resultados obtidos na metodologia desenvolvida, passando do modelo ótico de Fraunhofer para o modelo de Mie.

Avaliar criticamente a diferença de resultados obtidos através dos modelos óticos de Fraunhofer e Mie.

Continuar os estudos sobre o índice de refração da partícula, com o intuito de obter no futuro uma metodologia padrão para a estimativa do índice de refração da partícula de insumos farmacêuticos e, com isso, poder utilizar, quando necessário, o modelo ótico de Mie para desenvolver metodologias de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, T. **Particle Size Measurement**. 5^a ed. London: Chapman and Hall vol. 1. 1997.

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

AMMRF – Australian Microscopy & Microanalysis Research Facility. What is scanning electron microscopy?. **Background information** - October, 2012.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR, L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 6^a ed. São Paulo: Premier. 2000. 568 p.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed. 2001. p. 677.

BELL R.; DENNIS A.; HENDRIKSEN B.; NORTH N.; SHERWOOD J. Position paper on particle sizing: Sample, preparation, method validation and data presentation. **Pharmaceutical Technology Europe**. p. 1-3. 1999.

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

BRITISH PHARMACOPEIA - BP. London. The Stationery Office, v.IV, apendex XVII B. **Particle size of powders**. 2008. p. A413-A417.

BRITAIN, H. G. What Is the “Correct” Method to Use for Particle-Size Determination?. **Pharmaceutical Technology**. p. 97-98. 2001.

BUMILLER, M. **Introduction to particle size analysis**. Webinar Horiba. 2007. Disponível em: <<http://www.horiba.com/us/en/scientific/products/particle-characterization/download-center/webinars/>>. Acesso em: 20 de dezembro de 2010.

BUMILLER, M. **Particle characterization in food industry**. Scientific Documents Horiba. Apresentação Horiba, 2009. Disponível em: <<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/AP008.pdf>>. Acesso em: Novembro de 2010.

BUMILLER, M. **Particle size in cosmetics**. Scientific Documents Horiba. Horiba, 2010. Disponível em: <<http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/AP008.pdf>>. Acesso em: Novembro de 2010.

CILAS. Fraunhofer theory. 2013. Disponível em: <http://www.particle-size.com/cilas_fraunhofer_mie.htm>. Acesso em: dezembro de 2012.

DALTIN, D. **Tensoativos – Química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Ed. Bluncher. 2011. p. 344.

DE CLERCQ, E. Antiviral drugs in current clinical use. **Journal Clinical Virology**. Vol. 30. p. 115-133. 2004.

ETZLER, F.M.; DEANNE, R. Particle size analysis: a comparison of various Methods. **Particle and Particulate System Characterization**. Vol.14. 2007. p. 278–282.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA - EP. General Tests. **Sieve test**. E.P.6.0. Cap. 2.9.12. p. 20912. 2008.
_____. General Tests, **Particle Size Analysis by Laser Light Diffraction**. E.P.6.0. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2008 p. 311-314.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA – F. BRAS. 5. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2010a. 5.2.11. **Determinação da granulometria dos pós**.
- _____. 5. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2010b. **Efavirenz**. P. 913-914.

FARMANGUINHOS. **Farmanguinhos/Fiocruz**. Disponível em: <http://www2.far.fiocruz.br/farmanguinhos/index.php?option=com_content&view=article&id=61&Itemid=76>. Acesso em maio de 2012.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. Protetores solares. **Química Nova**, Vol. 30, nº1. p. 153-158. 2007.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**. São Paulo: EDUSP. 2003. p. 690.

FONSECA, L. B. da. **Desenvolvimento e Validação de Método de Dissolução Aplicado a Suspensões Orais de Nimesulida**. Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia/Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2006. p. 150.

HACKLEY, A. V.; FERRARIS, F. C. **The Use of Nomenclature in Dispersion Science and Technology**. NIST-National Institute of Standards and Technology, Recommended Practice Guide. 960-3. 2001. p. 72.

HAUSNER, B. The role of particle size in the development of generic products. **Pharmacogenics**. p. 1-4. 2003.

HORIBA. **A guidebook to particle size analysis**. Horiba Instruments, Inc. Horiba Scientific. p. 30. 2012.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION - ICH. **Guideline Q6A, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances**. Versão 4, 1999. p. 31.

ISO 14487. **Sample preparation – Dispersing procedures for powders in liquids**. First Edition. Geneva: International Organization for Standardization (ISO). 2000. p. 25.

ISO 14488. **Particulate materials – Sampling and sample splitting for the determination of particulate properties**. First Edition. Geneva: International Organization for Standardization (ISO). 2007. p. 30.

ISO 13320. **Particle size analysis—Laser diffraction methods**. First Edition. Geneva: International Organization for Standardization (ISO). 2009. p. 51.

JILLAVENKATESA A., DAPKUNAS S.J., LUM L-S. H. **Particle size characterization**. NIST-National Institute of Standards and Technology, Recommended Practice Guide. Special publication 960-1. 2001. p. 164.

JUNIOR, J. M. C. **Polimorfismo de fármacos**. Monografia do curso de Farmácia e Bioquímica. USP. 2009.

KAWABATA Y., WADA K., NAKATANI M., YAMADA S., ONOUE S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**. Vol. 420. p. 1–10. 2011.

KIPPAX, P. Systematic Method Development for Laser Diffraction Particle Sizing. **American Laboratory**. p. 1-4. 2004.

KIPPAX, P. Appraisal of the Laser Diffraction Particle-Sizing Technique. **Pharmaceutical Technology**. p. 88-96. 2005-a.

KIPPAX, P. **Why Particle sizing?** Paint & Coatings Industry. p. 3. 2005-b.

KIPPAX, P. Optimizing the particle size of ground coffee. **Innovations in food technology**. p. 88-89. 2007.

KIPPAX, P. Measuring Particle Size Using Modern Laser Diffraction Techniques. **China Coatings Journal**. p. 30-36. 2008.

KIPPAX, P. Particle size analysis. **Pharmaceutical Technology Europe**. Volume 21, Cap. 4. p. 3. 2009.

LERKE, S. A. ADAMS, S. A. Development and Validation of a Particle Size Distribution Method for Analysis of Drug Substance. **American Pharmaceutical Review**. Vol.5, n° 3. p. 86-91. 2002.

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

MALISKA, A. M. **Microscopia electronica de varredura**. Apostila do Laboratório de Caracterização Microestrutural e Análise de Imagens. UFSC. 2012. p. 97.

MALVERN. Chocolate characterization using the Mastersizer 2000. **Application note MRK672-01**. 2001a.

MALVERN. Wet method development for laser diffraction measurements. Mastersizer 2000. **Application note MRK561-01**. 2001b.

MALVERN. Rapid refractive index determination for pharmaceutical actives. **Application note MRK529-03**. 2003.

MALVERN. Controlling Coffee Quality using Laser Diffraction. Mastersizer 2000 - **Application note MRK781-01**. 2006.

MALVERN. **Update for the MS2000 Operators guide**. United Kingdom: Malvern Instruments LTD. MAN0247. p.4-5. 1999.

MALVERN. **A Basic Guide to Particle Characterization**. Malvern instruments Worldwide. Inform white paper. p. 25. 2012.

MARSON, M. B.; ROSA, F. da. Importância do controle das características físico-químicas de insumos farmacêuticos na qualificação de fornecedores. **Revista Analytica**, São Paulo, n° 52. 2011.

McCRONE, W. C. **Physics and Chemistry of the Organic Solid State**. London: Eds. D. Fox, M. M. Labes and A. Weissberger, Interscience Publishers. Vol. 2. 1965. p. 725-767.

MERKUS, H. G. **Particle size measurements: Fundamentals, Practice, Quality**. Europa: Springer science. 2009. p. 533.

MUKHOPADHYAY, S. M. **Sample preparation for microscopic and spectroscopic characterization of solid surfaces and films**. In: Sample preparation Techniques in Analytical Chemistry. New Jersey: John Wiley & Sons. 2003. Cap. 9. p. 377-411.

NERY, C. G. C.; PIANETTI, G. A.; PIRES, M. A. S.; CAMPOS, L. M. M.; SOARES, C. D. V. Teste de dissolução para avaliação de liberação de glibenclamida em comprimidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 43, p. 413-419. 2007.

PAPINI, C. J. **Estudo comparativo de metodos de determinação do tamanho de partícula**. Dissertação de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais. Instituto de pesquisas energéticas e nucleares - IPEN. São Paulo. 2003. p. 129.

PARIKH, D. M. Recent advances in particle engineering for pharmaceutical applications. **Particle Engineering**. p. 98-103. 2011.

PINTO, E. C.; CARMO, do F. A.; HONÓRIO, T. da S.; BARROS, R. de C. da S. A.; CASTRO, H. C. R.; RODRIGUES, C. R.; ESTEVES, V. S. D.; ROCHA, H. V. A.; SOUSA, V. P.; CABRAL, L. M. Influence of the Efavirenz Micronization on Tableting and Dissolution. **Pharmaceutics**. Vol. 4, p. 430-441. 2012.

RADESCA, L.A.; MAURIN, M.B.; RABEL, S.R.; MOORE, J.R. **Novel polymorphs of efavirenz**. WO99/64405. 1999.

RAWLE, A. **Principios básicos del análisis del tamaño de partículas**. England: Malvern Instruments Ltd. Ref: WR14 1AT. p. 1-9. 2001.

SAVEYN, H.; MERMUYS, D.; THAS, O.; VAN DER MEEREN, P. Determination of the refractive index of water dispersible granules for use in laser diffraction experiments. **Particle and Particle Systems Characterisation**. Vol. 19 P. 426-432. 2002.

SIGMA ALDRICH. Product direct home. 2012. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html>>. Acesso em: Maio de 2012.

SHEKUNOV, B. Y.; CHATTOPADHYAY, P.; TONG, H. H. Y.; CHOW, A. H. L. Particle Size Analysis in Pharmaceutics: Principles, Methods and Applications. **Pharmaceutical Research**. Vol. 24, n° 2. 2006.

SHYAMAL C. Das; BEHARA, S. R. B.; BULITTA, J. B. B.; MORTON, D. A. V.; LARSON, I.; STEWART, P. J. Powder Strength Distributions for Understanding De-agglomeration of Lactose Powders. **Pharmaceutical Research**. Vol. 29. p. 2926–2935. 2012.

SIMÕES, S.; SOUSA, A.; FIGUEIREDO, M. Dissolution rate studies of pharmaceutical multisized powders – a practical approach using the Coutler method. **International Journal of Pharmaceutics**. Vol. 127. p. 283-291. 1996.

SMITH-WARD, R.S., GUMMERY, N., RAWLE, A.F. Validation Of Wet And Dry Laser Diffraction Particle Characterization Methods. **Application Note**. Malvern Instruments Ltd. 2005.

SOUZA, M. V. N.; ALMEIDA, M. V. Drogas anti-vih: passado, presente e perspectivas futuras. **Química Nova**. Vol. 26, No. 3. p. 366-372. 2003.

STANIFORTH, J. Análise do tamanho de partícula. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2001. p. 162-176.

STORPIRTIS, S. GONÇALVES, J. E., CHIANN, C. **BIOFARMACOTÉCNICA**. 1ª ed. São Paulo: Editora Guanabara Koogan. 2009. p. 352.

SUN, Z.; YA, N.; ADAMS, R.C.; FANG, S.F. Particle size specifications for solid oral dosage forms: a regulatory perspective. **American Pharmaceutical Review**. p. 68-73. 2010.

SYMPATEC. **Laser Diffraction**. Disponível em: < <http://www.sympatec.com/EN/LaserDiffraction/LaserDiffraction.html>>. Acesso em: Novembro de 2012.

TADROS, T. F. **Applied Surfactants – Principles and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH. 2005. p. 631.

THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEIA - IP. **Methods of analysis: 1. Physical and physicochemical methods: 1.12 Powder fineness and sieves**. 2011. Disponível em: < <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>>. Acesso em julho de 2012.

THE JAPANESE PHARMACOPOEIA - JP. General Tests. **Powder particle size determination**. The Ministry of Health, Labour and Welfare Ministerial Notification. No. 395, vol. XIV. Cap. 44. 2002. p.75

UNITED STATES PHARMACOPEIA - USP. General Chapters. **Laser Light Diffraction Measurement of Particle Size**. 35. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2012. Cap. 429. p. 161-165.

_____. Official monographs, **Efavirenz**. 35. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2012 p. 3010-3013.

_____. General Chapters, XXXXX. 35. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2012 p. XXXXXX.

VIANA, O. de S.; JÚNIOR, J. B.; SILVA, R. M. F.; MEDEIROS, F. P. de M.; JÚNIOR, S. G.; ABULQUERQUE, M. de M.; NETO, P. J. R. C. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de comprimidos revestidos de efavirenz: terapia anti-HIV. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 42. p. 505-511. 2006.

VILLIERS, M. M. de. Influence of cohesive properties of micronized drug powders on particle size analysis. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**. Vol. 13, no. 3. p. 191-198. 1995.

VIRDEN, A. Method Development for Laser-Diffraction Particle-Size Analysis. **Pharmaceutical Technology**. p. 100-106. 2010.

XU, R. **Particle Characterization: Laser Light Scattering Methods**. USA: Kluwer Academic Publisher. 2001. p. 403.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Scientific discussion: Efavirenz 200 mg Capsules**. WHOPAR part 6. 2011. Disponível em: <<http://apps.who.int/prequal/whopar/whoparproducts/HA438Part6v1.pdf>>. Acesso em: setembro de 2011.

YORK, P. Delineamento de formas farmacêuticas. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2001. p. 17-29.

ANEXO I

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 1

| AMOSTRA: EFZ-A1 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 1 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 25% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 200 | 21,0 | 1,132 | 3,638 | 12,580 | 17,351 | 24,266 | 29,888 | 59,016 | 5,645 | 0,275 | 3,147 |
| 2 | 204 | 20,5 | 1,113 | 3,765 | 13,371 | 18,248 | 24,977 | 30,150 | 62,209 | 5,877 | 0,300 | 3,256 |
| 3 | 208 | 23,9 | 1,069 | 3,594 | 14,299 | 19,921 | 28,218 | 35,645 | 92,136 | 6,168 | 0,252 | 3,681 |
| Média | | 21,8 | 1,105 | 3,666 | 13,417 | 18,507 | 25,820 | 31,894 | 67,787 | 5,897 | 0,276 | 3,361 |
| DP | | | 0,032 | 0,089 | 0,860 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 2,925 | 2,422 | 6,413 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 50% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 216 | 22,1 | 0,992 | 2,884 | 11,607 | 17,014 | 24,507 | 30,004 | 50,899 | 4,971 | 0,433 | 3,681 |
| 2 | 220 | 23,8 | 0,979 | 2,841 | 11,374 | 16,624 | 23,545 | 28,361 | 44,971 | 4,848 | 0,509 | 3,659 |
| 3 | 228 | 23,6 | 0,953 | 2,732 | 10,791 | 15,532 | 21,471 | 25,837 | 38,313 | 4,576 | 0,487 | 3,601 |
| Média | | 23,2 | 0,975 | 2,819 | 11,257 | 16,390 | 23,174 | 28,067 | 44,728 | 4,798 | 0,476 | 3,647 |
| DP | | | 0,020 | 0,078 | 0,420 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 2,037 | 2,779 | 3,734 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 75% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 232 | 21,2 | 0,958 | 2,691 | 10,542 | 15,036 | 20,558 | 24,050 | 33,207 | 4,464 | 0,695 | 3,561 |
| 2 | 236 | 22,9 | 0,977 | 2,789 | 11,232 | 16,023 | 21,893 | 25,629 | 38,332 | 4,705 | 0,355 | 3,677 |
| 3 | 252 | 22,6 | 0,951 | 2,716 | 12,245 | 18,610 | 27,578 | 34,395 | 60,603 | 5,106 | 0,467 | 4,159 |
| Média | | 22,2 | 0,962 | 2,732 | 11,340 | 16,556 | 23,343 | 28,025 | 44,047 | 4,758 | 0,506 | 3,799 |
| DP | | | 0,013 | 0,051 | 0,857 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,399 | 1,864 | 7,554 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

ANEXO II

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 2

| AMOSTRA: EFZ-A1 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 2 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 25% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 324 | 23,7 | 1,107 | 3,294 | 11,312 | 15,765 | 21,584 | 25,489 | 38,508 | 5,040 | 0,246 | 3,098 |
| 2 | 248 | 23,2 | 1,015 | 3,144 | 11,186 | 15,546 | 21,185 | 25,073 | 38,564 | 4,889 | 0,254 | 1,306 |
| 3 | 256 | 23,7 | 1,063 | 3,374 | 12,407 | 16,361 | 20,883 | 25,660 | 32,973 | 5,268 | 0,348 | 1,294 |
| Média | | 23,5 | 1,062 | 3,271 | 11,635 | 15,891 | 21,217 | 25,407 | 36,682 | 5,066 | 0,283 | 1,899 |
| DP | | | 0,046 | 0,117 | 0,672 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 4,334 | 3,570 | 5,772 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 50% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 260 | 23,5 | 0,954 | 2,676 | 10,288 | 14,647 | 20,029 | 23,446 | 33,057 | 4,390 | 0,871 | 3,489 |
| 2 | 264 | 24,1 | 0,978 | 2,781 | 10,636 | 14,891 | 20,034 | 23,289 | 33,307 | 4,519 | 0,751 | 3,473 |
| 3 | 268 | 24,6 | 0,966 | 2,702 | 10,128 | 14,426 | 19,684 | 23,042 | 33,309 | 4,361 | 0,624 | 3,391 |
| Média | | 24,1 | 0,966 | 2,720 | 10,351 | 14,655 | 19,916 | 23,259 | 33,224 | 4,423 | 0,749 | 3,451 |
| DP | | | 0,012 | 0,055 | 0,260 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,242 | 2,011 | 2,509 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 75% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 272 | 23,9 | 0,933 | 2,593 | 9,869 | 14,062 | 19,216 | 22,508 | 33,195 | 4,228 | 0,964 | 3,446 |
| 2 | 280 | 24,4 | 0,951 | 2,762 | 10,545 | 15,088 | 21,154 | 29,658 | 42,368 | 4,562 | 0,309 | 3,469 |
| 3 | 284 | 24,2 | 0,967 | 2,741 | 10,829 | 15,594 | 22,311 | 33,129 | 52,062 | 4,677 | 0,334 | 3,598 |
| Média | | 24,2 | 0,954 | 2,699 | 10,414 | 14,915 | 20,894 | 28,432 | 42,542 | 4,489 | 0,536 | 3,504 |
| DP | | | 0,018 | 0,092 | 0,493 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,903 | 3,413 | 4,735 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

ANEXO III

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A1 Grupo 3

| AMOSTRA: EFZ-A1 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 3 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 25% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 328 | 22.1 | 1,054 | 3,355 | 11,197 | 11,197 | 19,463 | 22,225 | 28,663 | 4,954 | 0,382 | 3,024 |
| 2 | 292 | 22.6 | 1,120 | 3,242 | 10,549 | 14,448 | 20,020 | 24,704 | 59,096 | 4,879 | 0,908 | 2,908 |
| 3 | 332 | 21.2 | 1,093 | 3,445 | 11,885 | 16,718 | 24,592 | 32,890 | 88,203 | 5,529 | 0,251 | 3,132 |
| Média | | 22.0 | 1,089 | 3,347 | 11,210 | 14,121 | 21,358 | 26,606 | 58,654 | 5,121 | 0,514 | 3,021 |
| DP | | | 0,033 | 0,102 | 0,668 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 3,047 | 3,039 | 5,960 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 50% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 336 | 23.0 | 0,962 | 2,849 | 11,205 | 15,792 | 21,896 | 26,473 | 44,945 | 4,775 | 0,312 | 3,595 |
| 2 | 340 | 22.0 | 1,040 | 3,181 | 12,766 | 18,543 | 29,224 | 40,737 | 71,069 | 5,686 | 0,482 | 3,687 |
| 3 | 308 | 24.7 | 0,995 | 2,944 | 12,159 | 17,914 | 27,154 | 36,173 | 81,805 | 5,331 | 0,293 | 3,793 |
| Média | | 23.2 | 0,999 | 2,991 | 12,043 | 17,416 | 26,091 | 34,461 | 65,940 | 5,264 | 0,362 | 3,692 |
| DP | | | 0,039 | 0,171 | 0,787 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 3,919 | 5,716 | 6,534 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 75% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 312 | 23.0 | 0,982 | 2,658 | 9,906 | 14,274 | 20,758 | 26,824 | 59,990 | 4,443 | 0,793 | 3,357 |
| 2 | 316 | 24.3 | 0,953 | 2,735 | 10,712 | 15,153 | 20,703 | 24,249 | 33,247 | 4,532 | 0,404 | 3,568 |
| 3 | 344 | 20.2 | 0,979 | 2,830 | 10,991 | 15,759 | 22,283 | 27,305 | 51,651 | 4,751 | 0,307 | 3,538 |
| Média | | 22.5 | 0,971 | 2,741 | 10,536 | 15,062 | 21,248 | 26,126 | 48,296 | 4,575 | 0,501 | 3,488 |
| DP | | | 0,016 | 0,086 | 0,563 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,642 | 3,143 | 5,347 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

ANEXO IV

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 1

| AMOSTRA: EFZ-A2 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 1 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 25% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 92 | 24,4 | 1,043 | 2,883 | 7,092 | 9,022 | 12,015 | 15,107 | 58,853 | 3,727 | 0,620 | 2,098 |
| 2 | 96 | 22,5 | 0,975 | 2,849 | 7,024 | 8,707 | 10,823 | 12,322 | 18,161 | 3,543 | 0,305 | 2,123 |
| 3 | 100 | 22,4 | 1,015 | 3,059 | 7,164 | 8,704 | 10,522 | 11,664 | 15,613 | 3,659 | 0,409 | 2,010 |
| Média | | 23,1 | 1,011 | 2,930 | 7,093 | 8,811 | 11,120 | 13,031 | 30,876 | 3,643 | 0,445 | 2,077 |
| DP | | | 0,034 | 0,113 | 0,070 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 3,380 | 3,847 | 0,987 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 50% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 104 | 23,5 | 0,904 | 2,353 | 5,202 | 6,256 | 7,478 | 8,256 | 9,959 | 2,768 | 0,348 | 1,811 |
| 2 | 108 | 22,8 | 0,975 | 2,409 | 5,215 | 6,244 | 7,442 | 8,231 | 9,957 | 2,806 | 0,349 | 1,760 |
| 3 | 112 | 22,6 | 1,021 | 2,494 | 5,975 | 10,411 | 213,308 | 249,214 | 323,090 | 12,696 | 0,413 | 1,986 |
| Média | | 23,0 | 0,967 | 2,419 | 5,464 | 7,637 | 76,075 | 88,567 | 114,335 | 6,090 | 0,370 | 1,852 |
| DP | | | 0,059 | 0,071 | 0,443 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 6,098 | 2,935 | 8,100 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 25% - 75% ultrassom (Combinação 1 - C1) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 116 | 25,1 | 1,009 | 2,299 | 4,851 | 5,821 | 6,984 | 7,763 | 9,927 | 2,669 | 0,357 | 1,671 |
| 2 | 120 | 23,0 | 1,077 | 2,499 | 5,291 | 6,325 | 7,535 | 8,316 | 11,219 | 2,897 | 0,359 | 1,686 |
| 3 | 124 | 22,6 | 1,021 | 2,351 | 4,957 | 5,933 | 7,093 | 7,865 | 9,934 | 2,724 | 0,342 | 1,674 |
| Média | | 23,6 | 1,036 | 2,383 | 5,033 | 6,026 | 7,204 | 7,981 | 10,360 | 2,763 | 0,353 | 1,677 |
| DP | | | 0,036 | 0,104 | 0,230 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 3,505 | 4,355 | 4,563 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

ANEXO V

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 2

| AMOSTRA: EFZ-A2 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 2 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 25% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 128 | 22,600 | 0,993 | 2,643 | 6,052 | 7,302 | 8,713 | 9,548 | 11,576 | 3,146 | 0,936 | 1,914 |
| 2 | 132 | 20,300 | 1,017 | 2,686 | 6,181 | 7,509 | 9,092 | 10,139 | 13,384 | 3,219 | 0,326 | 1,923 |
| 3 | 136 | 21,400 | 0,980 | 2,782 | 6,753 | 8,278 | 10,073 | 11,221 | 14,606 | 3,408 | 0,322 | 2,075 |
| Média | | 21,4 | 0,997 | 2,704 | 6,329 | 7,696 | 9,293 | 10,303 | 13,189 | 3,258 | 0,528 | 1,971 |
| DP | | | 0,019 | 0,071 | 0,373 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,883 | 2,632 | 5,895 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 50% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 140 | 21,000 | 0,995 | 2,313 | 4,877 | 5,835 | 6,973 | 7,730 | 9,919 | 2,678 | 0,339 | 1,678 |
| 2 | 144 | 22,700 | 0,970 | 2,287 | 4,877 | 5,848 | 7,011 | 7,797 | 11,186 | 2,661 | 0,370 | 1,709 |
| 3 | 148 | 24,800 | 0,985 | 2,331 | 4,960 | 5,936 | 7,091 | 7,857 | 9,932 | 2,705 | 0,346 | 1,705 |
| Média | | 22,8 | 0,983 | 2,310 | 4,905 | 5,873 | 7,025 | 7,795 | 10,346 | 2,681 | 0,352 | 1,697 |
| DP | | | 0,013 | 0,022 | 0,048 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,280 | 0,957 | 0,977 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 50% - 75% ultrassom (Combinação 2 - C2) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 152 | 20,200 | 0,961 | 2,221 | 4,667 | 5,550 | 6,537 | 7,120 | 8,554 | 2,560 | 0,522 | 1,669 |
| 2 | 156 | 22,000 | 0,987 | 2,287 | 4,775 | 5,663 | 6,646 | 7,217 | 8,561 | 2,626 | 0,916 | 1,656 |
| 3 | 160 | 23,000 | 0,980 | 2,351 | 4,987 | 5,915 | 6,931 | 7,504 | 9,649 | 2,710 | 0,841 | 1,704 |
| Média | | 21,7 | 0,976 | 2,286 | 4,810 | 5,709 | 6,705 | 7,280 | 8,921 | 2,632 | 0,760 | 1,676 |
| DP | | | 0,013 | 0,065 | 0,163 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,378 | 2,843 | 3,385 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

ANEXO VI

Avaliação dos parâmetros de agitação e ultrassom para a amostra EFZ-A2 Grupo 3

| AMOSTRA: EFZ-A2 | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| Grupo 3 | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 25% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 164 | 23.600 | 1,024 | 3,018 | 7,137 | 8,726 | 10,653 | 11,948 | 17,089 | 3,643 | 0,300 | 2,026 |
| 2 | 168 | 23.100 | 1,058 | 3,091 | 7,250 | 8,760 | 10,421 | 11,363 | 13,484 | 3,695 | 0,388 | 2,003 |
| 3 | 172 | 22.900 | 1,011 | 3,028 | 7,848 | 9,745 | 11,899 | 13,154 | 16,382 | 3,826 | 0,426 | 2,258 |
| Média | | 23,2 | 1,031 | 3,046 | 7,412 | 9,077 | 10,991 | 12,155 | 15,652 | 3,721 | 0,371 | 2,096 |
| DP | | | 0,024 | 0,040 | 0,382 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 2,354 | 1,299 | 5,155 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 50% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 176 | 23.100 | 1,025 | 2,396 | 4,933 | 5,822 | 6,793 | 7,332 | 8,567 | 2,727 | 0,964 | 1,631 |
| 2 | 348 | 22.200 | 0,946 | 2,394 | 5,419 | 6,578 | 7,957 | 8,871 | 11,530 | 2,854 | 0,337 | 1,868 |
| 3 | 184 | 23.500 | 0,984 | 2,337 | 4,872 | 5,761 | 6,722 | 7,277 | 8,564 | 2,673 | 0,642 | 1,664 |
| Média | | 22,9 | 0,985 | 2,376 | 5,075 | 6,054 | 7,157 | 7,827 | 9,554 | 2,751 | 0,648 | 1,721 |
| DP | | | 0,040 | 0,034 | 0,300 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 4,011 | 1,410 | 5,907 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |
| Agitação em 75% - 75% ultrassom (Combinação 3 - C3) | | | | | | | | | | | | |
| Amostragem | Corrida | massa (mg) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d98 (µm) | d99 (µm) | d100 µm | dm (µm) | residual | span |
| 1 | 188 | 23.000 | 0,940 | 2,177 | 4,606 | 5,533 | 6,662 | 7,437 | 11,122 | 2,530 | 0,363 | 1,684 |
| 2 | 192 | 21.900 | 0,962 | 2,221 | 4,626 | 5,499 | 6,481 | 7,063 | 8,549 | 2,550 | 0,936 | 1,650 |
| 3 | 196 | 23.100 | 0,962 | 2,259 | 4,738 | 5,630 | 6,623 | 7,201 | 8,560 | 2,597 | 0,555 | 1,672 |
| Média | | 22,7 | 0,955 | 2,219 | 4,657 | 5,554 | 6,589 | 7,234 | 9,410 | 2,559 | 0,618 | 1,669 |
| DP | | | 0,013 | 0,041 | 0,071 | | | | | | | |
| CV(%) | | | 1,330 | 1,849 | 1,528 | | | | | | | |
| Gráficos | | | | | | | | | | | | |

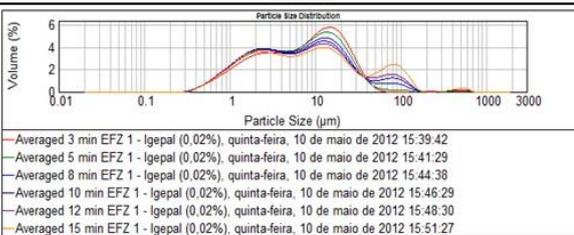
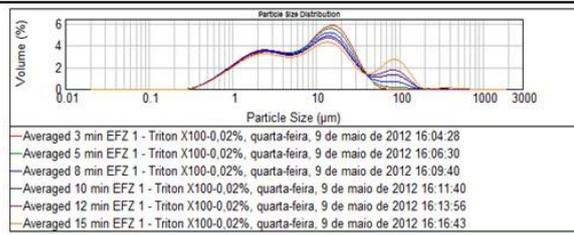
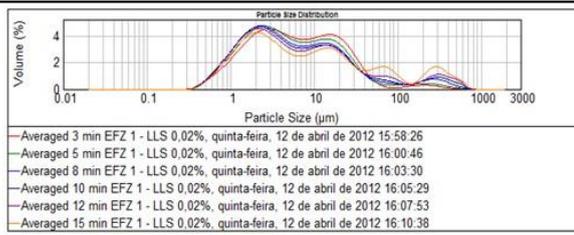
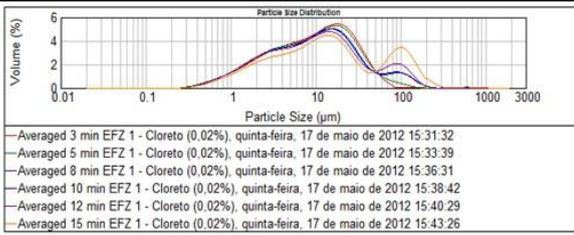
ANEXO VII

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos (polissorbatos) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)

| Avaliação de diferentes tensoativos (0,02% - m/v) | | | | | | |
|---|----------|---------------|----------|----------|-----------|--|
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 20 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): 22,800 | | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,114 | 3,852 | 16,459 | 48,606 | 183,602 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged - 3 min - EFZ 1 - Polissorb 20 - 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 16:26:30 Averaged - 5 min - EFZ1 - Polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:27:47 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:30:28 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:33:26 Averaged - 12 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:34:45 Averaged 15 min - EFZ1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:37:38</p> |
| 5 | 1,064 | 3,401 | 15,069 | 25,476 | 369,375 | |
| 8 | 1,033 | 3,165 | 14,760 | 31,304 | 278,378 | |
| 10 | 1,014 | 3,036 | 13,192 | 19,073 | 88,082 | |
| 12 | 1,008 | 3,016 | 13,371 | 19,596 | 88,261 | |
| 15 | 1,001 | 3,015 | 13,746 | 20,666 | 96,495 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): 22,800 | | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,028 | 3,198 | 11,484 | 15,951 | 49,864 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min - EFZ1 - Polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:21:30 Averaged 5 min - EFZ1 - polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:23:25 Averaged 8 min EFZ1 - polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:26:28 Averaged 10 min EFZ 1 - polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:28:35 Averaged 12 min EFZ 1 - polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:30:28 Averaged 15 min - EFZ 1 - polissorb 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:33:27</p> |
| 5 | 0,693 | 2,937 | 10,915 | 15,513 | 50,916 | |
| 8 | 0,967 | 2,774 | 10,641 | 15,280 | 49,547 | |
| 10 | 0,957 | 2,726 | 10,598 | 15,243 | 50,845 | |
| 12 | 0,950 | 2,697 | 10,570 | 15,200 | 52,373 | |
| 15 | 0,944 | 2,678 | 10,579 | 15,203 | 54,225 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): 22,800 | | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,011 | 3,104 | 11,399 | 16,171 | 52,024 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:32:56 Averaged 5 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:35:30 Averaged 8 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:37:54 Averaged 10 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:39:43 Averaged 12 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:41:37 Averaged 15 min - EFZ1 polissorb 60 0,02%, sexta-feira, 8 de junho de 2012 15:44:49</p> |
| 5 | 0,974 | 2,840 | 10,794 | 15,604 | 50,896 | |
| 8 | 0,952 | 2,709 | 10,556 | 15,350 | 47,303 | |
| 10 | 0,942 | 2,661 | 10,499 | 15,290 | 48,507 | |
| 12 | 0,934 | 2,625 | 10,453 | 15,227 | 48,448 | |
| 15 | 0,925 | 2,591 | 10,400 | 15,118 | 47,212 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): 22,800 | | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,091 | 3,382 | 11,961 | 16,167 | 34,380 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:30:34 Averaged 5 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:32:41 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:35:26 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:38:13 Averaged 12 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:39:40 Averaged 15 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:42:28</p> |
| 5 | 1,059 | 3,154 | 11,440 | 15,699 | 34,837 | |
| 8 | 1,037 | 3,017 | 11,327 | 15,721 | 33,283 | |
| 10 | 1,027 | 2,974 | 11,347 | 15,780 | 33,284 | |
| 12 | 1,025 | 2,977 | 11,528 | 16,136 | 39,571 | |
| 15 | 1,021 | 2,969 | 11,580 | 16,293 | 42,065 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 85 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): 22,800 | | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,309 | 4,794 | 15,497 | 20,194 | 259,456 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:31:27 Averaged 5 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:33:25 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:36:38 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:38:43 Averaged 12 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:40:40 Averaged 15 min - EFZ 1 - polissorb 85 0,02%, segunda-feira, 9 de abril de 2012 14:43:29</p> |
| 5 | 1,297 | 4,643 | 15,648 | 20,500 | 280,230 | |
| 8 | 1,325 | 4,842 | 16,376 | 21,539 | 287,244 | |
| 10 | 1,362 | 5,128 | 17,329 | 23,295 | 464,622 | |
| 12 | 1,412 | 5,543 | 19,647 | 68,149 | 691,408 | |
| 15 | 1,445 | 5,688 | 17,645 | 23,205 | 499,563 | |

ANEXO VIII

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)

| Avaliação de diferentes tensoativos (0,02% - m/v) | | | | | | |
|---|----------|---------------|----------|----------|-----------|--|
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Igepal® (0,02%) | | | Gráfico | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |  <p>Particle size distribution graph for Igepal® (0,02%) showing Volume (%) vs Particle Size (µm) on a log scale. The graph displays five curves corresponding to different analysis times: 3, 5, 8, 10, 12, and 15 minutes. The curves show a bimodal distribution with peaks around 10-20 µm and 100-200 µm.</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:39:42 Averaged 5 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:41:29 Averaged 8 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:44:38 Averaged 10 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:46:29 Averaged 12 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:48:30 Averaged 15 min EFZ 1 - Igepal (0,02%), quinta-feira, 10 de maio de 2012 15:51:27 |
| 3 | 1,255 | 7,572 | 24,560 | 30,594 | 261,613 | |
| 5 | 1,187 | 6,629 | 24,088 | 31,234 | 135,378 | |
| 8 | 1,165 | 6,446 | 28,849 | 51,979 | 329,421 | |
| 10 | 1,167 | 6,557 | 37,692 | 72,475 | 332,819 | |
| 15 | 1,208 | 7,677 | 74,378 | 104,617 | 346,407 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Triton X-100 (0,02%) | | | Gráfico | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |  <p>Particle size distribution graph for Triton X-100 (0,02%) showing Volume (%) vs Particle Size (µm) on a log scale. The graph displays five curves corresponding to different analysis times: 3, 5, 8, 10, 12, and 15 minutes. The curves show a bimodal distribution with peaks around 10-20 µm and 100-200 µm.</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:04:28 Averaged 5 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:06:30 Averaged 8 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:09:40 Averaged 10 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:11:40 Averaged 12 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:13:56 Averaged 15 min EFZ 1 - Triton X100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 16:16:43 |
| 3 | 1,239 | 7,935 | 25,819 | 32,044 | 63,426 | |
| 5 | 1,207 | 7,470 | 26,056 | 33,457 | 137,799 | |
| 8 | 1,198 | 7,413 | 29,574 | 46,602 | 160,124 | |
| 10 | 1,217 | 7,847 | 41,011 | 74,487 | 249,713 | |
| 15 | 1,281 | 9,292 | 80,744 | 107,563 | 458,393 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Lauril Sulfato de Sódio - LSS (0,02%) | | | Gráfico | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |  <p>Particle size distribution graph for Lauril Sulfato de Sódio - LSS (0,02%) showing Volume (%) vs Particle Size (µm) on a log scale. The graph displays five curves corresponding to different analysis times: 3, 5, 8, 10, 12, and 15 minutes. The curves show a bimodal distribution with peaks around 10-20 µm and 100-200 µm.</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 15:58:26 Averaged 5 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 16:00:46 Averaged 8 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 16:03:30 Averaged 10 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 16:05:29 Averaged 12 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 16:07:53 Averaged 15 min EFZ 1 - LLS 0,02%, quinta-feira, 12 de abril de 2012 16:10:38 |
| 3 | 1,224 | 5,730 | 28,036 | 39,535 | 467,521 | |
| 5 | 1,154 | 4,968 | 29,387 | 66,738 | 495,922 | |
| 8 | 1,115 | 4,847 | 53,983 | 140,975 | 628,387 | |
| 10 | 1,102 | 4,932 | 65,147 | 207,946 | 615,536 | |
| 15 | 1,185 | 8,587 | 195,413 | 261,309 | 463,138 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Cloreto de cetil trimetil amônio - CCTA (0,02%) | | | Gráfico | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |  <p>Particle size distribution graph for Cloreto de cetil trimetil amônio - CCTA (0,02%) showing Volume (%) vs Particle Size (µm) on a log scale. The graph displays five curves corresponding to different analysis times: 3, 5, 8, 10, 12, and 15 minutes. The curves show a bimodal distribution with peaks around 10-20 µm and 100-200 µm.</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:31:32 Averaged 5 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:33:39 Averaged 8 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:36:31 Averaged 10 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:38:42 Averaged 12 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:40:29 Averaged 15 min EFZ 1 - Cloreto (0,02%), quinta-feira, 17 de maio de 2012 15:43:26 |
| 3 | 1,936 | 11,739 | 28,925 | 35,548 | 119,705 | |
| 5 | 2,102 | 11,684 | 31,110 | 40,886 | 130,278 | |
| 8 | 2,365 | 12,061 | 48,762 | 72,251 | 317,785 | |
| 10 | 2,394 | 11,654 | 50,702 | 74,349 | 153,419 | |
| 15 | 3,013 | 15,592 | 92,256 | 116,595 | 258,121 | |

ANEXO IX

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos (polissorbatos) na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)

| Avaliação de diferentes tensoativos (0,02% - m/v) | | | | | | |
|---|----------|----------|---------------|----------|-----------|---------|
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 20 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22.800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 0,972 | 2,985 | 8,960 | 12,194 | 20,944 | |
| 5 | 0,935 | 2,653 | 7,438 | 10,218 | 61,527 | |
| 8 | 0,906 | 2,419 | 6,532 | 9,335 | 46,468 | |
| 10 | 0,897 | 2,355 | 6,394 | 9,720 | 60,630 | |
| 12 | 0,889 | 2,298 | 6,229 | 15,774 | 64,154 | |
| 15 | 0,883 | 2,254 | 6,280 | 23,305 | 72,547 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22.800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 0,980 | 2,845 | 7,049 | 8,715 | 17,728 | |
| 5 | 0,948 | 2,564 | 6,044 | 7,373 | 13,010 | |
| 8 | 0,948 | 2,359 | 5,271 | 6,378 | 10,836 | |
| 10 | 0,936 | 2,280 | 5,037 | 6,754 | 10,132 | |
| 12 | 0,935 | 2,230 | 4,871 | 5,885 | 9,490 | |
| 15 | 0,943 | 2,194 | 4,718 | 5,694 | 9,887 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22.800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 0,947 | 2,703 | 6,499 | 6,958 | 14,083 | |
| 5 | 0,918 | 2,473 | 5,816 | 7,106 | 12,172 | |
| 8 | 0,898 | 2,318 | 5,355 | 6,531 | 11,976 | |
| 10 | 0,889 | 2,247 | 5,153 | 6,289 | 10,798 | |
| 12 | 0,882 | 2,201 | 5,036 | 6,157 | 10,995 | |
| 15 | 0,874 | 2,150 | 4,897 | 5,994 | 10,874 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22.800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 0,979 | 2,820 | 7,108 | 8,900 | 19,781 | |
| 5 | 0,941 | 2,556 | 6,157 | 7,591 | 14,580 | |
| 8 | 0,939 | 2,379 | 5,469 | 6,685 | 12,161 | |
| 10 | 0,934 | 2,309 | 5,249 | 6,392 | 10,976 | |
| 12 | 0,919 | 2,257 | 5,108 | 6,222 | 10,976 | |
| 15 | 0,911 | 2,214 | 5,007 | 6,110 | 11,069 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 85 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22.800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 1,123 | 3,313 | 9,015 | 12,513 | 174,188 | |
| 5 | 1,102 | 2,928 | 7,394 | 10,174 | 166,959 | |
| 8 | 1,070 | 2,679 | 6,313 | 8,004 | 40,323 | |
| 10 | 1,081 | 2,599 | 5,916 | 7,442 | 27,778 | |
| 12 | 1,109 | 2,573 | 5,711 | 7,158 | 37,179 | |
| 15 | 1,124 | 2,564 | 5,627 | 7,056 | 34,106 | |

ANEXO X

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes tensoativos na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)

| Avaliação de diferentes tensoativos (0,02% - m/v) | | | | | | | |
|---|----------|---------------|----------|----------|-----------|--|---------|
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | | |
| Igepal® (0,02%) | | | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Averaged 3 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:04:28 Averaged 5 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:06:28 Averaged 8 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:09:26 Averaged 10 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:11:28 Averaged 12 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:13:32 Averaged 15 min EFZ 2 - Igepal (0,02%), terça-feira, 15 de maio de 2012 16:16:41</p> | |
| 3 | 1,269 | 9,079 | 30,195 | 38,616 | 454,911 | | |
| 5 | 1,179 | 7,647 | 31,397 | 111,820 | 523,557 | | |
| 8 | 1,171 | 7,225 | 64,670 | 193,840 | 568,218 | | |
| 10 | 1,173 | 7,681 | 159,376 | 230,719 | 599,861 | | |
| 15 | 1,229 | 9,683 | 189,000 | 331,061 | 845,746 | | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | | |
| Triton X-100 (0,02%) | | | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Averaged Result 3min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 14:57:26 Averaged Result 5min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 14:59:31 Averaged Result 8min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 15:02:34 Averaged Result 10min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 15:04:39 Averaged Result 12min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 15:06:38 Averaged Result 15min EFZ-A2 - TritonX100-0,02%, quarta-feira, 9 de maio de 2012 15:09:33</p> | |
| 3 | 1,135 | 7,011 | 25,613 | 32,034 | 127,647 | | |
| 5 | 1,073 | 5,813 | 24,490 | 32,437 | 334,784 | | |
| 8 | 1,034 | 5,082 | 29,685 | 56,579 | 300,807 | | |
| 10 | 1,026 | 4,951 | 40,577 | 74,138 | 198,502 | | |
| 15 | 1,048 | 5,605 | 82,244 | 116,582 | 374,213 | | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | | |
| Lauril Sulfato de Sódio - LSS (0,02%) | | | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Averaged 3 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:16:37 Averaged 5 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:19:43 Averaged 8 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:21:48 Averaged 10 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:23:36 Averaged 12 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:25:33 Averaged 15 min EFZ 2 - LLS 0,02%, quinta-feira, 10 de maio de 2012 13:28:34</p> | |
| 3 | 1,121 | 5,047 | 29,185 | 38,046 | 107,559 | | |
| 5 | 1,052 | 4,016 | 25,068 | 34,703 | 159,216 | | |
| 8 | 1,013 | 3,554 | 23,761 | 35,955 | 197,217 | | |
| 10 | 1,000 | 3,422 | 24,894 | 45,073 | 210,112 | | |
| 15 | 1,004 | 3,567 | 51,031 | 93,471 | 239,703 | | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | | |
| Cloreto de cetil trimetil amônio - CCTA (0,02%) | | | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Averaged 3 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 16:55:43 Averaged 5 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 16:57:41 Averaged 8 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 17:00:57 Averaged 10 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 17:02:49 Averaged 12 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 17:04:26 Averaged 15 min EFZ 2 - Cloreto (0,02%), sexta-feira, 25 de maio de 2012 17:07:32</p> | |
| 3 | 1,217 | 5,222 | 13,513 | 16,943 | 134,633 | | |
| 5 | 1,150 | 4,518 | 12,078 | 16,202 | 160,774 | | |
| 8 | 1,119 | 4,129 | 13,964 | 91,871 | 206,191 | | |
| 10 | 1,113 | 4,032 | 36,247 | 106,893 | 235,975 | | |
| 15 | 1,104 | 3,927 | 68,685 | 112,365 | 274,297 | | |

ANEXO XI

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 40 | | | | | | |
|--|----------|----------|---------------|----------|-----------|--|
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,01%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p> Averaged 3 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:39:25 Averaged 5 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:41:34 Averaged 8 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:44:27 Averaged 10 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:46:36 Averaged 12 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:48:31 Averaged 15 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,01%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 18:51:24 </p> |
| 3 | 1,025 | 3,191 | 11,355 | 15,938 | 47,592 | |
| 5 | 0,987 | 2,906 | 10,637 | 15,317 | 47,252 | |
| 8 | 0,955 | 2,710 | 10,248 | 15,015 | 45,775 | |
| 10 | 0,944 | 2,651 | 10,169 | 14,949 | 45,763 | |
| 12 | 0,935 | 2,606 | 10,099 | 14,863 | 45,661 | |
| 15 | 0,923 | 2,575 | 9,972 | 14,643 | 45,348 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p> Averaged 3 min - EFZ1 - Polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:21:30 Averaged 5 min - EFZ1 - polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:23:25 Averaged 8 min EFZ1 - polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:26:28 Averaged 10 min EFZ 1 - polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:28:35 Averaged 12 min EFZ 1 - polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:30:28 Averaged 15 min - EFZ 1 - polissorbato 40 0,02%, terça-feira, 10 de abril de 2012 15:33:27 </p> |
| 3 | 1,028 | 3,198 | 11,484 | 15,951 | 49,864 | |
| 5 | 0,693 | 2,937 | 10,915 | 15,513 | 50,916 | |
| 8 | 0,967 | 2,774 | 10,641 | 15,280 | 49,547 | |
| 10 | 0,957 | 2,726 | 10,598 | 15,243 | 50,845 | |
| 12 | 0,950 | 2,697 | 10,570 | 15,200 | 52,373 | |
| 15 | 0,944 | 2,678 | 10,579 | 15,203 | 54,225 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,05%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p> Averaged 3 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:07:38 Averaged 5 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:09:50 Averaged 8 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:12:26 Averaged 10 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:14:29 Averaged 12 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:16:33 Averaged 15 min EFZ 1 - Polissorbato 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 14:19:27 </p> |
| 3 | 1,034 | 3,268 | 11,440 | 15,990 | 49,204 | |
| 5 | 0,997 | 2,963 | 10,916 | 15,678 | 47,600 | |
| 8 | 0,969 | 2,795 | 10,722 | 15,582 | 47,020 | |
| 10 | 0,958 | 2,734 | 10,645 | 15,481 | 47,420 | |
| 12 | 0,949 | 2,698 | 10,666 | 15,539 | 47,362 | |
| 15 | 0,939 | 2,663 | 10,611 | 15,411 | 46,915 | |

ANEXO XII

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 60 | | | | | | |
|--|----------|----------|---------------|----------|-----------|---------|
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,01%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 1,077 | 3,540 | 13,374 | 18,360 | 45,346 | |
| 5 | 1,030 | 3,148 | 12,117 | 17,198 | 50,801 | |
| 8 | 0,988 | 2,846 | 11,022 | 16,100 | 49,282 | |
| 10 | 0,971 | 2,748 | 10,701 | 15,736 | 47,845 | |
| 12 | 0,960 | 2,686 | 10,566 | 15,617 | 48,033 | |
| 15 | 0,949 | 2,634 | 10,618 | 15,941 | 78,244 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 1,011 | 3,104 | 11,399 | 16,171 | 52,024 | |
| 5 | 0,974 | 2,840 | 10,794 | 15,604 | 50,896 | |
| 8 | 0,952 | 2,709 | 10,556 | 15,350 | 47,303 | |
| 10 | 0,942 | 2,661 | 10,499 | 15,290 | 48,507 | |
| 12 | 0,934 | 2,625 | 10,453 | 15,227 | 48,448 | |
| 15 | 0,925 | 2,591 | 10,400 | 15,118 | 47,212 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,05%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | |
| 3 | 1,108 | 3,496 | 11,698 | 16,068 | 48,576 | |
| 5 | 1,067 | 3,180 | 11,263 | 15,830 | 48,078 | |
| 8 | 1,040 | 3,027 | 11,384 | 16,118 | 45,773 | |
| 10 | 1,028 | 2,970 | 11,401 | 16,216 | 46,734 | |
| 12 | 1,024 | 3,004 | 11,917 | 16,916 | 54,029 | |
| 15 | 1,003 | 2,872 | 11,021 | 15,657 | 43,370 | |

ANEXO XIII

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A1)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 80 | | | | | | |
|--|----------|----------|----------|----------|-----------|--|
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,01%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,073 | 3,722 | 14,943 | 19,943 | 43,087 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:02:31 Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:05:08 Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:07:36 Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:09:41 Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:11:46 Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 80 (0,01%), quinta-feira, 11 de outubro de 2012 10:14:32</p> |
| 5 | 1,014 | 3,180 | 12,877 | 17,786 | 43,024 | |
| 8 | 0,975 | 2,879 | 12,093 | 17,479 | 50,354 | |
| 10 | 0,961 | 2,794 | 12,023 | 17,709 | 56,511 | |
| 12 | 0,950 | 2,728 | 11,978 | 17,943 | 59,655 | |
| 15 | 0,940 | 2,681 | 12,182 | 18,961 | 62,787 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,02%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,091 | 3,382 | 11,961 | 16,167 | 34,380 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:30:34 Averaged 5 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:32:41 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:35:26 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:38:13 Averaged 12 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:39:40 Averaged 15 min - EFZ 1 - polissorb 80 0,02%, quarta-feira, 10 de outubro de 2012 15:42:28</p> |
| 5 | 1,059 | 3,154 | 11,440 | 15,699 | 34,837 | |
| 8 | 1,037 | 3,017 | 11,327 | 15,721 | 33,283 | |
| 10 | 1,027 | 2,974 | 11,347 | 15,780 | 33,284 | |
| 12 | 1,025 | 2,977 | 11,528 | 16,136 | 39,571 | |
| 15 | 1,021 | 2,969 | 11,580 | 16,293 | 42,065 | |
| AMOSTRA: EFZ-1 | | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,05%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,039 | 3,212 | 11,285 | 15,997 | 55,717 | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <p>Averaged 3 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 14:56:39 Averaged 5 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 14:58:32 Averaged 8 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 15:01:28 Averaged 10 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 15:03:34 Averaged 12 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 15:05:44 Averaged 15 min EFZ 1 - Polissorb. 80 (0,05%), quarta-feira, 17 de outubro de 2012 15:08:29</p> |
| 5 | 1,009 | 2,986 | 10,962 | 15,841 | 52,238 | |
| 8 | 0,982 | 2,819 | 10,652 | 15,412 | 51,203 | |
| 10 | 0,970 | 2,760 | 10,546 | 15,240 | 45,800 | |
| 12 | 0,962 | 2,721 | 10,499 | 15,179 | 45,769 | |
| 15 | 0,953 | 2,689 | 10,446 | 15,073 | 45,622 | |

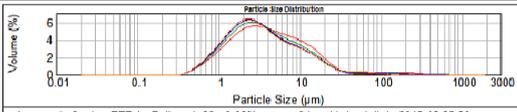
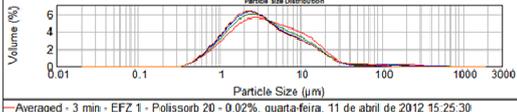
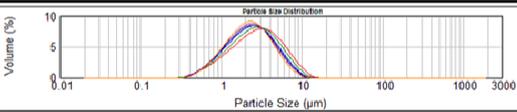
ANEXO XIV

Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 40 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 40 | | | | | | |
|--|----------|----------|---------------|----------|-----------|---|
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,01%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:15:31 Averaged 5 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:17:28 Averaged 8 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:20:28 Averaged 10 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:22:37 Averaged 12 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:24:32 Averaged 15 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,01%), quinta-feira, 18 de outubro de 2012 16:27:43 |
| 3 | 0,972 | 3,033 | 8,366 | 10,819 | 16,541 | |
| 5 | 0,925 | 2,632 | 6,712 | 8,455 | 12,392 | |
| 8 | 0,894 | 2,378 | 5,767 | 7,147 | 10,037 | |
| 10 | 0,880 | 2,286 | 5,464 | 6,750 | 9,412 | |
| 12 | 0,872 | 2,231 | 5,299 | 6,547 | 9,145 | |
| 15 | 0,865 | 2,171 | 5,118 | 6,313 | 8,767 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,02%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 15 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 13:52:35 Averaged 3 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, segunda-feira, 2 de abril de 2012 15:22:31 Averaged 5 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, segunda-feira, 2 de abril de 2012 15:45:26 Averaged 8 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 13:45:36 Averaged 10 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 13:47:39 Averaged 12 min EFZ 2 - polissorb. 40 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 13:49:35 |
| 3 | 0,980 | 2,845 | 7,049 | 8,715 | 17,728 | |
| 5 | 0,948 | 2,564 | 6,044 | 7,373 | 13,010 | |
| 8 | 0,948 | 2,359 | 5,271 | 6,378 | 10,836 | |
| 10 | 0,936 | 2,280 | 5,037 | 6,754 | 10,132 | |
| 12 | 0,935 | 2,230 | 4,871 | 5,885 | 9,490 | |
| 15 | 0,943 | 2,194 | 4,718 | 5,694 | 9,887 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 40 (0,05%) | | | | | | |
| Massa (média): | | 22,800 | 3 amostragens | | | Gráfico |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | <p>Particle Size Distribution</p> <p>Volume (%)</p> <p>Particle Size (µm)</p> <ul style="list-style-type: none"> Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:21:29 Averaged 5 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:23:34 Averaged 8 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:26:31 Averaged 10 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:28:33 Averaged 12 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:30:32 Averaged 15 min EFZ 2 - Polissorb. 40 (0,05%), quarta-feira, 24 de outubro de 2012 16:33:36 |
| 3 | 0,937 | 2,695 | 6,411 | 7,879 | 12,808 | |
| 5 | 0,907 | 2,437 | 5,694 | 6,910 | 11,432 | |
| 8 | 0,885 | 2,285 | 5,287 | 6,425 | 11,036 | |
| 10 | 0,883 | 2,225 | 5,102 | 6,209 | 10,466 | |
| 12 | 0,889 | 2,183 | 4,938 | 6,010 | 10,445 | |
| 15 | 0,887 | 2,138 | 4,802 | 5,850 | 10,474 | |

ANEXO XV

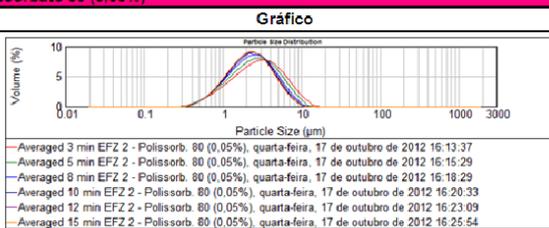
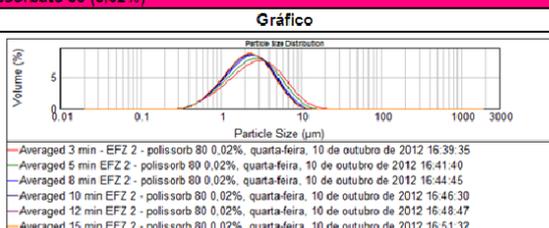
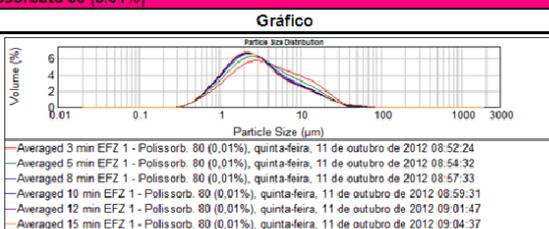
Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 60 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 60 | | | | | | |
|--|----------|----------|----------|----------|-----------|---|
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,01%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 1,017 | 3,126 | 8,774 | 11,708 | 50,260 |  <p>Averaged - 3 min - EFZ 1 - Polissorb 20 - 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:25:30 Averaged - 5 min - EFZ1 - Polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:27:47 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:30:28 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:33:26 Averaged - 12 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:34:45 Averaged 15 min - EFZ1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:37:38</p> |
| 5 | 0,970 | 2,743 | 7,180 | 9,379 | 51,015 | |
| 8 | 0,939 | 2,499 | 6,252 | 8,094 | 45,121 | |
| 10 | 0,947 | 2,410 | 5,824 | 7,570 | 42,323 | |
| 12 | 0,927 | 2,352 | 5,687 | 7,305 | 57,018 | |
| 15 | 0,926 | 2,283 | 5,505 | 7,763 | 41,087 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,02%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 0,947 | 2,703 | 6,499 | 6,958 | 14,083 |  <p>Averaged - 3 min - EFZ 1 - Polissorb 20 - 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:25:30 Averaged - 5 min - EFZ1 - Polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:27:47 Averaged 8 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:30:28 Averaged 10 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:33:26 Averaged - 12 min - EFZ 1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:34:45 Averaged 15 min - EFZ1 - polissorb 20 0,02%, quarta-feira, 11 de abril de 2012 15:37:38</p> |
| 5 | 0,918 | 2,473 | 5,816 | 7,106 | 12,172 | |
| 8 | 0,898 | 2,318 | 5,355 | 6,531 | 11,976 | |
| 10 | 0,889 | 2,247 | 5,153 | 6,289 | 10,798 | |
| 12 | 0,882 | 2,201 | 5,036 | 6,157 | 10,995 | |
| 15 | 0,874 | 2,150 | 4,897 | 5,994 | 10,874 | |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | | |
| Polissorbato 60 (0,05%) | | | | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) | Gráfico |
| 3 | 0,965 | 2,793 | 6,702 | 8,173 | 14,557 |  <p>Averaged 3 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:18:29 Averaged 5 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:20:32 Averaged 8 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:23:35 Averaged 10 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:25:45 Averaged 12 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:27:54 Averaged 15 min EFZ 2 - Polissorb 60 (0,05%), sexta-feira, 9 de novembro de 2012 15:31:08</p> |
| 5 | 0,936 | 2,550 | 6,031 | 7,362 | 12,771 | |
| 8 | 0,908 | 2,354 | 5,495 | 6,720 | 12,166 | |
| 10 | 0,896 | 2,282 | 5,311 | 6,506 | 12,344 | |
| 12 | 0,900 | 2,230 | 5,098 | 6,232 | 11,075 | |
| 15 | 0,916 | 2,179 | 4,840 | 5,899 | 10,737 | |

ANEXO XVI

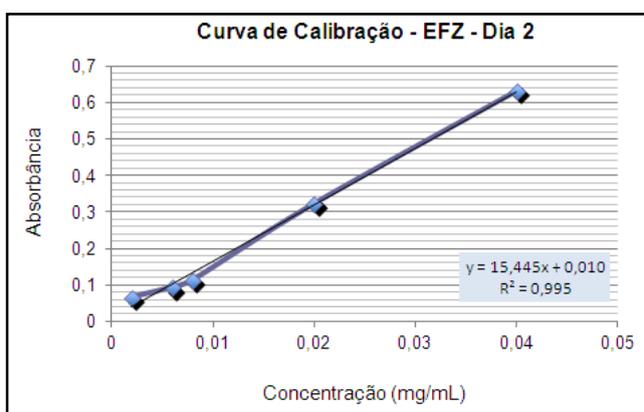
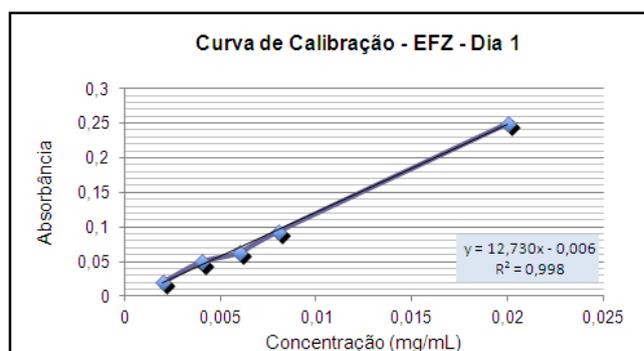
Resultados obtidos durante a avaliação de diferentes concentrações do tensoativo polissorbato 80 na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz (EFZ-A2)

| Avaliação de diferentes concentrações de Polissorbato 80 | | | | | |
|--|----------|---------------|----------|----------|-----------|
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,01%) | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |
| 3 | 0,999 | 3,090 | 10,152 | 16,050 | 384,775 |
| 5 | 0,963 | 2,773 | 8,391 | 15,141 | 392,650 |
| 8 | 0,941 | 2,580 | 7,620 | 124,372 | 442,237 |
| 10 | 0,932 | 2,495 | 7,492 | 147,545 | 454,886 |
| 12 | 0,925 | 2,451 | 7,459 | 161,852 | 431,465 |
| 15 | 0,920 | 2,404 | 7,580 | 181,279 | 431,064 |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,02%) | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |
| 3 | 0,979 | 2,820 | 7,108 | 8,900 | 19,781 |
| 5 | 0,941 | 2,556 | 6,157 | 7,591 | 14,580 |
| 8 | 0,939 | 2,379 | 5,469 | 6,685 | 12,161 |
| 10 | 0,934 | 2,309 | 5,249 | 6,392 | 10,976 |
| 12 | 0,919 | 2,257 | 5,108 | 6,222 | 10,976 |
| 15 | 0,911 | 2,214 | 5,007 | 6,110 | 11,069 |
| AMOSTRA: EFZ-2 | | | | | |
| Polissorbato 80 (0,05%) | | | | | |
| Massa (média): | 22,800 | 3 amostragens | | | |
| Tempo de análise (min) | d10 (µm) | d50 (µm) | d90 (µm) | d95 (µm) | d100 (µm) |
| 3 | 0,963 | 2,824 | 6,892 | 8,445 | 15,142 |
| 5 | 0,933 | 2,558 | 6,068 | 7,379 | 12,815 |
| 8 | 0,929 | 2,359 | 5,389 | 6,538 | 10,961 |
| 10 | 0,939 | 2,293 | 5,107 | 6,182 | 10,841 |
| 12 | 0,929 | 2,234 | 4,946 | 5,985 | 10,455 |
| 15 | 0,921 | 2,189 | 4,843 | 5,876 | 9,929 |



ANEXO XVII

Equações utilizadas na etapa de avaliação da massa dissolvida durante o período de análise de distribuição granulométrica do IFA efavirenz por espalhamento de luz laser



ANEXO XVIII

Protocolo de Validação de metodologia analítica para a determinação da distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser do IFA efavirenz

| |
|---|
| <p>PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ</p> |
|---|

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR
ESPALHAMENTO DE LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO
EFAVIRENZ**

ÁREA: Laboratório XXXXXX

LOCALIZAÇÃO: Sala XXX

OBJETIVO: Validar a metodologia analítica desenvolvida pelo Laboratório XXXXXX para a determinação da distribuição granulométrica do insumo farmacêutico ativo efavirenz por espalhamento de luz laser.

| Nome Setor | Protocolo de Validação de Metodologia | | |
|------------|---------------------------------------|------------|---------|
| | Data | Assinatura | Rúbrica |

| | | | |
|---------------|--|--|--|
| Autor: | | | |
| | | | |

| | | | |
|-------------------------|--|--|--|
| Análise Crítica: | | | |
| | | | |

| | | | |
|-------------------|--|--|--|
| Aprovação: | | | |
| | | | |

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 3 |
| 1.1 | Efavirenz..... | 3 |
| 1.1.1 | Características Físico-Químicas..... | 3 |
| 2. | METODOLOGIA A SER VALIDADA..... | 3 |
| 2.1 | Reagentes..... | 4 |
| 2.2 | Preparação da solução tensoativa..... | 4 |
| 2.3 | Parâmetros do equipamento..... | 4 |
| 2.4 | Adequação do sistema..... | 5 |
| 2.5 | Preparo da Amostra..... | 5 |
| 2.6 | Procedimento..... | 5 |
| 3. | LEVANTAMENTO DAS NECESSIDADES..... | 6 |
| 4. | EXATIDÃO..... | 7 |
| 5. | PRECISÃO..... | 7 |
| 5.1 | Repetibilidade do sistema..... | 7 |
| 5.3 | Repetibilidade da metodologia..... | 8 |
| 5.2 | Precisão intermediária..... | 9 |
| 6. | RESUMO DOS RESULTADOS DA VALIDAÇÃO E CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO..... | 10 |
| 7. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 10 |
| 8. | ANEXO I - FORMULÁRIO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA DE DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE LUZ LASER (14 PÁGINAS)..... | 11 |

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

1. INTRODUÇÃO

1.1 Efavirenz

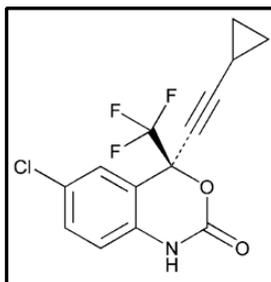
O efavirenz é um dos fármacos utilizados em combinação com outros fármacos antirretrovirais e é classificado como um inibidor da transcriptase reversa não-nucleosídeo (ITRNN) do vírus HIV-1 (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus*). Liga-se diretamente a esta enzima e bloqueia as atividades da DNA (ácido desoxirribonucléico)-polimerase, RNA (ácido ribonucléico) e DNA-dependentes, causando a destruição do sítio catalítico da enzima (VIANA et al., 2006).

O Efavirenz é um dos insumos farmacêuticos ativos (IFA) utilizados em Farmanguinhos para a produção do comprimido revestido Efavirenz 600mg.

1.1.1 Características Físico-Químicas

Segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010):

- ✓ Fórmula estrutural:



- ✓ Fórmula molecular: C₁₄H₉ClF₃NO₂.
- ✓ Aspecto: pó cristalino branco, ou quase branco, inodoro.
- ✓ Solubilidade: praticamente insolúvel em água, solúvel em metanol e diclorometano.

2. METODOLOGIA A SER VALIDADA

Abaixo encontra-se a metodologia desenvolvida pelo LEES para a análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser para o insumo farmacêutico ativo Efavirenz.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÉUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

2.1 Reagentes

- ✓ Água purificada;
- ✓ Polissorbato 80.

2.2. Preparação da solução tensoativa

Em béquer de vidro de 50mL pesar com exatidão 100mg de polissorbato 80. Em proveta de 1L, adicionar 500mL de água purificada. Transferir 30 mL da água purificada da proveta para o béquer contendo o polissorbato 80 e com auxílio de uma espátula agitar vigorosamente até que o tensoativo solubilize completamente. Transferir esta solução para um béquer de 600mL e com o restante da água purificada contida na proveta adicionar novamente ao béquer que continha o polissorbato. Posteriormente, o volume deve ser transferido para o béquer contendo a solução tensoativa. Este procedimento deve ser realizado até que se esgote o volume de água purificada mensurada na proveta. Para finalizar, submeter a solução preparada (béquer de 600mL) em agitação magnética por 10 minutos. Por fim, tem-se uma solução tensoativa de polissorbato 80 na concentração 0,02% (m/v).

* Esta solução tensoativa tem validade de 24h.

2.3. Parâmetros do equipamento

- ✓ Equipamento: Mastersizer 2000
- ✓ Módulo: HydroS2000
- ✓ Modelo óptico: Fraunhofer
- ✓ Meio de dispersão: água purificada
- ✓ Agitação: 1750 rpm – durante todo o período de análise
- ✓ Ultrassom: 50% - durante todo o período de análise
- ✓ Tempo de Leitura da amostra: 10 segundos
- ✓ Tempo de Leitura do *background*: 10 segundos
- ✓ Índice de refração do meio: 1,33
- ✓ Tempo de acionamento da leitura da amostra após sua inserção: 10 minutos
- ✓ Número de leituras: 3 e destas uma média

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

2.4. Adequação do sistema

Proceder à limpeza do equipamento com consecutivos ciclos de limpeza até que o mesmo apresente perfil de *background* adequado. Realizar alinhamento do laser e em seguida proceder o *background*.

2.5. Preparo da amostra

Pesar em um béquer de 50mL 22,5 mg \pm 2,5 e em seguida adicionar 10mL da solução tensoativa preparada previamente. Realizar suaves movimentos manuais e submeter a amostra a banho de ultrassom por 1 minuto. Em seguida, proceder novamente movimentos manuais brandos.

* A massa pesada deverá ser registrada no Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

2.6. Procedimento

Após a realização do *background* no equipamento e preparo da amostra, adiciona-la na cuba do equipamento contendo o meio de dispersão (água). Aguardar 10 minutos para o acionamento do start e início da sequência de três leituras. Imediatamente após a realização das leituras o equipamento fornecerá uma média das medições. Este será o resultado referente à amostragem analisada.

O procedimento de análise deverá ser realizado com 5 amostragens da mesma amostra. Em função disso, após a execução e leitura de cada amostra deve-se efetuar a limpeza do equipamento acionando quantos ciclos de limpeza forem necessários para se atingir novamente um ótimo *background*.

* A massa utilizada para cada uma das amostragens realizadas deverá ser registrado no Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

3. LEVANTAMENTO DAS NECESSIDADES

Para a realização da validação da metodologia de análise do efavirenz de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser, são necessários os materiais/recursos descritos abaixo. Devem ser registrados no Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento, indicado os lotes, datas de validade e demais dados.

Materiais/Reagentes

Polissorbato 80: 100mg para cada 500mL de solução tensoativa preparada

Água purificada: 500mL a cada solução tensoativa preparada

Amostras de efavirenz: 3 amostras de efavirenz com diferentes lotes

Lâmina de vidro (Microscopia Ótica)

Fita dupla face

Porta amostra para microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Metalizador para o preparo de amostras submetidas a análise de MEV

Equipamentos

Balança semi-analítica

Banho ultrassom

Analizador de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser – Mastersizer 2000 - Malvern®.

Microscópio ótico (MO) (magnificação 500x) acoplado a uma câmera ou Microscópio eletrônico de varredura (MEV)

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

4. EXATIDÃO

A exatidão do método é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro (ANVISA, 2003).

Como na análise de distribuição granulométrica não possuímos um padrão para os insumos, ou seja, os mesmos são utilizados de acordo com a formulação, performance e características necessárias para se adequar ao produto final, utilizaremos como exatidão a análise de microscopia das amostras a serem validadas. Esta técnica é considerada como uma medida direta da morfologia e dimensão das partículas pois, não há influência de fatores externos durante a análise. Portanto, as imagens obtidas pela técnica de microscopia (ótica ou eletrônica de varredura, de acordo com as características e necessidades da amostra) serão utilizadas para avaliação da exatidão das medidas. Ou seja, de acordo com as imagens poderemos supor se a metodologia em questão está traduzindo a distribuição granulométrica da amostra de forma real.

Os resultados obtidos por microscopia (ótica ou eletrônica) devem ser anexados em campo específico do Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

5. PRECISÃO

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra.

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão (DP) ou desvio padrão relativo (DPR) (coeficiente de variação – CV) de uma série de medidas (ANVISA, 2003).

5.1. Repetibilidade

A repetibilidade é a concordância entre os resultados dentro de um curto intervalo de tempo, com o mesmo analista e mesma instrumentação (ANVISA, 2003).

5.1.1. Repetibilidade do sistema (equipamento)

A repetibilidade do sistema visa avaliar a repetibilidade do sinal de resposta do equipamento utilizado para uma determinada solução amostra.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

Procedimento

Selecionar 3 amostras, realizar uma análise (1 amostragem) de cada uma delas exatamente conforme o procedimento descrito no item 2. deste protocolo, exceto, o número de leituras do equipamento o qual deverá passar de 3 para 6.

Todas as massas pesadas devem ser devidamente registradas no campo específico (Repetibilidade do Sistema) do Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

Avaliação

O desvio padrão relativo entre as 6 medidas não deve ser superior a 2,00% para os cortes d10, d50 e d90.

Os valores encontrados para cada amostragem, de cada uma das amostras devem ser devidamente registrados nos campos determinados no Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

5.1.2. Repetibilidade da metodologia**Procedimento**

O analista A deverá analisar 3 amostras de efavirenz em quintuplicata, ou seja, para cada uma das amostras deverá ser preparada 5 amostragens distintas e as mesmas analisadas de acordo com a metodologia em validação (item 2).

Todas as massas pesadas devem ser devidamente registradas no campo específico (Repetibilidade da Metodologia) do Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

Avaliação

Deverão ser analisados os cortes d10, d50 e d90 da média (quintuplicata) de cada uma das três amostras analisadas e seus desvios padrões relativos não deverão ser superior a 5%, 3% e 5%, respectivamente. Para os cortes que apresentarem medidas inferiores a 10 μ m o seu valor percentual limite dobra (ISO 13320, 2009).

Os valores encontrados para cada amostragem, de cada uma das amostras devem ser devidamente registrados nos campos determinados no Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

5.2. Precisão Intermediária

A precisão intermediária é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou instrumentação diferente (ANVISA, 2003).

Procedimento

O analista B deverá repetir os ensaios descritos no item 5.1.2., em dia diferente (intervalo mínimo de 2 dias), com as mesmas amostras utilizadas pelo analista A.

Todas as massas pesadas devem ser devidamente registradas no campo específico (Precisão Intermediária) do Formulário de Validação de Metodologia de Análise de Distribuição Granulométrica por Espalhamento de Luz Laser do Efavirenz, Anexo I deste documento.

Avaliação

Deverão ser analisados os cortes d10, d50 e d90 da média (quintuplicata) de cada uma das três amostras analisadas e seus desvios padrões relativos não deverão ser superior a 5%, 3% e 5%, respectivamente. Para os cortes que apresentarem medidas inferiores a 10 μ m o seu valor percentual limite dobra. Posteriormente estes valores médios dos cortes citados deverão ser comparados com os do analista A e o resultado não poderá ser superior a 5%.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

6. RESUMO DOS RESULTADOS DA VALIDAÇÃO E CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO

Tabela 1. Resumo dos resultados obtidos nos ensaios da validação da metodologia do insumo efavirenz na análise de distribuição granulométrica por espalhamento de luz laser.

| Ensaio | Crítérios de aceitação | Resultado da validação |
|---|--|------------------------|
| Exatidão | Informativo – de acordo com distribuição | |
| Precisão – Repetibilidade do Sistema | DPR não superior a 2,00% para cortes de d10, d50 e d90 (seis leituras da mesma amostra) | |
| | | Amostra A |
| | | Amostra B |
| | | Amostra C |
| Precisão – Repetibilidade da Metodologia | DPR não superior a 5%, 3% e 5% para os cortes de d10, d50 e d90 (5 amostragens de cada amostra – 3 leituras de cada amostragem) | |
| | | Amostra A |
| | | Amostra B |
| | | Amostra C |
| Precisão Intermediária | DPR entre os analistas A e B, obtidos em dias diferente de análise (mínimo de 2 dias) – 3 resultados médios de cada analista, não superior a 5,00% | |

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ISO 13320. **Particle size analysis—Laser diffraction methods—Part 1: General principles**. International Organization for Standardization: Geneva, 2009.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5ª ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2010.
_____. 5ª. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 2011b. **Monografia Efavirenz**. p. 913-914.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RE 899, Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**. Maio, 2003.

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

8. ANEXO I

| FORMULÁRIO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA DE DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE LUZ LASER | | | |
|---|------|------------|---------|
| <u>INSUMO:</u> Efavirenz | | | |
| <u>ÁREA:</u> Laboratório XXXXXX - Sala: XXX | | | |
| <u>LOCALIZAÇÃO:</u> | | | |
| <u>OBJETIVO:</u> Validar a metodologia analítica desenvolvida pelo Laboratório XXXXXX para a determinação da distribuição granulométrica do insumo farmacêutico ativo efavirenz por espalhamento de luz laser. | | | |
| ABERTURA | | | |
| Nome | Data | Assinatura | Rúbrica |
| Responsável pelo desenvolvimento da metodologia | | | |
| | | | |
| Analista A (Responsável) | | | |
| | | | |
| Analista B | | | |
| | | | |
| Responsável pelo LEES | | | |
| | | | |
| ENCERRAMENTO | | | |
| Responsável pelo desenvolvimento da metodologia | | | |
| | | | |
| Analista A (Responsável) | | | |
| | | | |
| Analista B | | | |
| | | | |
| Responsável pelo Laboratório XXXXXX | | | |
| | | | |

**PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A
DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE
LUZ LASER DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFAVIRENZ**

| FORMULÁRIO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA DE DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA POR ESPALHAMENTO DE LUZ LASER | |
|--|--|
| Insumo farmacêutico: | |
| Analista (A) responsável: | |
| Analista B: | |
| METODOLOGIA EM VALIDAÇÃO | |
| Equipamento: | |
| Módulo: | |
| Metodologia número: | |
| Parâmetros do equipamento | |
| Modelo óptico: | |
| Índice Refração do meio dispersante: | () literatura () medido - Resultado: |
| Índice Refração da partícula: | () literatura () medido - Resultado: |
| Tempo de leitura da amostra (segundos): | |
| Tempo de leitura do background (segundos): | |
| Número de leituras: | Média? () Sim () Não |
| Faixa de obscuração (%): | |
| Agitação (rpm): | Ultrassom (%): |
| Tempo para acionamento da leitura após inserção da amostra (minutos): | |
| Preparo de soluções () Sim () Não | |
| Reagente/Insumo: | |
| Lote/Registro Far: | |
| Validade: | Fabricante: |
| Descrição do preparo da solução (incluir massa e volumes exatos utilizados) | |
| | |
| Validade da solução: | |
| pH solução: | Índice de refração da solução: |
| Descrição dos equipamentos e instrumentos de medição utilizados nesta etapa (marca, modelo, certificação (número e validade), faixa, etc.) | |
| | |
| Analista responsável: | Data: |
| Página 01/14 | |

ANEXO XIX

Resultados da etapa de validação – Repetibilidade do sistema – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1

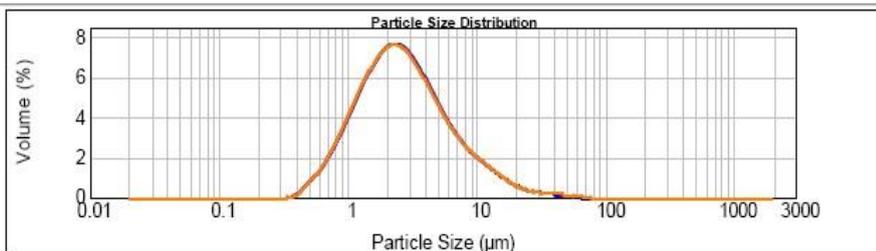


Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:50:17
Sample Source & type:
Supplier: Malvern
Measured by:
Analysed: quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:50:19
Sample bulk lot ref:
Result Source:
Measurement
EFZ-A3

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 μm
Obscuration: 27.17 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.600 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0090 %Vol
Span : 2.985
Uniformity: 1.04
Result units: Volume
Specific Surface Area: 2.99 m^2/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 2.004 μm
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 4.162 μm



— Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:48:10
 — Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:48:35
 — Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:49:01
 — Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:49:26
 — Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:49:52
 — Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:50:17

| Size (μm) | Volume in % | Size (μm) | Volume in % | Size (μm) | Volume in % | Size (μm) | Volume in % | Size (μm) | Volume in % | Size (μm) | Volume in % |
|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.096 | 4.56 | 11.482 | 1.41 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.289 | 5.31 | 13.183 | 1.13 | 138.038 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 5.98 | 15.136 | 0.88 | 158.489 | 0.00 | 1659.587 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.660 | 6.51 | 17.378 | 0.66 | 181.970 | 0.00 | 1905.461 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 6.83 | 19.953 | 0.48 | 208.930 | 0.00 | 2187.762 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.188 | 6.92 | 22.909 | 0.35 | 238.883 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 6.76 | 26.303 | 0.25 | 275.423 | 0.00 | 2884.032 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 6.37 | 30.200 | 0.20 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 5.82 | 34.674 | 0.17 | 363.078 | 0.00 | 3801.894 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.00 | 3.802 | 5.17 | 39.811 | 0.15 | 416.869 | 0.00 | 4365.158 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.37 | 4.365 | 4.49 | 45.709 | 0.14 | 478.630 | 0.00 | 5011.872 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.74 | 5.012 | 3.85 | 52.481 | 0.12 | 549.541 | 0.00 | 5754.399 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.550 | 1.18 | 5.754 | 3.28 | 60.296 | 0.08 | 630.957 | 0.00 | 6606.934 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.72 | 6.607 | 2.79 | 69.183 | 0.06 | 724.436 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 2.34 | 7.586 | 2.37 | 79.433 | 0.01 | 831.754 | 0.00 | 8709.636 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 3.03 | 8.710 | 2.02 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 3.79 | 10.000 | 1.70 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | | 11.482 | | 120.226 | | 1258.925 | | | |

Operator notes:

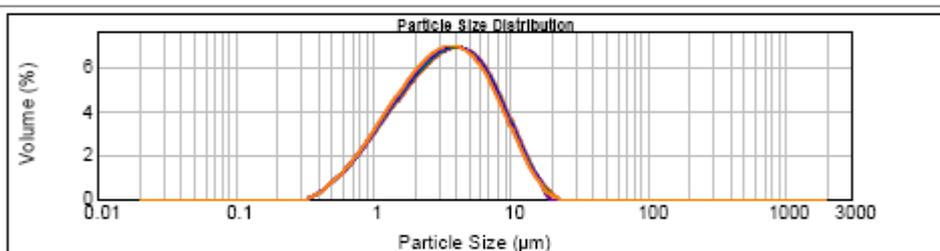


Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz
SOP Name: Measurement
Measured: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:43:06
Sample Source & type: Supplier
Measured by: Malvern
Analysed: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:43:08
Sample bulk lot ref: EFZ-B1

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 μm
Obscuration: 28.16 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.313 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0107 %Vol
Span : 2.359
Uniformity: 0.733
Result units: Volume
Specific Surface Area: 2.64 m^2/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 2.273 μm
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 4.202 μm



- Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:40:58
 - Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:41:24
 - Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:41:50
 - Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:42:15
 - Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:42:41
 - Efavirenz, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:43:06

| Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % |
|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.096 | 3.37 | 11.462 | 1.05 | 120.226 | 0.00 | 1250.025 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 3.90 | 13.163 | 1.15 | 138.058 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 4.42 | 15.138 | 1.15 | 158.469 | 0.00 | 1659.567 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.156 | 0.00 | 1.660 | 4.42 | 17.375 | 0.88 | 181.970 | 0.00 | 1905.481 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 4.90 | 19.963 | 0.28 | 208.930 | 0.00 | 2107.762 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.188 | 5.35 | 22.909 | 0.06 | 239.883 | 0.00 | 2511.585 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 6.02 | 26.303 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2894.032 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 6.22 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 6.22 | 34.674 | 0.00 | 363.078 | 0.00 | 3801.594 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.01 | 3.802 | 6.32 | 39.611 | 0.00 | 416.889 | 0.00 | 4365.158 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.17 | 4.365 | 6.30 | 45.709 | 0.00 | 478.630 | 0.00 | 5011.672 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.42 | 5.012 | 6.15 | 52.481 | 0.00 | 549.541 | 0.00 | 5754.390 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.560 | 0.71 | 5.754 | 5.87 | 60.298 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.034 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.06 | 6.607 | 5.44 | 69.163 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 1.44 | 7.596 | 4.88 | 79.433 | 0.00 | 831.764 | 0.00 | 8709.696 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 1.88 | 8.710 | 4.18 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 2.35 | 10.000 | 3.41 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | 2.85 | 11.462 | 2.60 | 120.226 | 0.00 | 1259.925 | 0.00 | | |

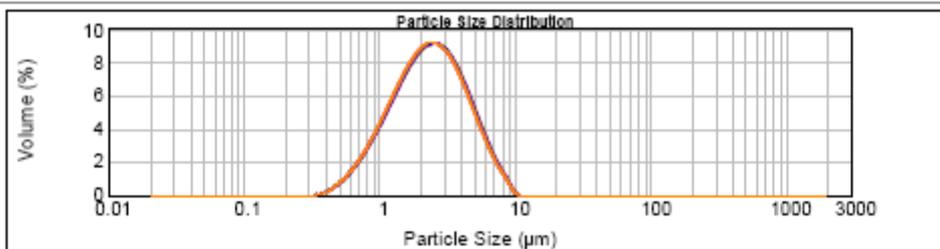
Operator notes:



Sample Name: Efavirenz
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:19:07
Sample Source & type: Supplier
Measured by: Malvern
Analysed: quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:19:08
Sample bulk lot ref: EFZ-C1
Result Source: Measurement

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 um
Obscuration: 32.39 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.775 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0102 %Vol
Span : 1.775
Uniformity: 0.549
Result units: Volume
Specific Surface Area: 3.25 m²/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 1.844 um
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 2.711 um



- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:16:59
- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:17:24
- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:17:50
- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:18:16
- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:18:41
- Efavirenz, quinta-feira, 22 de novembro de 2012 10:19:07

| Size (µm) | Volume In % |
|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.036 | 4.97 | 11.402 | 0.00 | 120.228 | 0.00 | 1250.025 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 5.91 | 13.183 | 0.00 | 138.038 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 6.78 | 15.138 | 0.00 | 158.450 | 0.00 | 1659.567 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.690 | 7.53 | 17.370 | 0.00 | 181.970 | 0.00 | 1925.481 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 8.06 | 19.963 | 0.00 | 208.930 | 0.00 | 2187.762 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.188 | 8.32 | 22.909 | 0.00 | 239.883 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 8.28 | 26.303 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2884.032 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 8.28 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.318 | 0.00 | 3.311 | 7.85 | 34.674 | 0.00 | 363.078 | 0.00 | 3801.694 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.01 | 3.802 | 7.12 | 39.811 | 0.00 | 416.889 | 0.00 | 4365.158 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.11 | 4.365 | 6.18 | 45.709 | 0.00 | 478.630 | 0.00 | 5011.672 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.71 | 5.012 | 3.92 | 52.481 | 0.00 | 549.541 | 0.00 | 5754.399 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.560 | 1.18 | 5.754 | 2.83 | 60.298 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.934 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.72 | 6.607 | 1.91 | 69.183 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 2.40 | 7.586 | 1.31 | 79.433 | 0.00 | 831.784 | 0.00 | 8709.636 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 3.18 | 8.710 | 1.15 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 3.18 | 10.000 | 0.48 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | 4.05 | 11.402 | 0.00 | 120.228 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

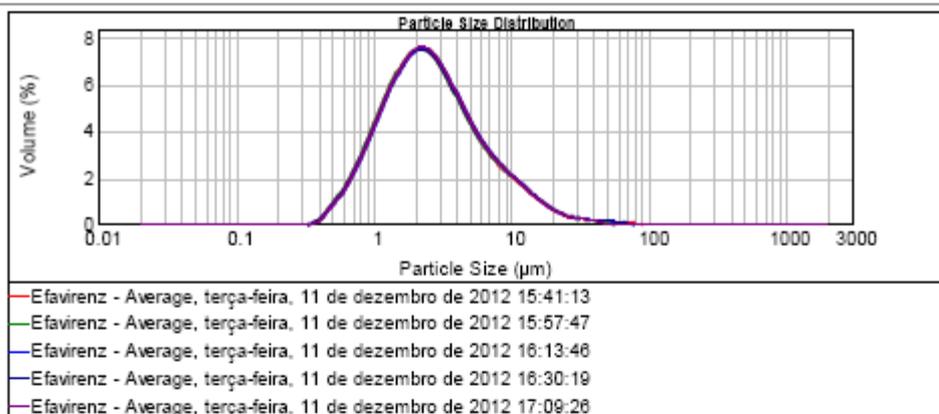
ANEXO XX

Resultados da etapa de validação – Repetibilidade da metodologia – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1



Result Analysis Report

| | | | |
|---|--|--|---------------------------------|
| Sample Name: Efavirenz - Average | SOP Name: | Measured: terça-feira, 11 de dezembro de 2012 17:09:26 | |
| Sample Source & type: Supplier | Measured by: Malvern | Analysed: terça-feira, 11 de dezembro de 2012 17:09:27 | |
| Sample bulk lot ref: EFZ-A3 (Repet. Metod.) | Result Source: Averaged | | |
| Particle Name: Fraunhofer | Accessory Name: Hydro 2000S (A) | Analysis model: General purpose | Sensitivity: Normal |
| Particle RI: 0.000 | Absorption: 0 | Size range: 0.020 to 2000.000 um | Obscuration: 28.30 % |
| Dispersant Name: Water | Dispersant RI: 1.330 | Weighted Residual: 0.363 % | Result Emulation: Off |
| Concentration: 0.0094 %Vol | Span : 3.047 | Uniformity: 1 | Result units: Volume |
| Specific Surface Area: 3.03 m ² /g | Surface Weighted Mean D[3,2]: 1.981 um | Vol. Weighted Mean D[4,3]: 4.015 um | |



| Size (µm) | Volume In % |
|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.096 | 4.64 | 11.462 | 1.47 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 5.39 | 13.183 | 1.18 | 138.036 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 6.39 | 15.138 | 0.95 | 158.489 | 0.00 | 1659.562 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.660 | 7.65 | 17.378 | 0.78 | 181.970 | 0.00 | 1925.461 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 9.06 | 19.953 | 0.65 | 208.930 | 0.00 | 2197.762 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.225 | 0.00 | 2.198 | 10.80 | 22.909 | 0.53 | 239.883 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.260 | 0.00 | 2.512 | 12.69 | 26.303 | 0.43 | 275.423 | 0.00 | 2894.032 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 14.83 | 30.200 | 0.36 | 316.226 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 17.26 | 34.874 | 0.29 | 363.076 | 0.00 | 3801.694 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.01 | 3.802 | 20.00 | 39.811 | 0.23 | 416.889 | 0.00 | 4365.155 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.09 | 4.365 | 23.05 | 45.709 | 0.18 | 478.630 | 0.00 | 5011.672 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.39 | 5.012 | 26.41 | 52.481 | 0.14 | 549.541 | 0.00 | 5754.390 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.550 | 1.22 | 5.754 | 3.23 | 60.258 | 0.10 | 630.957 | 0.00 | 6606.934 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.77 | 6.607 | 2.79 | 69.163 | 0.08 | 724.436 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 2.40 | 7.596 | 2.41 | 79.433 | 0.06 | 831.794 | 0.00 | 8709.696 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 3.11 | 8.710 | 2.07 | 91.201 | 0.05 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 3.87 | 10.000 | 1.76 | 104.713 | 0.04 | 1095.418 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | | 11.462 | | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

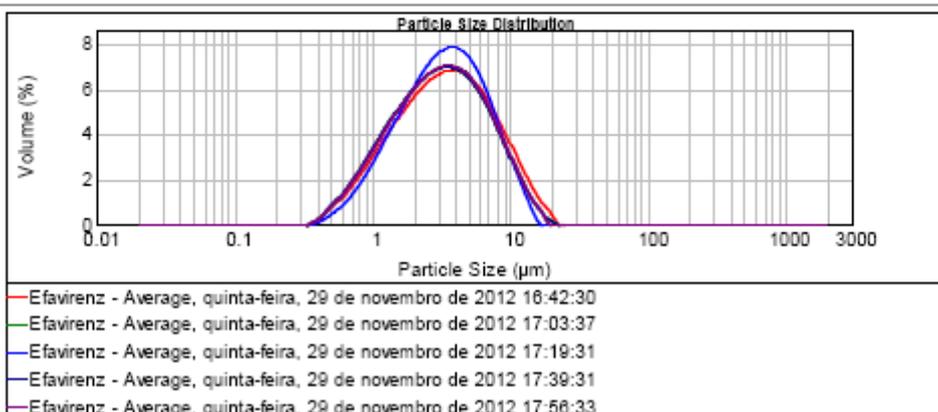


Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz - Average
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 17:56:33
Sample Source & type: Supplier
Measured by: Malvern
Analysed: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 17:56:35
Sample bulk lot ref: EFZ-B1 (Repet. Metod.)
Result Source: Averaged

| | | | |
|-------------------------------------|---|--|---------------------------------|
| Particle Name: Fraunhofer | Accessory Name: Hydro 2000S (A) | Analysis model: General purpose | Sensitivity: Normal |
| Particle RI: 0.000 | Absorption: 0 | Size range: 0.020 to 2000.000 um | Obscuration: 31.47 % |
| Dispersant Name: Water | Dispersant RI: 1.330 | Weighted Residual: 0.366 % | Result Emulation: Off |

| | | | |
|---|--|---|--------------------------------|
| Concentration: 0.0118 %Vol | Span : 2.373 | Uniformity: 0.735 | Result units: Volume |
| Specific Surface Area: 2.72 m ² /g | Surface Weighted Mean D[3,2]: 2.204 um | Vol. Weighted Mean D[4,3]: 4.050 um | |



| Size (µm) | Volume In % |
|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| 0.070 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.096 | 3.96 | 11.462 | 1.72 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.071 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 4.09 | 13.183 | 1.09 | 138.008 | 0.00 | 1446.440 | 0.00 |
| 0.073 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 4.59 | 15.138 | 0.89 | 158.489 | 0.00 | 1699.582 | 0.00 |
| 0.075 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.660 | 4.99 | 17.376 | 0.89 | 181.970 | 0.00 | 1905.481 | 0.00 |
| 0.077 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 5.06 | 19.963 | 0.09 | 208.930 | 0.00 | 2187.762 | 0.00 |
| 0.080 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.198 | 5.48 | 22.909 | 0.00 | 239.893 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.083 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 5.83 | 26.300 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2894.000 | 0.00 |
| 0.086 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.894 | 6.10 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.090 | 0.00 | 0.316 | 0.01 | 3.311 | 6.33 | 34.674 | 0.00 | 363.075 | 0.00 | 3801.894 | 0.00 |
| 0.095 | 0.00 | 0.363 | 0.01 | 3.802 | 6.33 | 39.911 | 0.00 | 416.889 | 0.00 | 4365.158 | 0.00 |
| 0.096 | 0.00 | 0.417 | 0.17 | 4.365 | 6.27 | 45.709 | 0.00 | 478.630 | 0.00 | 5011.672 | 0.00 |
| 0.098 | 0.00 | 0.479 | 0.44 | 5.012 | 6.07 | 52.481 | 0.00 | 549.541 | 0.00 | 5754.350 | 0.00 |
| 0.102 | 0.00 | 0.560 | 0.76 | 5.754 | 5.73 | 60.298 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.024 | 0.00 |
| 0.106 | 0.00 | 0.661 | 1.13 | 6.607 | 5.25 | 69.163 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7595.776 | 0.00 |
| 0.109 | 0.00 | 0.774 | 2.02 | 7.596 | 4.64 | 79.433 | 0.00 | 831.794 | 0.00 | 8709.836 | 0.00 |
| 0.113 | 0.00 | 0.892 | 2.51 | 8.710 | 3.17 | 91.291 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.117 | 0.00 | 1.025 | 3.03 | 10.000 | 0.00 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.125 | 0.00 | 1.206 | 3.03 | 11.462 | 2.41 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

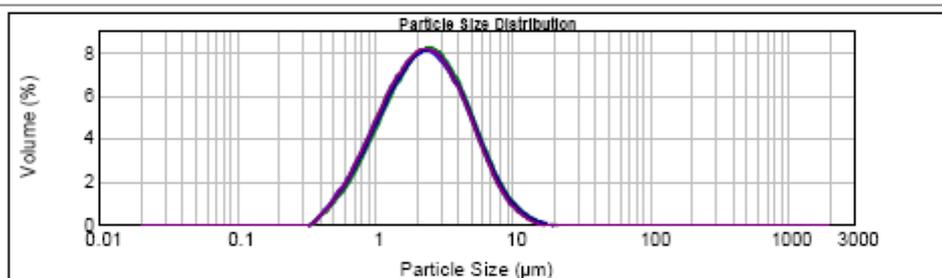


Result Analysis Report

Sample Name: Averaged Result
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 16:26:44
Sample Source & type:
Supplier: Malvern
Measured by:
Sample bulk lot ref: EFZ-C1 (Repet. Metod.)
Result Source: Averaged
Analyzed: quinta-feira, 29 de novembro de 2012 17:26:46

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 μm
Obscuration: 38.18 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.368 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0119 %Vol
Span : 2.063
Uniformity: 0.655
Result units: Volume
Specific Surface Area: 3.45 m^2/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 1.738 μm
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 2.811 μm



- Efavirenz - Average, segunda-feira, 26 de novembro de 2012 17:49:27
 - Averaged Result, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:31:31
 - Averaged Result, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 15:47:37
 - Averaged Result, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 16:09:32
 - Averaged Result, quinta-feira, 29 de novembro de 2012 16:26:44

| Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % |
|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.096 | 5.17 | 11.482 | 0.31 | 120.228 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 5.17 | 13.163 | 0.13 | 138.038 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 5.07 | 15.138 | 0.02 | 158.489 | 0.00 | 1659.567 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.660 | 6.96 | 17.375 | 0.00 | 181.970 | 0.00 | 1905.481 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 7.27 | 19.963 | 0.00 | 208.930 | 0.00 | 2187.762 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.190 | 7.27 | 22.909 | 0.00 | 239.883 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 7.37 | 26.305 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2884.022 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 7.25 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 8.90 | 34.874 | 0.00 | 363.075 | 0.00 | 3801.854 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.01 | 3.802 | 8.35 | 39.811 | 0.00 | 416.859 | 0.00 | 4365.155 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.28 | 4.365 | 5.63 | 45.709 | 0.00 | 478.830 | 0.00 | 5011.872 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.86 | 5.012 | 4.80 | 52.481 | 0.00 | 549.541 | 0.00 | 5754.390 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.550 | 1.12 | 5.754 | 3.92 | 60.298 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.904 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.67 | 6.607 | 3.05 | 69.163 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 2.28 | 7.588 | 2.28 | 79.433 | 0.00 | 831.794 | 0.00 | 8709.696 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 2.97 | 8.710 | 1.58 | 91.201 | 0.00 | 954.995 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 3.89 | 10.000 | 1.00 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | 4.44 | 11.482 | 0.59 | 120.228 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

ANEXO XXI

Resultados da etapa de validação – Precisão intermediária – EFZ-A3; EFZ-B1 e EFZ-C1



Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz - Average
Sample Source & type: Supplier
Sample bulk lot ref: EFZ-A3 (Prec. Intern.)

SOP Name:
Measured by: Malvern
Result Source: Averaged

Measured: quinta-feira, 20 de dezembro de 2012 16:12:57
Analysed: quinta-feira, 20 de dezembro de 2012 16:12:58

Particle Name: Fraunhofer
Particle RI: 0.000
Dispersant Name: Water

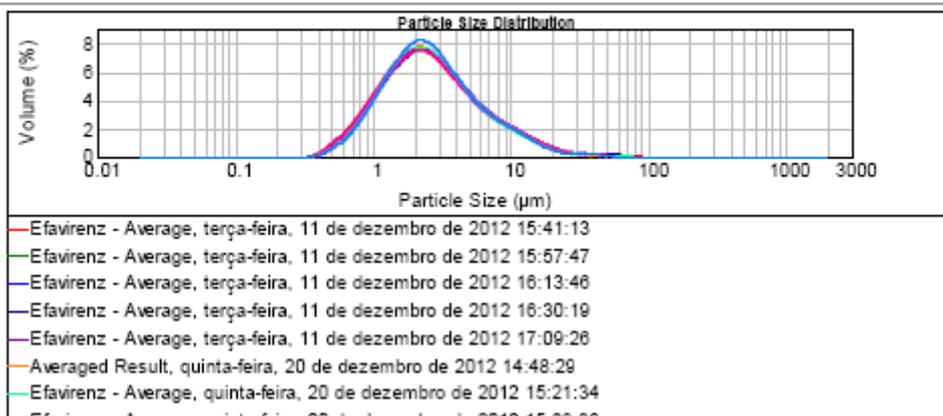
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Absorption: 0
Dispersant RI: 1.330

Analysis model: General purpose
Size range: 0.020 to 2000.000 μm
Weighted Residual: 0.763 %

Sensitivity: Normal
Obscuration: 34.39 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0122 %Vol
Span : 2.836
Uniformity: 0.93
Result units: Volume

Specific Surface Area: 2.95 m^2/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 2.032 μm
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 3.850 μm



| Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % |
|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.036 | 4.66 | 11.482 | 1.39 | 120.228 | 0.00 | 1259.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 5.58 | 13.193 | 1.06 | 138.038 | 0.00 | 1446.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.446 | 6.39 | 15.138 | 0.80 | 158.489 | 0.00 | 1659.567 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.660 | 7.39 | 17.376 | 0.60 | 181.970 | 0.00 | 1905.461 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 7.03 | 19.953 | 0.58 | 208.930 | 0.00 | 2167.782 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.189 | 7.39 | 22.909 | 0.37 | 239.883 | 0.00 | 2511.586 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 7.15 | 26.300 | 0.25 | 275.423 | 0.00 | 2894.002 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.894 | 6.59 | 30.200 | 0.15 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 5.85 | 34.874 | 0.13 | 363.078 | 0.00 | 3801.894 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.00 | 3.802 | 5.05 | 39.811 | 0.11 | 416.889 | 0.00 | 4365.158 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.05 | 4.365 | 5.06 | 45.709 | 0.11 | 478.630 | 0.00 | 5011.872 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.24 | 5.012 | 4.30 | 52.461 | 0.07 | 549.541 | 0.00 | 5754.359 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.550 | 0.94 | 5.754 | 3.12 | 60.256 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.994 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 1.46 | 6.607 | 2.70 | 69.193 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 2.11 | 7.596 | 2.34 | 79.433 | 0.00 | 831.784 | 0.00 | 8709.826 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 2.98 | 8.710 | 2.02 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 3.75 | 10.000 | 2.02 | 104.713 | 0.00 | 1096.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | | 11.482 | 1.70 | 120.228 | 0.00 | 1259.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

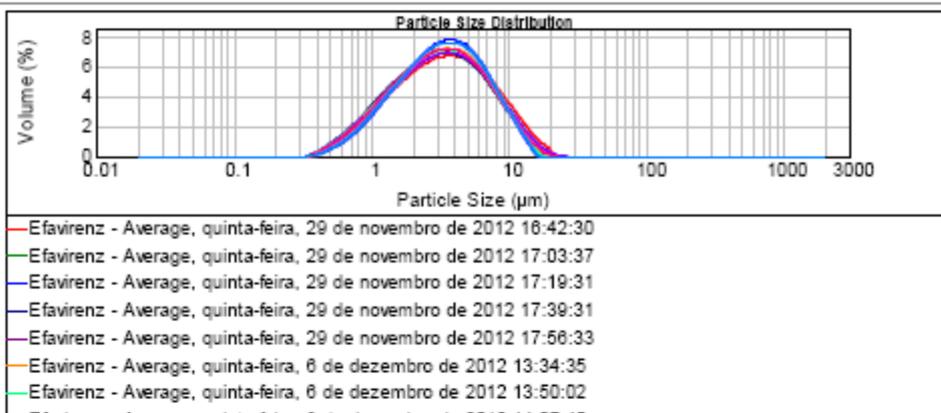


Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz - Average
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 6 de dezembro de 2012 14:38:30
Sample Source & type: Supplier
Measured by: Malvern
Analysed: quinta-feira, 6 de dezembro de 2012 14:38:32
Sample bulk lot ref: EFZ-B1 (Prec. Intern.)
Result Source: Averaged

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 um
Obscuration: 26.36 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.926 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0103 %Vol
Span : 2.118
Uniformity: 0.653
Result units: Volume
Specific Surface Area: 2.53 m²/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 2.371 um
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 4.024 um



| Size (µm) | Volume In % |
|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.036 | 3.23 | 11.482 | 1.49 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.120 | 0.00 | 1.259 | 3.84 | 13.163 | 0.77 | 138.038 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.445 | 4.45 | 15.138 | 0.06 | 158.459 | 0.00 | 1659.547 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.690 | 5.05 | 17.378 | 0.00 | 181.970 | 0.00 | 1905.481 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.182 | 0.00 | 1.905 | 5.60 | 19.963 | 0.00 | 208.930 | 0.00 | 2167.782 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 2.193 | 6.09 | 22.909 | 0.00 | 239.883 | 0.00 | 2511.886 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.240 | 0.00 | 2.512 | 6.49 | 26.306 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2884.002 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.884 | 6.89 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.316 | 0.00 | 3.311 | 7.27 | 34.674 | 0.00 | 363.078 | 0.00 | 3801.894 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.363 | 0.00 | 3.802 | 7.61 | 39.811 | 0.00 | 416.869 | 0.00 | 4365.155 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.417 | 0.00 | 4.365 | 7.88 | 45.709 | 0.00 | 478.630 | 0.00 | 5011.872 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.479 | 0.00 | 5.012 | 8.29 | 52.481 | 0.00 | 548.541 | 0.00 | 5754.339 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.550 | 0.00 | 5.754 | 8.71 | 60.258 | 0.00 | 630.657 | 0.00 | 6606.004 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.631 | 0.00 | 6.607 | 9.17 | 69.163 | 0.00 | 724.438 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.724 | 1.17 | 7.596 | 9.67 | 79.433 | 0.00 | 831.794 | 0.00 | 8709.636 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.832 | 1.60 | 8.710 | 1.10 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.955 | 2.10 | 10.000 | 3.19 | 104.713 | 0.00 | 1095.478 | 0.00 | | |
| 0.125 | 0.00 | 1.096 | 2.64 | 11.482 | 2.31 | 120.226 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

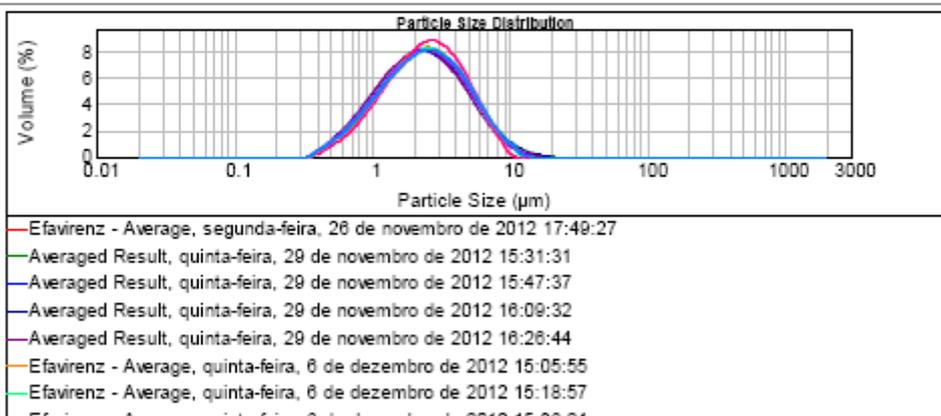


Result Analysis Report

Sample Name: Efavirenz - Average
SOP Name:
Measured: quinta-feira, 6 de dezembro de 2012 16:00:42
Sample Source & type: Supplier
Measured by: Malvern
Analysed: quinta-feira, 6 de dezembro de 2012 16:00:44
Sample bulk lot ref: EFZ-C1 (Prec. Intern.)
Result Source: Averaged

Particle Name: Fraunhofer
Accessory Name: Hydro 2000S (A)
Analysis model: General purpose
Sensitivity: Normal
Particle RI: 0.000
Absorption: 0
Size range: 0.020 to 2000.000 μm
Obscuration: 37.52 %
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Weighted Residual: 0.367 %
Result Emulation: Off

Concentration: 0.0122 %Vol
Span : 2.035
Uniformity: 0.63
Result units: Volume
Specific Surface Area: 3.29 m^2/g
Surface Weighted Mean D[3,2]: 1.826 μm
Vol. Weighted Mean D[4,3]: 2.954 μm



| Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % | Size (μm) | Volume In % |
|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|
| 0.010 | 0.00 | 0.105 | 0.00 | 1.036 | 4.66 | 11.482 | 0.12 | 120.228 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 |
| 0.011 | 0.00 | 0.138 | 0.00 | 1.259 | 5.35 | 13.183 | 0.01 | 138.038 | 0.00 | 1445.440 | 0.00 |
| 0.013 | 0.00 | 0.158 | 0.00 | 1.446 | 5.99 | 15.138 | 0.00 | 158.489 | 0.00 | 1659.567 | 0.00 |
| 0.015 | 0.00 | 0.192 | 0.00 | 1.690 | 6.55 | 17.375 | 0.00 | 181.970 | 0.00 | 1905.461 | 0.00 |
| 0.017 | 0.00 | 0.209 | 0.00 | 1.905 | 6.99 | 19.963 | 0.00 | 208.930 | 0.00 | 2187.752 | 0.00 |
| 0.020 | 0.00 | 0.245 | 0.00 | 2.188 | 7.27 | 22.909 | 0.00 | 238.883 | 0.00 | 2511.586 | 0.00 |
| 0.023 | 0.00 | 0.275 | 0.00 | 2.512 | 7.34 | 26.300 | 0.00 | 275.423 | 0.00 | 2894.002 | 0.00 |
| 0.026 | 0.00 | 0.318 | 0.00 | 2.884 | 7.19 | 30.200 | 0.00 | 316.228 | 0.00 | 3311.311 | 0.00 |
| 0.030 | 0.00 | 0.365 | 0.01 | 3.311 | 6.80 | 34.674 | 0.00 | 363.075 | 0.00 | 3801.594 | 0.00 |
| 0.035 | 0.00 | 0.417 | 0.32 | 3.802 | 6.21 | 39.811 | 0.00 | 416.889 | 0.00 | 4365.155 | 0.00 |
| 0.040 | 0.00 | 0.473 | 0.64 | 4.365 | 5.43 | 45.709 | 0.00 | 478.630 | 0.00 | 5011.872 | 0.00 |
| 0.046 | 0.00 | 0.532 | 1.04 | 5.012 | 4.55 | 52.481 | 0.00 | 548.541 | 0.00 | 5754.359 | 0.00 |
| 0.052 | 0.00 | 0.595 | 1.51 | 5.754 | 3.61 | 60.258 | 0.00 | 630.957 | 0.00 | 6606.934 | 0.00 |
| 0.060 | 0.00 | 0.671 | 2.04 | 6.607 | 2.71 | 69.163 | 0.00 | 724.436 | 0.00 | 7585.776 | 0.00 |
| 0.069 | 0.00 | 0.754 | 2.54 | 7.586 | 1.88 | 79.433 | 0.00 | 831.754 | 0.00 | 8709.656 | 0.00 |
| 0.079 | 0.00 | 0.852 | 3.25 | 8.710 | 1.21 | 91.201 | 0.00 | 954.993 | 0.00 | 10000.000 | 0.00 |
| 0.091 | 0.00 | 0.965 | 3.96 | 10.000 | 0.69 | 104.713 | 0.00 | 1095.478 | 0.00 | | |
| 0.105 | 0.00 | 1.096 | | 11.482 | | 120.228 | 0.00 | 1258.925 | 0.00 | | |

Operator notes:

ANEXO XXII

Equações utilizadas como base para os cálculos de aproximação do índice de refração da partícula de efavirenz

