

Desenvolvimento e Validação da Metodologia de Granulometria para Cloridrato de Metformina

Marcell Gamboa, Cassiano O. Silva, Elias S. Santos,
Carlos E. P. da Cunha & Erick O. Lemes

O tamanho das partículas de uma substância é importante para as operações de produções e processamento. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método adequado para análise quantitativa de tamanho de partículas da matéria-prima Cloridrato de Metformina, utilizando as técnicas de microscopia e difração a laser. Para a sua execução, foi adotada uma abordagem quantitativa aplicada, explicativa e utilizando-se um procedimento experimental laboratorial. O desenvolvimento e validação do método de granulometria transcorreram de forma satisfatória, considerando todas as etapas propostas neste estudo, conseguindo chegar a um método desenvolvido e validado de fácil execução e confiável.

Palavras-chave: *desenvolvimento; validação; Cloridrato de Metformina.*

The particle size of a substance is important for the production and processing operations. Thus, the aim of this study was to develop and validate an appropriate method for quantitative analysis of particle size of the raw material from Metformin hydrochloride, using microscopy techniques and laser diffraction. For its implementation adopted a quantitative approach was applied explanatory and using an experimental laboratory procedure. The development and validation of the past grading method satisfactorily considering all the steps proposed in this study, managing to reach a developed and validated method is easy to perform and reliable.

Keywords: *development; validation; Metformin hydrochloride.*

Introdução

As partículas estão presentes no nosso cotidiano em formas e apresentações variadas. Mais de 75% de todos os materiais processados na indústria são na forma particulada. As “partículas” podem ser sólidas, líquidas ou gasosas, ocorrendo em qualquer destas três fases, algumas são naturais, outras são processadas industrialmente e outras completamente sintetizadas¹.

O estudo das partículas torna-se relevante diante do universo de formas e tamanho as quais podem estar representadas; características que devem ser consideradas para o desenvolvimento e validação do método analítico de granulometria de partículas em fármacos e excipientes. Utilizando métodos analíticos apropriados, é possível avaliar a distribuição de tamanho das partículas, obtendo importantes informações a serem utilizadas no desenvolvimento e fabricação de produtos farmacêuticos¹.

As partículas processadas em tamanhos ideais proporcionam melhor desempenho do processo produtivo, obtendo produtos de melhor qualidade para a população. Medicamentos na forma de pó que apresentam partículas grandes podem não ter efetiva absorção pelo corpo, enquanto que partículas menores podem ser absorvidas mais rapidamente². A etapa de desenvolvimento analítico deve considerar todas as hipóteses levantadas em torno do material a ser analisado, bem como para qual será a aplicação desse, as partículas devem ser conhecidas com suas formas relatadas, para as partículas de tamanho esférico e homogêneo, o tamanho pode ser determinado unicamente através do diâmetro, entretanto para partículas não esféricas a medida do tamanho depende do método e técnica utilizada, o diâmetro de cada partícula pode ser determinado individualmente por microscopia através da medida linear².

ESTUDO DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS

A análise granulométrica de um fármaco consiste na determinação das dimensões das partículas que constituem as amostras (presumivelmente representativas dos sedimentos) e no tratamento estatístico dessa informação. Basicamente, é necessário determinar as dimensões das partículas individuais e estudar a sua distribuição, quer pelo peso de cada classe dimensional considerada, quer

pelo seu volume, quer ainda pelo número de partículas integradas em cada classe³.

A distribuição do tamanho de partícula influi de maneira significativa em várias etapas de produção e na microestrutura do material, afetando a resistência mecânica, a densidade e as propriedades térmicas e elétricas dos produtos acabados. Portanto, a sua determinação é uma etapa crítica em todos os processos que, de alguma maneira, envolvam materiais na forma de pós. Caso realizada incorretamente, podem ser geradas perdas econômicas, decorrentes de produtos de baixa qualidade e de altas taxas de rejeição⁴.

O tamanho de partícula exerce influência direta sobre a velocidade de dissolução do fármaco e sua biodisponibilidade, uma vez que, partículas de tamanhos reduzidos dispersam-se mais rapidamente por toda superfície de contato para absorção, especialmente, se este é limitado pela dissolução⁵.

É comum termos o tamanho da partícula avaliado através da medição da distância de um lado até o outro lado dessa, isto no caso de partículas esféricas, todavia temos uma grande variedade de formas irregulares, portanto não esféricas. Dessa forma, é determinante utilizar o cálculo do tamanho das partículas, considerando a medida da esfera equivalente, a qual se baseia no diâmetro equivalente. Um exemplo de demonstrar como esta correlação é refere-se a quando, hipoteticamente, possuímos a massa e densidade da partícula em análise, assim é possível encontrarmos o volume da partícula, o volume da esfera equivalente é o mesmo da partícula irregular na forma não esférica, é caracterizado pelo volume do diâmetro equivalente. Se dissermos que uma partícula irregular apresenta volume de diâmetro equivalente igual a 1 micrômetro, queremos dizer que tem o mesmo volume de diâmetro equivalente de uma partícula esférica de 1 micrômetro de diâmetro⁵.

MICROSCOPIA

A microscopia pode ser utilizada de forma preliminar à medição do tamanho das partículas, é a única técnica de medida direta. Por essa razão, é frequentemente utilizada como método padrão. É possível a realização de medidas relativas não só ao tamanho, mas também à forma das partículas, fornecendo uma quantidade maior de informações do que as outras técnicas convencionais.

Para a observação ao microscópio, as partículas são depositadas sobre uma lâmina, não havendo a necessidade de embutimento⁴.

A quantificação ou determinação do tamanho das partículas em microscópio conta com o advento da câmara de Neubauer (Figura 1), que consiste de uma lâmina de microscopia, bem mais alta do que uma lâmina normal, na qual existe uma câmara gravada no vidro, as duas partes mais escuras no centro. Cada lâmina contém geralmente duas câmaras, ao lado da câmara, existem dois suportes, as duas barras cinza-claro ao lado da câmara, que mantém uma lamínula especial de quartzo exatamente a 10,1mm acima do chão da câmara. Assim, quando se coloca uma solução na câmara e a cobre com a lamínula, a profundidade da solução é conhecida.

Nesta câmara, também são gravadas marcações que a

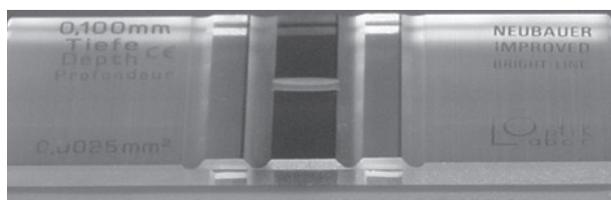


Figura 1. Câmara de Neubauer.

dividem em quadrantes de dimensões conhecidas. Cada câmara possui 9 quadrados de contagem, cada um com 1mm² de área (Figura 2), resultando em uma área total de 9 mm².

Observando-se o gabarito de uma Câmara de Neubauer

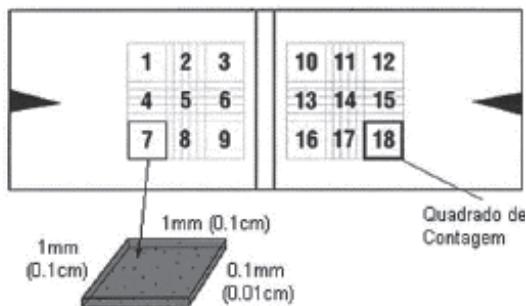


Figura 2. Área sob a Lamínula.

(Figura 3), percebe-se que existem três tipos diferentes de quadrados de contagens, denominados A, B e C. Pode-se notar que as marcações destes quadrantes têm dimensões diferentes, permitindo que sejam realizadas contagens de partículas de tamanhos diferentes: partículas grandes são contadas no quadrante A, as de tamanho intermediário no quadrante B e as partículas muito pequenas no quadrante C.

DIFRAÇÃO A LASER

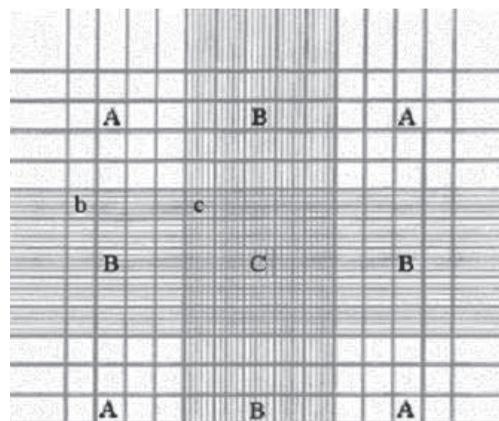


Figura 3. Gabarito de uma Câmara de Neubauer.

A difração a laser é uma técnica amplamente utilizada para determinação do tamanho de partículas para materiais que vão desde centenas de nanômetros a vários milímetros de tamanho. A utilização desta técnica está baseada em suas características peculiares, como: ampla faixa dinâmica que se inicia em submicrons até milímetros de tamanho, combinada à facilidade da medição, promovendo medições rápidas e respostas instantâneas, gerando resultados em menos de um minuto com grande repetibilidade e número de partículas amostradas em cada região⁵.

O equipamento de difração a laser utiliza a luz para determinação da distribuição do tamanho de partículas e baseia-se na exposição das partículas de uma amostra representativa dispersada em concentração adequada a um feixe de luz monocromática proveniente de um laser He-Ne, o espalhamento da luz apresenta ângulos variados que são detectados através de detectores (Figura 4) em que partículas pequenas dispersam a luz em grandes angulações e partículas grandes dispersam a luz em pequenas angulações (Figura 5), nesta técnica é aplicada

a teoria de Mie, em adição à teoria de Fraunhofer, considerando para cálculo de tamanho das partículas, o complexo compreendido entre o índice de refração da amostra, índice de refração do meio dispersante e o comprimento de onda da luz espalhada combinados em duas dimensões, há como foco de interesse a distribuição do tamanho primário das partículas através da proporção do volume dessas em seus diferentes tamanhos, tendo aglomeramentos e aglomerados dispersos antes da medição⁷.

VALIDAÇÃO

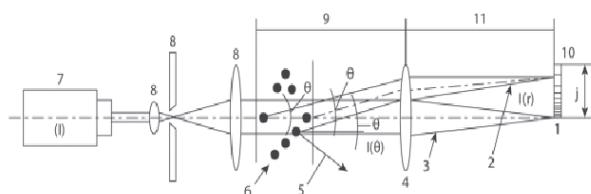


Figura 4. Exemplo de set-up de um equipamento de difração a laser⁷.

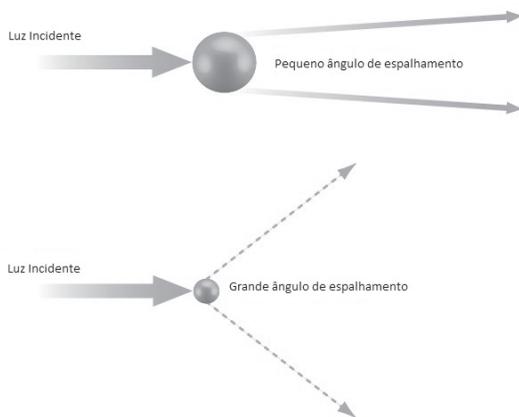


Figura 5. Dispersão do laser conforme o tamanho das partículas.

A validação da metodologia granulométrica é necessária para que todas as medidas e determinações sejam corretas com resultados precisos (reprodutíveis), tendo as variações analíticas contabilizadas estatisticamente. A validação da metodologia deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados⁸.

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas. A precisão pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), o valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5%⁸.

Precisão intermediária (precisão inter-corridas): concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária, recomenda-se um mínimo de 2 dias diferentes com analistas diferentes⁹.

FÁRMACO CLORIDRATO DE METFORMINA

Cloridrato de Metformina é um hipoglicemiante de uso oral, sendo, frequentemente, indicado para o tratamento da diabetes mellito do tipo II. Pertence ao grupo das biguanidinas e apresenta baixa toxicidade. Esta é quimicamente representada com a fórmula molecular C₄H₁₁N₅, (Figura 6) é comercializada como sal Cloridrato de Metformina (Metformina HCl) na sua grande maioria com a forma farmacêutica de comprimidos, em que o tamanho das partículas comprimidas interfere diretamente na solubilidade do fármaco¹⁰.

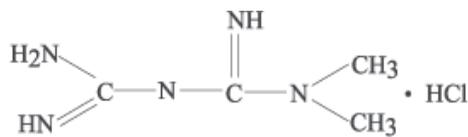


Figura 6. Estrutura molecular da substância Cloridrato de Metformina.

A molécula Cloridrato de Metformina (dimetibiguanida) é um derivado da guanidina, composto ativo hipoglicemiante da *Galega officinalis* (Figura 7). Essa erva medicinal, também conhecida como lilac francês, foi usada por séculos na Europa como tratamento diabético desde a época medieval¹¹.

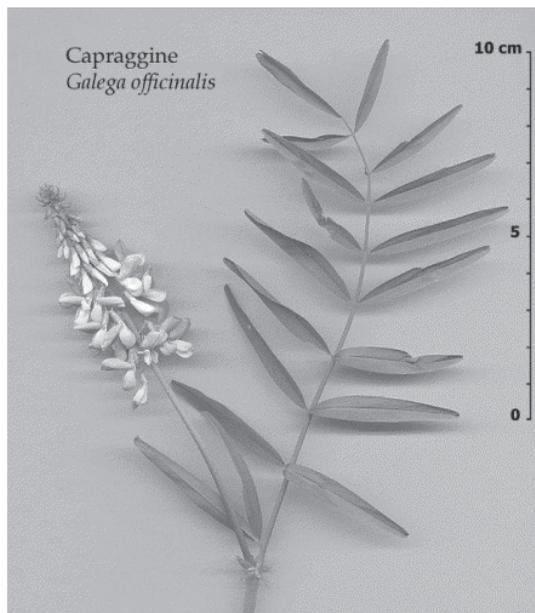


Figura 7. Galega officinalis.

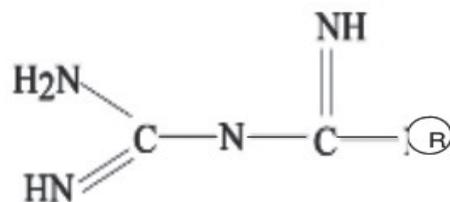


Figura 8. Estrutura Molecular da biguanida.

Metodologia

DESENHO DO ESTUDO

Para realização do estudo, foi utilizada uma metodologia quantitativa aplicada, explicativa, e um procedimento experimental laboratorial, baseada nos princípios de microscopia óptica e difração a laser, que propiciaram, através de ferramentas estatísticas, calcular o tamanho de partícula do fármaco Cloridrato de Metformina¹⁴.

LOCAL E CAMPO

Para o desenvolvimento e validação do método analítico proposto, foi utilizado o microscópio marca Quimis modelo Q7085-4 da Faculdade Anhanguera de Anápolis e o módulo de via úmida do equipamento Malvern modelo Mastersizer 3000 de uma Indústria Farmacêutica do Distrito Agroindustrial da cidade de Anápolis – Goiás.

AMOSTRA

Foi utilizada a matéria-prima Cloridrato de Metformina, na forma de pó cristalino branco, obtida no local da execução da pesquisa.

ANÁLISE

A análise foi iniciada com a realização de testes de solubilidade das amostras, série com água, seguida de isopropanol e óleo mineral para que fosse definido o solvente dispersante ideal, ao qual a amostra deveria ser preferencialmente insolúvel para que se pudessem evitar as ocorrências de solubilização de partículas ou aglomeração dessas.

O uso das guanidinas (fenformina, buformina e metformina) e seus derivados data do início do século passado. A Metformina e a fenformina foram introduzidas em 1957, e a buformina, em 1958. Apesar da longa história e de décadas de sucesso no uso clínico da Metformina no tratamento da DM2, seu mecanismo de ação permanece um enigma. Nem mesmo todo avanço da bioquímica e da biotecnologia conseguiu determinar exatamente seu alvo de atuação¹².

Há muitos anos, o extrato da planta *Galega officinalis* demonstrou importante efeito terapêutico ao reduzir os sinais e sintomas clássicos de *diabetes mellitus* descompensado. Em seguida, quando foi melhor estudada, demonstrou ser rica em guanidina, um composto altamente tóxico para o uso clínico diário. Por isso, em 1920 dois compostos químicos foram sintetizados, dexametilene biguanida (Sintalina A) e dodecametile biguanida (Sintalina B) que demonstraram boa tolerância e eficácia como opção terapêutica para o diabetes. Quase dez anos após, na Alemanha, foi sintetizada a Dimetil-biguanida, denominada Metformina, conhecida quimicamente como monoclóridrato de 1,1-dimetilbiguanida (figura 8)^{13,14}.

A amostra foi saturada no dispersante, em seguida com auxílio de uma micropipeta, a amostra foi aplicada em câmara de Neubauer com dimensões padrões de 50 μ m. A câmara de Neubauer foi posicionada no microscópio com foco em lente objetiva que propiciou melhor visualização das partículas. Nessa etapa do estudo, foram observadas as características morfológicas da partícula, o tamanho em relação ao quadrante de 50 μ m e o número de partículas por quadrante.

A etapa de desenvolvimento do método pela técnica de difração a laser contou com os dados obtidos anteriormente, com o estudo por microscopia, para propor a faixa de trabalho a ser utilizada nas análises do tamanho das partículas de Cloridrato de Metformina e suas características morfológicas, as quais foram necessárias para informar ao software do equipamento se as partículas apresentam formas esféricas ou irregulares.

No equipamento, foi colocado o solvente dispersante para o preenchimento da cuba do módulo via úmida, os parâmetros iniciais do equipamento como obscuração, RPM, tempo de medida, tempo de background e utilização de ultrassom, foram testados, devendo obedecer, como parâmetros básicos, os listados abaixo:

- Nível de obscuração: 3 a 30%
- RPM: 1800
- Tempo de medida: 5 Segundos
- Intervalo de Leitura: 5 minutos
- Tempo de background: 5 minutos
- Ultrassom: 0

Na sequência, estes parâmetros foram variados para a eleição dos melhores parâmetros, utilizados durante o desenvolvimento e validação do método. A adição da amostra no equipamento foi realizada gota a gota a dispersão da amostra na cuba do equipamento até que o nível de obscuração fosse alcançado. Em seguida, foi efetuado o comando no software do equipamento para que esse pudesse realizar no mínimo seis leituras seguidas no equipamento no tempo de leitura estabelecido.

Para a avaliação estatística, os resultados foram organizados na forma de histograma para que fosse possível a visualização da distribuição do tamanho das partículas. Essa avaliação serviu de base para o desenvolvimento da especificação de tamanho de partículas para a matéria-prima Cloridrato de Metformina, a qual foi seguida na etapa de validação do método analítico.

Para a validação do método, o solvente dispersante, preparo da amostra, preparo do equipamento e descrição dos dados estatísticos, foram os mesmos estabelecidos em toda a etapa de desenvolvimento. Durante a validação da metodologia, foram realizados testes de precisão e precisão intermediária através da reprodutibilidade dos resultados nos tamanhos determinados na especificação, em dias diferentes com analistas diferentes onde o desvio padrão relativo entre as amostras e as precisões foi menor que 2%¹⁵.

INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Como critério de inclusão, optou-se por utilizar a matéria-prima Cloridrato de Metformina, devido ao tamanho de partícula ser de suma importância na dissolução deste fármaco e por apresentar histórico de tamanho de partículas maior que 50 μ m, sendo possível a visualização na câmara de Neubauer.

Resultados e Discussão

TESTE DE SOLUBILIDADE DO FÁRMACO

Foram realizados testes de solubilidade do fármaco Cloridrato de Metformina, de acordo com o termo descritivo de solubilidade da Farmacopeia Brasileira 5^a Ed., onde o solvente "Solúvel" indica que 1g de sólido deve dissolver-se em 10 a 30 partes de solvente enquanto que o solvente "Praticamente insolúvel ou Insolúvel" indica que 1g de sólido não deve dissolver-se em mais de 10.000 partes do solvente¹⁶.

Os resultados encontrados para os solventes: Água, Óleo mineral e Isopropanol foram:

- Água – Solúvel;
- Óleo Mineral – Praticamente insolúvel ou Insolúvel;
- Isopropanol – Praticamente insolúvel ou Insolúvel.

Foi observado, por meio dos resultados, que o solvente Isopropanol apresentou menor grau de solubilidade da matéria-prima Cloridrato de Metformina,

sendo o solvente apropriado para a análise, visto que as partículas não podem solubilizar no dispersante para evitar aglomeração ou fracionamento das partículas. No comparativo com o solvente óleo mineral, também descrito como "Praticamente insolúvel ou Insolúvel", o reagente dispersante Isopropanol obtém vantagens, no sentido de melhor desempenho do equipamento, devido à característica de fácil aderência do óleo mineral nas paredes do equipamento proporcionando difícil estabilização e limpeza desse.

VISUALIZAÇÃO DA PARTÍCULA – MICROSCOPIA

Após a definição do solvente adequado para a dispersão da amostra de Cloridrato de Metformina, o preparo foi realizado saturando o fármaco na forma de pó no solvente Isopropanol e aplicado na câmara de Neubauer, na qual foi possível visualizar na lente de 40x que a partícula apresenta forma irregular e não esférica, com tamanho menor que 1mm², correspondente à dimensão do quadrante utilizado, conforme figura 9.



Figura 9. Partícula de Cloridrato de Metformina na objetiva de 40x.

A visualização da partícula contribuiu para o desenvolvimento do método analítico de granulometria, no sentido de conhecer a característica morfológica da partícula e de reportar ao software do equipamento de difração a laser, que utiliza esta informação para ajustar o tipo correto de cálculo a ser realizado para dimensionamento do tamanho da partícula. Na amostra analisada, não foi possível visualizar, através da câmara de Neubauer, a distribuição das partículas, de forma a ser possível contar ou medir o tamanho exato dessas. Assim, tornou-se possível apenas obter uma noção de tamanho, o que será de grande importância, quanto ao comparativo a ser realizado com os dados do método de difração a laser.

DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE DIFRAÇÃO A LASER

Foram realizados testes no equipamento de Difração a laser da marca Marvern, utilizando o módulo de via úmida, adicionando à cuba, preenchida com o solvente Isopropanol, uma porção da amostra saturada no mesmo dispersante para avaliação dos parâmetros de medida do equipamento. Foram realizados os testes com o advento do ultrassom e sem ultrassom, com intervalo de 5 minutos entre as leituras e leitura imediata. Então, verificou-se melhor desempenho do equipamento para obtenção da faixa de obscuração estabelecida de 3 a 30 e visualização do histograma de distribuição do tamanho de partículas, no modo ultrassom desligado e intervalo de leitura de 5 minutos. Isso foi considerado ideal para as leituras, visto que o ultrassom ligado pode realizar a quebra de partículas, gerando resultados questionáveis e dificuldades na validação do método analítico.

TESTE DE REPETIBILIDADE

Os resultados encontrados no teste de Repetibilidade foram avaliados, conforme a repetibilidade das leituras, as quais estão dispostas na tabela 1 e a distribuição do tamanho das partículas, correspondente ao histograma 1 (Figura 10).

Tabela 1. Dados obtidos no teste de repetibilidade.

Repetibilidade 01/11/2015				
RPM	1800			
Tempo de Leitura	5 Segundos			
Intervalo de Leitura	5 Minutos			
Ultrassom	0			
Leitura	d (0,1)	d (0,5)	d (0,9)	Residual
1	24,35	57,6	147,77	1,629
2	24,52	57,4	147	1,647
3	24,49	57,51	145,32	1,648
4	24,41	57,08	140,68	1,671
5	24,4	57,54	148,62	1,633
6	24,11	56,75	140,55	1,651
Média	24,38	57,31333333	144,99	1,6465
RSD %	0,59946927	0,579489022	2,4548767	0,905540745

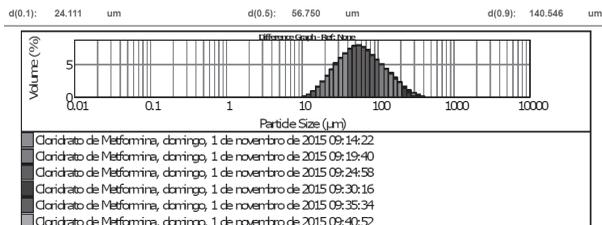


Figura 10. Histograma 01 das leituras realizadas no teste de Repetibilidade.

Os resultados encontrados, conforme tabela 01, demonstram que o equipamento e o método encontram-se adequados quanto à reprodução dos resultados das seis leituras realizadas da mesma amostra de Cloridrato de Metformina. Os critérios de aceitação utilizados foram: desvio padrão relativo (RSD %) < 2,0 e residual < 2,0 para os diâmetros d(0,1), d(0,5) e d(0,90).

A figura 10 demonstra a imagem da sexta leitura do teste de repetibilidade em que o diâmetro médio em d(0,1)=24,111µm, em d(0,5)=56,750µm e d(0,9)=140,546µm significando que, na distribuição em percentual de volume, 10% das partículas de Cloridrato de Metformina encontram-se com tamanhos até 24,111 µm, 50% das partículas até 56,750µm e 90% até 140,546µm.

TESTE DE PRECISÃO

Os resultados encontrados no teste de Precisão foram avaliados, conforme a reprodutibilidade das leituras, dispostas na tabela 02 e a distribuição do tamanho das partículas corresponde ao histograma 2 (Figura 11).

Os resultados encontrados, conforme tabela 02

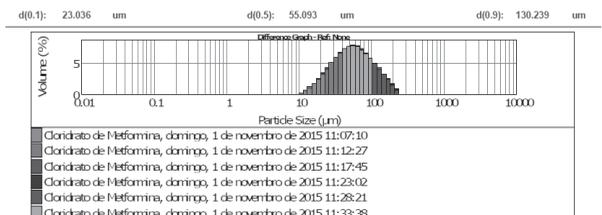


Figura 11. Histograma 2 das leituras realizadas no teste de Precisão.

Tabela 2. Dados obtidos no teste de Precisão.

Precisão Intermediária 02/11/2015				
RPM	1800			
Tempo de Leitura	5 Segundos			
Intervalo de Leitura	5 Minutos			
Ultrassom	0			
Leitura	d (0,1)	d (0,5)	d (0,9)	Residual
1	23,43	55,64	131,22	1,894
2	23,42	55,68	130,53	1,924
3	23,31	55,34	128,45	1,948
4	23,2	55,2	129,5	1,958
5	23,17	55,11	129,13	1,918
6	23,04	55,09	130,24	1,949
Média	23,26167	55,3433333	129,845	1,931833333
RSD %	0,657842	0,4715519	0,777213546	1,251975713

,demonstram que as seis leituras realizadas da mesma amostra de Cloridrato de Metformina estão abaixo do desvio padrão relativo médio de 3,0% para partículas maiores que 10µm para os diâmetros d(0,1), d(0,5) e d(0,90).

A figura 11 demonstra a imagem da sexta leitura do teste de Precisão, na qual o diâmetro médio em d(0,1)=23,036µm, em d(0,5)=55,093µm e d(0,9)=130,239µm significa que na distribuição em percentual de volume, 10% das partículas de Cloridrato de Metformina, encontram-se com tamanhos até 23,036 µm, 50% das partículas até 55,093µm e 90% até 130,239µm. É possível observar que a distribuição no teste de Precisão não apresentou diferença significativa em comparação ao teste de Repetibilidade, considerando que se trata de um novo preparo de amostra e novo acondicionamento do equipamento, podemos dizer que o método segue apto a ser validado até esta etapa.

TESTE DE PRECISÃO INTERMEDIÁRIA

A precisão intermediária é avaliada por meio da média entre os RSDs das leituras realizadas no teste de Precisão e Precisão intermediária (Tabela 3).

No teste de precisão intermediária, as amostras foram

preparadas em dia diferente e com analista diferente do que realizou a preparação no teste de Precisão, desta forma, é possível verificar se o método em questão sofre interferências com a mudança das condições e é possível simular a utilização desse na rotina do laboratório, visto que a metodologia será utilizada por diferentes analistas em compartilhamento do equipamento com demais metodologias.

Os resultados demonstrados na tabela 04 fornecem a comparação entre os RSDs dos testes de Precisão e Precisão intermediária, em que fica comprovada a eficiência do método dentro da variação proposta de no máximo de 3,0% de desvio padrão relativo entre os dois testes.

Tabela 3. Dados obtidos no teste de Precisão.

Precisão Intermediária 04/11/2015				
RPM	1800			
Tempo de Leitura	5 Segundos			
Intervalo de Leitura	5 Minutos			
Ultrassom	0			
Leitura	d (0,1)	d (0,5)	d (0,9)	Residual
1	25,95	59,84	140,84	1,756
2	25,76	59,47	138,58	1,782
3	25,66	59,18	138,15	1,78
4	25,47	58,51	134,94	1,775
5	25,38	58,36	136,16	1,769
6	25,32	58,35	137,24	1,79
Média	25,59	58,95166667	137,65167	1,775333333
RSD %	0,94887379	1,077409574	1,4896485	0,66425008

Tabela 4. Correlação entre os resultados encontrados nos testes de Precisão e Precisão intermediária.

Diâmetro	RSD %		
	d (0,1)	d(0,5)	d(0,9)
Precisão	0,657842	0,4715519	0,777213546
Precisão intermediária	0,94887379	1,077409574	1,4896485
Média RSD	1,132278895	1,010256687	1,522037796
Especificação	< 3,0	< 3,0	< 3,0
Status	Conforme	Conforme	Conforme

A figura 12 demonstra a imagem da sexta leitura do teste de Precisão intermediária, na qual o diâmetro médio em $d(0,1)=25,316\mu\text{m}$, em $d(0,5)=58,348\mu\text{m}$ e $d(0,9)=137,244\mu\text{m}$ significando que na distribuição em percentual de volume, 10% das partículas de Cloridrato de Metformina encontram-se com tamanhos até $25,316\mu\text{m}$, 50% das partículas até $58,348\mu\text{m}$ e 90% até $137,244\mu\text{m}$.

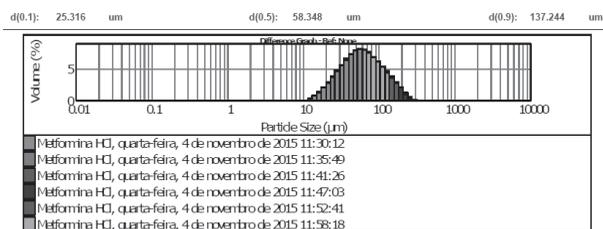


Figura 12. Histograma 03 das leituras realizadas no teste de Precisão intermediária.

ESPECIFICAÇÃO PARA TAMANHO DE PARTÍCULAS DE CLORIDRATO DE METFORMINA

De acordo com os dados obtidos em todos os resultados dos testes realizados foi possível propor uma especificação para controle de qualidade do fármaco Cloridrato de Metformina no que diz respeito ao tamanho de partículas, portanto, baseado nos diâmetros médios encontrados, a especificação sugerida é para que 10% das partículas apresentem-se abaixo de $25\mu\text{m}$, 50% das partículas apresentem-se abaixo de $55\mu\text{m}$ e 90% das partículas apresentem-se abaixo de $135\mu\text{m}$, ou seja:

$$d(0,1) < 25\mu\text{m}; d(0,5) < 55\mu\text{m}; d(0,9) < 135\mu\text{m} \quad (1)$$

Com esta especificação acredita-se e ficou demonstrado, por meio da eficácia e robustez do método, que é possível controlar o tamanho das partículas do insumo farmacêutico Cloridrato de Metformina como critério de aprovação desse, com o objetivo de aperfeiçoar o desempenho produtivo.

Conclusões

O estudo de granulometria, realizado acima, da matéria-prima Cloridrato de Metformina na forma de pó demonstrou que a metodologia desenvolvida por meio das técnicas de microscopia e difração a laser é eficaz e robusta para utilização na rotina laboratorial como ferramenta de controle da qualidade física do material.

Foi possível observar, durante a performance dos testes, que a câmara de Neubauer é de extrema importância no reconhecimento das partículas e definição de suas principais características, como por exemplo, a estrutura e forma. Todavia, a técnica por câmara de Neubauer, por si só, não pode ser indicada, no que diz respeito à contagem e dimensionamento do tamanho das partículas, visto que mediante a câmara, foi possível apenas visualização subjetiva e qualitativa das partículas. De contrapartida, a técnica de Microscopia, a difração a laser mostrou-se como uma técnica quantitativa de fácil aplicação e confiável, utilizando a via úmida do equipamento da marca Malvern, em que os resultados encontrados apresentaram-se, conforme os critérios utilizados para a validação da metodologia. Assim, foi possível a criação de uma especificação para avaliação da matéria-prima.

O desenvolvimento e validação do método de granulometria de Cloridrato de Metformina transcorreram de forma satisfatória, considerando todas as etapas propostas neste estudo. Dessa forma, conseguiu-se chegar a um método, desenvolvido e validado de fácil execução e confiável podendo ser disponibilizado para a indústria farmacêutica, como fonte de pesquisa para análise e estudo de tamanho de partículas de Cloridrato de Metformina. Trata-se, portanto, de uma forma de prevenção e melhoria operacional no processo produtivo de comprimidos que utilizam este mesmo princípio ativo.

Referências

- Merkus, H. G. Particle Size Measurements: Fundamentals, Practice Quality. Springer Science & Business Media, **2009**.
- Allen, T. Powder Sampling and Particle Size Determination. Elsevier, **2003**.
- Dias, J. A. A Análise Sedimentar e o Conhecimento dos Sistemas Marinhos. Universidade do Algarve Faro, **2004**.
- Papini, C. J. Estudo Comparativo de Métodos de Determinação do Tamanho de Partículas. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, **2003**.
- Washington, C. Particle Size Analysis In Pharmaceuticals And Others Industries: Theory And Practice. CRC Press, **2005**.
- Lucarini, A. C.; Silva, L. A.; Bianchi, R. A. C. Um Sistema Para a Contagem Semi-Automática de Microorganismos. Revista pesquisa & tecnologia FEI. **2004**, 26.
- USP. United States Pharmacopoeia Convention, General chapter Light Difraccion Measurement of Particle size, US Pharmacopoeia, **2015**, 37.
- A. C. Fundamentos de Química Analítica. Equilíbrio iônico y análisis químico, Univ. Nacional de Colombia, **2002**.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, BRASIL. Resolução RE nº 899 de 29/5/2003, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, **2003**.
- Saraiva, A. M. Biguanides in the treatment of diabetes mellitus. Acta Med. Port., Lisboa, Suppl. **1989**, 15S-18S.
- Fernandes, C.; Guimarães, F. P. O.; Narita, M. A. Cloridrato de Metformina, Revisão Bibliográfica. Fundação Educacional de Fernandópolis, **2011**.
- La Roca, M. F.; Sobrinho, J. L. S.; Nunes, L. C. C.; Neto, P. J. R. Desenvolvimento e Validação de Método Analítico: passo importante na produção de medicamentos. Revista Brasileira de Farmácia, **2007**.
- Sirtori, C. R.; Franceschini, G.; Galli-Kienle, M.; Cighetti, G.; Galli, G.; Bondioli, A.; Conti, F. Disposition of metformin (N,N-dimethylbiguanide) in man. Clin. Pharmacol. Ter, St. Louis, **1978**, 24, 683-693.
- Pinho, J. J. R. G.; Storpirtis, S. Estudo comparativo "in vitro" das propriedades biofarmacocinéticas de comprimidos de Cloridrato de Metformina comercializados no Brasil, Revista Brasileira de ciências farmacêuticas, **2001**.
- Moresi, E. Metodologia da Pesquisa. Universidade Católica de Brasília, **2003**.
- Farmacopéia Brasileira. Farmacopeia Brasileira, Capítulo Geral Solubilidade. Brasília, **2010**, 5a.

Marcell Gamboa*, Cassiano O. Silva, Elias S. Santos, Carlos E. P. da Cunha & Erick O. Lemes.

Faculdade Anhanguera de Anápolis, Curso de Farmácia, AV. Universitária, 683 - Centro, Anápolis, Goiás, Brasil, CEP 75080-150.

* E-mail: marcellgamboa@hotmail.com