

TAMIRES MENZANOTI FUGI

**DAPSONA: VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS
PARA FORMULAÇÕES PADRONIZADAS NA FORMA
FARMACÊUTICA CÁPSULA**

Alfenas

2019

TAMIRES MENZANOTI FUGI

**DAPSONA: VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS
PARA FORMULAÇÕES PADRONIZADAS NA FORMA
FARMACÊUTICA CÁPSULA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para o título
de Mestre pela Universidade Federal de Alfenas – MG.

Área de concentração: Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^ª Titular Magali Benjamim de Araújo

Co-orientadora: Dra. Lilian Pereira Franco

Alfenas

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Fugi, Tamires Menzanoti.

Dapsona: validação de métodos analíticos para formulações padronizadas na forma farmacêutica cápsula / Tamires Menzanoti Fugi. -- Alfenas/MG, 2019.
113 f. : il. –

Orientadora: Magali Benjamim de Araújo.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alfenas, 2019.
Bibliografia.

1. Dapsona. 2. Composição de medicamentos. 3. Solubilidade. 4. Dissolução. 5. Espectrofotometria ultravioleta. I. Araújo, Magali Benjamim de. II. Título.

CDD 615.7922

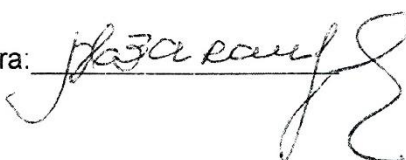
TAMIRES MENZANOTI FUGI

**“DAPSONA: VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA FORMULAÇÕES
PADRONIZADAS NA FORMA FARMACÊUTICA CÁPSULA”**

A Banca examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Ciências Farmacêuticas
pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 05/10/2019

Profa. Dra. Magali Benjamim de Araújo
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profa. Dra. Taizia Dutra Silva
Instituição: UFVJM

Assinatura: 

Profa. Dra. Mariane Gonçalves Santos
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Dedico este trabalho a Deus, que me dá forças para que possa realizar meus sonhos; e à minha família, especialmente meus pais, por todo apoio e suporte sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar saúde e força para a realização desse trabalho.

À minha família, especialmente meus pais, pelo suporte e apoio durante toda a minha vida.

À minha orientadora, Professora Titular Magali Benjamim de Araújo, pelos conhecimentos compartilhados e exemplo de profissionalismo.

À minha co-orientadora, Dra. Lilian Pereira Franco, pelo apoio, profissional e pessoal durante esses dois anos.

A toda equipe do Núcleo Controle de Qualidade, pelo apoio e acolhimento durante os experimentos, que tornaram possível a realização deste trabalho. Especialmente à Dra. Olímpia Maria Martins Santos Vianna pelo incentivo e apoio.

A toda equipe do projeto de pesquisa (Chamada CNPq/Anvisa nº12/2015), pelo incentivo e amizade. Especialmente ao Prof. Dr. Rudy Bonfílio, cujo conhecimento foi essencial para o desenvolvimento desse projeto e Milena Carla Espósito, cuja experiência foi de grande valia para todos nós. E, também, à Mestre Aline de Carvalho Gomes Prudenciano pelo apoio e amizade desde a graduação em Química.

À Profa. Dra. Gislaíne Ribeiro Pereira, que esteve presente em todas as etapas do trabalho, ajudando com os estudos das formulações.

À Profa. Dra. Mariane Gonçalves Santos e ao Prof. Dr. Marcelo Garcia Trevisan pela importante contribuição no exame de qualificação.

À graduanda do curso de farmácia Thaís Maria de Oliveira Santos por ter sido uma grande amiga e companheira, me auxiliando durante uma etapa desenvolvida nesse trabalho.

A todos os alunos de pós-graduação envolvidos nesse projeto, especialmente o mestrando Thúlio Lemos, pela ajuda e companheirismo. E a Dra. Jennifer Tavares Jacon Freitas por todo apoio e amizade ao longo desses dois anos.

À Universidade Federal de Alfenas, em especial à Faculdade de Ciências Farmacêuticas e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

À secretária da pós-graduação em Ciências Farmacêuticas Fabiana, por ser atenciosa e disposta a ajudar sempre.

Ao CNPq/Anvisa, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente participaram da realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A dapsona (diaminodifenilsulfona) é uma sulfona antimicrobiana sintética que tem sido usada no tratamento da lepra e outras doenças dermatológicas. O mecanismo de ação da dapsona é a inibição da biossíntese de proteínas pelo antagonismo competitivo com o ácido para-aminobenzóico. Os objetivos desta pesquisa foram padronizar formulações para cápsulas de dapsona 50 e 100 mg, utilizando planejamento fatorial de misturas, validar um método analítico para quantificação do fármaco e sua liberação a partir da forma farmacêutica cápsula além de realizar estudo de polimorfismo em formas cristalinas. A validação foi realizada por espectrofotometria na região do UV utilizando método rápido, de fácil e baixo custo, além de envolver solventes menos agressivos ao meio ambiente. Tal método apresentou linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de quantificação e detecção atendendo aos novos requisitos estabelecidos pela RDC 166/2017. As formulações propostas a partir do planejamento fatorial foram analisadas quanto ao peso médio, desintegração, doseamento e uniformidade de doses unitárias, e foram então selecionadas a partir de análise estatística para o estudo de liberação do fármaco. O perfil de dissolução mostrou que para dapsona 100 mg as formulações F4, F10 e F14, apresentaram quantidade de dapsona dissolvida superior a 85% em 30 minutos, caracterizando formulações de liberação imediata. A comparação dos perfis obtidos pelo cálculo da eficiência de dissolução (ED) mostrou que as três formulações selecionadas apresentaram Q30% acima de 85% em 30 minutos (F4 Q30% = 93,98; F10 Q30% = 85,96; F14 Q30% = 86,20), além de resultados satisfatórios para teor e uniformidade de doses unitárias, e podem ser sugeridas como formulações padronizadas para dapsona 100 mg na forma farmacêutica em cápsula. As formulações F1, F9, F15, selecionadas para dapsona 50 mg, apresentaram bons resultados para teor de fármaco e uniformidade de doses unitárias com um valor de aceitação (VA) inferior a 15. As amostras de dapsona (insumo farmacêutico ativo) recristalizadas, utilizando diversos solventes, apresentaram padrão de difração com predominância da forma III que é a forma comercializada. A análise de variância mostrou que a forma III foi estatisticamente mais solúvel em ácido clorídrico, tampão acetato, tampão fosfato e água em relação ao hidrato no tempo necessário para atingir o equilíbrio.

Palavras-chave: Dapsona. Formulações. Validação. Polimorfismo. Solubilidade. Perfil de Dissolução. Espectrofotometria de absorção no UV.

ABSTRACT

Dapsone (diaminodiphenylsulfone) is a synthetic antimicrobial sulfone that has been used in the treatment of leprosy and other dermatological diseases. The mechanism of action of dapsone is the inhibition of protein biosynthesis by competitive antagonism with para-aminobenzoic acid. The objectives of this research have been standardized formulations for capsules of dapsone 50 and 100 mg using factorial design of mixtures, validation of an analytical method for quantification of the drug and its release from the pharmaceutical form capsule in addition to performing polymorphism study in crystalline forms. The validation has been performed by spectrophotometry in the UV region using fast, easy and low cost method, besides involving solvents less aggressive to the environment. This method presented linearity, precision, accuracy, robustness, limit of quantification and detection in compliance with the new requirements established by RDC 166/2017. The formulations proposed from the factorial design have been analyzed for mean weight, disintegration, dosage and uniformity of unit doses, and have been selected from statistical analysis for the study of drug release. The dissolution profile showed that for dapsone 100 mg the formulations F4, F10 and F14, presented dissolved dapsone content greater than 85% in 30 minutes, characterizing immediate release formulations. The comparison of the profiles obtained by the calculation of the dissolution efficiency (DE) showed that the three formulations selected presented Q30% above 85% in 30 minutes (F4 Q30% = 93.98, F10 Q30% = 85.96, F14 Q30% = 86.20), as well as satisfactory results for unit dose content and uniformity, and may be suggested as standard formulations for dapsone 100 mg in capsule pharmaceutical form. Formulations F1, F9, F15, selected for dapsone 50 mg, have been showed good results for drug content and uniformity of unit doses with an acceptance value (AV) of less than 15. The dapsone (active pharmaceutical ingredient) samples recrystallized using several solvents, showed diffraction pattern with predominance of form III that is the commercialized form. Analysis of variance showed that form III was statistically more soluble in hydrochloric acid, acetate buffer, phosphate buffer and water relative to the hydrate in the time required to reach equilibrium.

Keywords: Dapsone. Formulations. Validation. Polymorphism. Solubility. Dissolution Profile. UV absorption spectrophotometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura química da dapsona.....	22
Figura 2 -	Varredura espectral das soluções analisadas na seletividade do método, na concentração de 5 µg/mL e utilizando mistura de etanol e água (50:50) como solvente.....	59
Figura 3 -	Representação gráfica da curva analítica do ensaio de linearidade do método para dapsona por espectrofotometria UV a 291 nm.....	61
Figura 4 -	Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.	63
Figura 5 -	Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg utilizando aparato pá e rotação 50 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).....	75
Figura 6 -	Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg utilizando aparato cesta e rotação 50 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).....	75
Figura 7 -	Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg utilizando aparato cesta e rotação 100 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).....	76
Figura 8 -	Varredura espectral de solução de dapsona SQR, na concentração de 20 µg/mL, utilizando HCl 2% como solvente, placebo mais padrão e excipientes.....	77
Figura 9 -	Representação gráfica da curva analítica do ensaio de linearidade do método para quantificação de dapsona por espectrofotometria UV.....	77
Figura 10 -	Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.....	80
Figura 11 -	Perfil de dissolução da formulação 4, (meio de dissolução ácido clorídrico 2%, volume de 1000 mL, temperatura de 37°C± 1°C, aparato cesta e rotação de 50 rpm) com quantificação por espectrofotometria UV.....	86
Figura 12 -	Perfil de dissolução da formulação 10 (mesmas condições da figura 11).....	86

Figura 13 - Perfil de dissolução da formulação 14 (mesmas condições da figura 11).....	87
Figura 14 - Comparativos dos difratogramas do hidrato e matéria prima com as tentativas DDS3.2 e DDS5.2.....	89
Figura 15 - Simulação dos padrões de difração das formas cristalinas de dapsona, hidrato e PXRD experimental do IFA utilizado nesse estudo.....	90
Figura 16 - Espectros de absorção no infravermelho para dapsona.....	93
Figura 17 - Espectros de absorção no infravermelho de dapsona e DDS5.2.....	94
Figura 18 - Curvas DSC obtidas para hidrato e IFA. Velocidade de varredura de 10°C/min, 20-280°C, sob atmosfera de nitrogênio a 50mL/min.....	94
Figura 19 - Cromatograma da solução de dapsona 30 µg/mL em HCl 0,1M.....	96
Figura 20 - Representação gráfica da dispersão de dados do ensaio de linearidade.....	97
Figura 21 - Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.....	97
Figura 22 - Representação gráfica dos dados de solubilidade para dapsona IFA e hidrato, por CLAE.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Excipientes para fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	26
Tabela 2 -	Composição dos placebos utilizados para testar a granulometria.....	36
Tabela 3 -	Preparo das soluções para construção da curva analítica para dapsona, utilizando a espectrofotometria UV.....	40
Tabela 4 -	Preparo de soluções para obtenção da curva analítica para dapsona, por espectrofotometria no UV.....	48
Tabela 5 -	Quantidade de placebos e padrão utilizados no ensaio de precisão e exatidão.....	49
Tabela 6 -	Parâmetros do experimento fatorial.....	54
Tabela 7 -	Planejamento fatorial para obtenção de formulações diferentes de cápsulas a serem testadas.....	55
Tabela 8 -	Composição granulométrica do placebo 1.....	56
Tabela 9 -	Composição granulométrica do placebo 2.....	56
Tabela 10 -	Composição granulométrica do fármaco.....	56
Tabela 11 -	Valores de absorvâncias obtidos na construção da curva analítica para dapsona com as respectivas médias e desvios padrão relativos (DPR%) por espectrofotometria na região do ultravioleta.....	60
Tabela 12 -	Valores obtidos de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade para dapsona por espectrofotometria UV.....	62
Tabela 13 -	Valores obtidos no Teste de Cochran, ao nível de 5 % de significância, aplicado aos dados ponderados do ensaio de linearidade para dapsona por espectrofotometria UV.....	62
Tabela 14 -	Valores obtidos na análise de variância.....	63
Tabela 15 -	Valores obtidos de resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade por espectrofotometria UV.....	64
Tabela 16 -	Valores obtidos na determinação da precisão intradia para dapsona e placebo 1, por espectrofotometria UV.....	65
Tabela 17 -	Valores obtidos na determinação da precisão intradia para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.....	65

Tabela 18 -	Valores obtidos na determinação da precisão interdias para dapsona e placebo 1, por espectrofotometria UV.....	66
Tabela 19 -	Valores obtidos na determinação da precisão interdias para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.....	66
Tabela 20 -	Valores obtidos na determinação da recuperação para dapsona e placebo 1 por espectrofotometria UV.....	67
Tabela 21 -	Valores obtidos na determinação da recuperação para dapsona e placebo 2 por espectrofotometria UV.....	67
Tabela 22 -	Valores obtidos na robustez do método para dapsona e placebo 1, por espectrofotometria UV.....	68
Tabela 23 -	Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona e placebo 1.....	68
Tabela 24 -	Valores obtidos na robustez do método para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.....	69
Tabela 25 -	Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.....	69
Tabela 26 -	Valores obtidos de peso médio das formulações de dapsona 50 e 100 mg.....	70
Tabela 27 -	Valores de teor obtidos para as formulações de dapsona 50 e 100 mg, por espectrofotometria a 291nm.....	71
Tabela 28 -	Valores de aceitação obtidos na determinação da uniformidade de doses unitárias para formulações de dapsona nas doses de 50 mg e 100 mg.....	72
Tabela 29 -	Valores de aceitação (VA) obtidos nos ensaios de variação de peso realizados em dois lotes e respostas calculadas.....	73
Tabela 30 -	Efeitos calculados referentes aos níveis de cada variável.....	74
Tabela 31 -	Formulações propostas para dapsona na dose de 50 mg.....	74
Tabela 32 -	Formulações propostas para dapsona na dose de 100 mg.....	74
Tabela 33 -	Valores de absorvâncias obtidos na construção da curva analítica para dapsona com as respectivas médias e desvios padrão relativos (DPR%) por espectrofotometria no UV.....	
Tabela 34 -	Valores de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade.....	78

Tabela 35 -	Valores obtidos no Teste de Cochran, ao nível de 5 % de significância, aplicado aos dados ponderados do ensaio de linearidade para dapsona por espectrofotometria.....	79
Tabela 36 -	Resultados obtidos pela análise de variância.....	79
Tabela 37 -	Valores correspondentes a análise de resíduos.....	80
Tabela 38 -	Valores obtidos no ensaio de precisão por repetitividade para dapsona com placebo 1 por espectrofotometria UV.....	81
Tabela 39 -	Valores obtidos no ensaio de precisão por repetitividade para dapsona com placebo 2 por espectrofotometria UV.....	81
Tabela 40 -	Valores obtidos no ensaio de exatidão para dapsona adicionado de placebo 1 e Desvio Padrão Relativo (DPR%) por espectrofotometria UV.....	82
Tabela 41 -	Valores obtidos no ensaio de exatidão para dapsona adicionado de placebo 2 e Desvio Padrão Relativo (DPR %) por espectrofotometria UV.....	82
Tabela 42 -	Valores obtidos no teste de robustez para dapsona com placebo 1 aplicado ao ensaio de dissolução.....	83
Tabela 43 -	Valores obtidos no teste de robustez dapsona com placebo 2 aplicado ao ensaio de dissolução.....	83
Tabela 44 -	Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona com placebo 1, por espectrofotometria.....	84
Tabela 45 -	Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona com placebo 2, por espectrofotometria.....	84
Tabela 46 -	Valores médios obtidos no perfil de dissolução e respectivos DPR (%) das formulações testadas.....	85
Tabela 47 -	Valores obtidos na determinação da eficiência de dissolução e Q30 das formulações testadas.....	87
Tabela 48 -	Formulações padronizadas para dapsona nas doses de 50 mg e 100 mg.....	88
Tabela 49 -	Valores correspondentes aos picos de difração de raio-X (posições em 2θ) das formas cristalinas de dapsona e do hidrato em comparação com IFA e DAP H.....	90
Tabela 50 -	Resultados da espectrofotometria por infravermelho para dapsona.....	93
Tabela 51 -	Valores obtidos nos ensaios de precisão para dapsona.....	98
Tabela 52 -	Valores obtidos nos ensaios de exatidão para dapsona.....	98

Tabela 53 - Valores de recuperação de dapsona obtidos no ensaio de robustez..... 99

LISTA DE ABREVIATURAS

CLAE -	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CSD -	Cambridge Structural Database
DDS -	Diaminodifenilsulfona (Dapsona)
DPR -	Desvio Padrão Relativo
IFA -	Insumo Farmacêutico Ativo
LD -	Limite de Detecção
LQ -	Limite de Quantificação
SCB -	Sistema de Classificação Biofarmacêutico
SQR -	Substância Química de Referência
VA -	Valor de aceitação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1	ANTIMICROBIANOS.....	20
2.2	DAPSONA.....	20
2.3	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE DAPSONA.....	22
2.4	SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (SCB).....	23
2.5	EXCIPIENTES PARA FÁRMACOS DE CLASSE II.....	25
2.6	VALIDAÇÃO.....	27
2.7	DISSOLUÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS.....	29
2.7.1	Características do ensaio de dissolução	30
2.8	POLIMORFISMO.....	31
2.9	FORMAS CRISTALINAS DA DAPSONA.....	31
3	OBJETIVOS	33
3.1	OBJETIVO GERAL.....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	34
4.1.1	Materiais	34
4.1.2	Equipamentos	34
4.2	MÉTODOS.....	35
4.2.1	Processos tecnológicos para cápsulas	35
4.2.1.1	<i>Desenvolvimento das formulações</i>	35
4.2.1.2	<i>Determinação da granulometria dos pós</i>	36
4.2.1.3	<i>Determinação do Volume Aparente e Escolha do Invólucro</i>	37
4.2.1.4	<i>Manipulação das Cápsulas</i>	37
4.2.2	Validação do método analítico por espectrofotometria na região do ultravioleta	38
4.2.2.1	<i>Escolha do comprimento de onda e solvente adequado</i>	38
4.2.2.2	<i>Seletividade</i>	38
4.2.2.3	<i>Linearidade</i>	39
4.2.2.4	<i>Precisão</i>	40
4.2.2.5	<i>Exatidão</i>	41
4.2.2.6	<i>Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)</i>	41
4.2.2.7	<i>Robustez</i>	42
4.2.3	Análise de qualidade das formulações	43
4.2.3.1	<i>Peso Médio</i>	43
4.2.3.2	<i>Teste de Desintegração</i>	43
4.2.3.3	<i>Doseamento e Uniformidade de Doses Unitárias</i>	43
4.2.4	Análise Estatística	45
4.2.5	Validação do ensaio de dissolução	46
4.2.5.1	<i>Seletividade</i>	47
4.2.5.2	<i>Linearidade</i>	47
4.2.5.3	<i>Precisão</i>	48
4.2.5.4	<i>Exatidão</i>	49
4.2.5.5	<i>Robustez</i>	49
4.2.6	Perfis de dissolução	49
4.2.7	Obtenção de diferentes formas sólidas de dapsona	50
4.2.8	Caracterização das formas cristalinas	50

4.2.8.1	<i>Análise da matéria-prima por difração de Raios-X por pó (DRXP)</i>	51
4.2.8.2	<i>Análise da matéria-prima por espectrofotometria na região do infravermelho</i>	51
4.2.8.3	<i>Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial(DSC)</i>	51
4.2.9	Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para estudo de solubilidade	51
4.2.9.1	<i>Parâmetros cromatográficos</i>	51
4.2.9.2	<i>Seletividade</i>	52
4.2.9.3	<i>Linearidade</i>	52
4.2.9.4	<i>Precisão</i>	53
4.2.9.5	<i>Exatidão</i>	53
4.2.9.6	<i>Robustez</i>	53
4.2.10	Estudo de solubilidade	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	PROCESSOS TECNOLÓGICOS PARA CÁPSULAS.....	54
5.1.1	Desenvolvimento das formulações	54
5.1.2	Determinação granulométrica dos pós	55
5.1.3	Determinação do volume aparente e escolha do invólucro	57
5.1.4	Manipulação das cápsulas	58
5.2	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA.....	58
5.2.1	Escolha do comprimento de onda e solvente adequado	58
5.2.2	Seletividade	58
5.2.3	Linearidade	59
5.2.4	Precisão	64
5.2.5	Exatidão	67
5.2.6	Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)	67
5.2.7	Robustez	68
5.3	ANÁLISE DE QUALIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	69
5.3.1	Peso Médio	69
5.3.2	Teste de Desintegração	70
5.3.3	Doseamento e Uniformidade de Doses Unitárias	70
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	72
5.5	VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO.....	75
5.5.1	Seletividade	76
5.5.2	Linearidade	77
5.5.3	Precisão	81
5.5.4	Exatidão	82
5.5.5	Robustez	83
5.6	PERFIS DE DISSOLUÇÃO.....	84
5.7	OBTENÇÃO DE DIFERENTES FORMAS SÓLIDAS DE DAPSONA.....	88
5.8	CARACTERIZAÇÃO DAS FORMAS CRISTALINAS.....	89
5.8.1	Análise do IFA (dapsona) por difração de Raios-X por pó (DRXP)	89
5.8.2	Análise do IFA e hidrato por espectrofotometria na região do infravermelho	92
5.8.3	Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	94
5.9	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE.....	95
5.9.1	Seletividade	95

5.9.2	Linearidade.....	97
5.9.3	Precisão.....	98
5.9.4	Exatidão.....	98
5.9.5	Robustez.....	98
5.10	ESTUDO DE SOLUBILIDADE.....	99
6	CONCLUSÕES.....	101
7	REFERÊNCIAS.....	103
8	APÊNDICES.....	110

1 INTRODUÇÃO

As formas farmacêuticas foram desenvolvidas no sentido de facilitar a administração do medicamento aos pacientes das mais variadas faixas etárias ou condições especiais, e para permitir seu melhor aproveitamento. Além disso, a forma farmacêutica se relaciona à via de administração a ser utilizada, ou seja, via oral, retal, intravenosa, tópica, vaginal, nasal, entre outras (DUTRA, 2012).

Do ponto de vista farmacêutico, as formas farmacêuticas sólidas (comprimidos, cápsulas e granulados) são consideradas as mais estáveis e prescritas, motivo pelo qual são muito utilizadas na fabricação do medicamento considerando desde o desenvolvimento da formulação, avançando para as etapas de processo, avaliação da qualidade, armazenagem, transporte e utilização pelo paciente. O que facilita a portabilidade, dosagem precisa por unidade, menor sensação de gosto em comparação às preparações líquidas (DUTRA, 2012, SILVA, 2013).

A forma farmacêutica cápsula tem-se tornado bastante atrativa em comparação às demais formas farmacêuticas, pois oferece boa adesão ao tratamento por mascarar o sabor e ser de fácil deglutição. Além disso, permite a mistura de vários ativos farmacêuticos e excipientes no mesmo invólucro, com redução nas etapas de processo. Podem ser gastro resistentes, admitindo uma fabricação mais fácil, rápida e economicamente viável, abrindo a possibilidade para ser manipulada em farmácias magistrais (BABU; NANGIA, 2011, DUTRA, 2012, DUCONSEILLE et al., 2015).

No Brasil, as farmácias de manipulação apresentam características diferentes das de outros países, uma delas é a oferta de variados tipos de medicamentos, mesmo aqueles já disponibilizados pela indústria farmacêutica, porém a preços mais baixos (FERREIRA, 2006, BERTOLLO, 2008, PINHEIRO, 2008, DUTRA, 2012).

Por outro lado, na preparação do medicamento, é preciso monitorar as características cristalinas de alguns fármacos no estado sólido, pois as moléculas podem existir em diferentes formas cristalinas, expressando assim diferentes propriedades físico-químicas, como a solubilidade aquosa e a taxa de dissolução. Ambas, são cruciais, uma vez que podem provocar impacto direto sobre a biodisponibilidade de um fármaco após administração oral (LUST et. al., 2013). Esta capacidade de uma substância no estado sólido assumir dois ou mais arranjos arquitetônicos de suas estruturas cristalinas é chamada polimorfismo (HILFIKER, 2006, BRANDÃO, 2006).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Gerência Geral de Inspeção de Medicamentos e Controle de Produtos, vem observando a inexistência no país de literatura técnica que sistematize ensaios, processos, e materiais utilizados por Laboratórios de Controle da Qualidade e Controle da Produção, no sentido de monitorar os ativos farmacêuticos quanto à presença de polimorfos, padronizar as formulações magistrais do mesmo ativo farmacêutico e desenvolver metodologias de análises validadas para controle da qualidade dos medicamentos manipulados (BRASIL, 2005, BRASIL, 2007).

Apesar das inúmeras vantagens que o medicamento manipulado oferece em relação ao industrializado, que vão desde a facilidade posológica até a econômica, são inúmeros os obstáculos que dificultam a evolução do setor. O maior desses obstáculos é a falta de credibilidade do produto manipulado pela suposta ausência de controle de qualidade efetivo das matérias-primas e produtos acabados, ausência de controle do processo na manipulação e sua reprodutibilidade, e a não comprovação da liberação do fármaco da forma farmacêutica (FERREIRA, 2002, GASPAROTTO, 2005, BRITTES, 2006, PINHEIRO et al., 2008b, SILVA, 2008).

Um dos muitos medicamentos manipulados e comercializados nas farmácias magistrais é a dapsona. A dapsona (diaminodifenilsufona), é uma sulfona sintética antimicrobiana que tem sido utilizada no tratamento da hanseníase e outras doenças dermatológicas. Contra o *Mycobacterium leprae* exerce ação tanto bactericida quanto bacteriostática, por mecanismo de ação semelhante ao das sulfonamidas. O fármaco inibe a biossíntese proteica por antagonismo competitivo com o ácido para-aminobenzóico. Também pode atuar como inibidor da diidrofolato redutase. A meia vida da dapsona é de 10 a 50 horas (média de 28 horas), porém o fármaco tende a ser retido na pele, no músculo, no fígado e nos rins por períodos maiores. A dose posológica máxima usual é de 100 mg (SAGO; HALL, 2002, KATZUNG, 2014, BARREIRO, 2015, KOROLKOVAS, 2015, BAUM et al, 2016).

Neste contexto, o setor magistral pode contribuir positivamente para prevenção e tratamento de doenças, pois permite a individualização e flexibilização de dose com manipulação personalizada. Até o momento, não se tem disponível nos códigos oficiais uma formulação padronizada para dapsona na forma farmacêutica cápsula. E também não existem registros sobre métodos analíticos para quantificação do ativo e estudos de liberação *in vitro* para a forma farmacêutica cápsula.

Devido a essa ausência de padronização e métodos analíticos para a forma farmacêutica cápsula, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Gerência Geral de Inspeção de

Medicamentos e Controle de Produtos, vem constatando a inexistência no país de literatura técnica que sistematize ensaios, processos, e materiais utilizados por Laboratórios de Controle da Qualidade e Controle da Produção. Através do Edital/Chamada CNPq/ANVISA N° 12/2015 - Monografias da Farmacopeia Brasileira, fomos contemplados com o projeto “Estudos para desenvolvimento de formulações padronizadas de cápsulas para uso magistral e os respectivos métodos de obtenção (Linha 3)”, que busca a contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do País, com Código Oficial Brasileiro (Farmacopéia Brasileira) no âmbito da Vigilância Sanitária. Dentre os fármacos listados na Chamada CNPq/ANVISA N° 12/2015, encontra-se a dapsona 50 e 100 mg, forma farmacêutica cápsula, que foi selecionada para esse projeto.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos estão entre os medicamentos mais prescritos e, também, entre os mais utilizados, muitas vezes, de modo incorreto. Como consequência do uso indiscriminado dos antimicrobianos tem-se o aparecimento de patógenos resistentes aos antibióticos, levando a uma necessidade cada vez maior de novos fármacos (GOODMAN & GILMAN, 2012, BARREIRO, 2015, KOROLKOVAS, 2015).

As micobactérias são intrinsicamente resistentes à maioria dos antibióticos. Como crescem mais devagar do que outras bactérias, os antibióticos mais ativos contra as células de crescimento rápido se mostram relativamente ineficazes. As micobactérias são notórias por sua capacidade de desenvolver resistência. As combinações de dois ou mais fármacos podem ser necessárias para que se evite o surgimento de resistência durante a terapia (KATZUNG, 2014). A resistência pode surgir em grandes populações de *Mycobacterium leprae*, como na hanseníase lepromatosa, quando são administradas doses muito baixas.

2.2 DAPSONA

As sulfonamidas clinicamente utilizadas são derivadas da dapsona e apesar do estudo e do desenvolvimento de uma grande variedade de sulfonas, este fármaco continua sendo o agente de maior utilidade clínica da hanseníase (GOODMAN & GILMAN, 2012, OLIVEIRA et al., 2014, WOZEL et al., 2014). A dapsona tem um papel estabelecido na terapia sistêmica. Suas propriedades farmacológicas e toxicológicas são bem conhecidas (WOHLRAB; MICHAEL, 2018).

A dapsona também pode ser utilizada no tratamento de doenças dermatológicas, além de ser utilizada para evitar e tratar doenças como tuberculose, malária, pneumonia por *Pneumocystis carini* e encefalites por *Toxoplasma gondii* em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (KATZUNG, 2014, OLIVEIRA et al, 2014).

Algumas manifestações cutâneas de dermatomiosite (DM) podem persistir após terapia com corticosteroides, imunossuppressores, antimaláricos ou combinação deles, porém foi observada uma boa resposta ao uso deste fármaco. Este fármaco pode ser também uma alternativa no tratamento de urticária crônica, quando o tratamento clássico com anti-

histamínicos é ineficaz. Neste caso ela é uma opção segura, eficaz, de baixo custo e muito útil no manejo de pacientes com quadros de difícil controle (SAGO; HALL, 2002, GALRÃO, 2006, PIRES, 2008, OLIVEIRA et al., 2014, BAUM et al, 2016).

Estudos recentes mostram que a dapsona apresenta perfil para candidato a fármaco neuroprotetor em disfunção cognitiva pós-operatória, se os resultados forem confirmados em humanos, ela poderia ser útil no tratamento dessa disfunção (YANG et al., 2017). Outros estudos recentes sugerem que a dapsona é eficaz e segura no tratamento do Penfigóide Bolhoso, doença dermatológica tratada com uso ao longo prazo de corticosteróides tópicos e/ou sistêmicos (STICHERLING et al., 2017).

A dapsona pode ser uma alternativa para o tratamento de Púrpura de Henoch-Schönlein (Púrpura Alérgica), é a vasculite mais frequente nos adolescentes e crianças. Alguns efeitos colaterais podem ser notados no tratamento, porém, a maioria dos pacientes sem doença predisponente, nem a suscetibilidade a esses efeitos, pode utilizar dapsona quando indicado (LEE et al., 2017).

O mecanismo de ação das sulfonas é idêntico ao das sulfonamidas: são inibidores competitivos da diidropteroato sintase e impedem a utilização bacteriana normal do ácido para-aminobenzóico. Ambas possuem aproximadamente a mesma faixa de atividade antibacteriana e são antagonizadas pelo ácido para-aminobenzóico (GOODMAN & GILMAN, 2012, BARREIRO, 2015, KOROLKOVAS, 2015, CHAVES et al., 2015).

As sulfonas são bem absorvidas a partir do intestino e se distribuem por todos os tecidos e líquidos orgânicos. A dapsona sofre absorção rápida e quase completa pelo trato gastrointestinal. As concentrações plasmáticas máximas de dapsona são alcançadas de 2 a 8 horas após sua administração (GOODMAN & GILMAN, 2012, KOROLKOVAS, 2015).

A meia vida da dapsona é de 10 a 50 horas (média de 28 horas), porém o fármaco tende a ser retido na pele, no músculo, no fígado e nos rins por períodos maiores. A pele intensamente infectada pelo *Mycobacterium leprae* pode conter várias vezes mais fármaco do que a pele normal. Ela atravessa a barreira placentária e é excretada no leite em grandes quantidades. É excretada principalmente pela urina (70 a 85%), na forma inalterada e de metabólitos; uma pequena fração é excretada pela bile, mas ela entra na circulação êntero-hepática, o que explica a permanência da dapsona no plasma durante várias semanas após a suspensão do tratamento. Para adultos, a dose utilizada é de 100 mg diárias. Para crianças, a dose é proporcionalmente menor, de acordo com o peso (KATZUNG, 2014, BARREIRO, 2015, KOROLKOVAS, 2015, ABEELE et al., 2016).

Dapsona é um IFA (insumo farmacêutico ativo), sensível à luz, caracterizada como um pó branco ou branco cremoso, sem odor e sabor ligeiramente amargo, de fórmula química $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ e massa molecular $248,29 \text{ g mol}^{-1}$ (Figura 1). É praticamente insolúvel em água, moderadamente solúvel em etanol e metanol, mas é livremente solúvel em acetona e em ácidos minerais diluídos (LEMMER, 2012a, LEMMER, 2012b, O'NEIL, 2013). O fármaco recebe a classificação como classe II no sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (CHAVES et al., 2015).

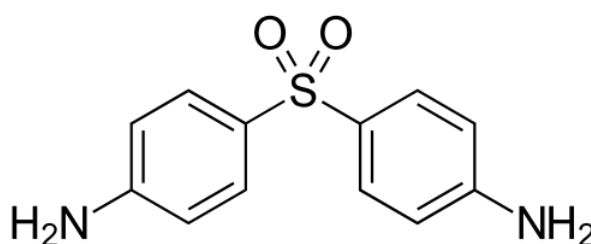


Figura 1 - Estrutura química da dapsona.

Fonte: da autora.

Este fármaco possui constante de dissociação (pK_a) igual a 2,41 e seu pK_b igual a 11,59, o que indica que em um meio com pH fisiológico ele tende a ficar ionizado, ou seja, ele tem comportamento básico. Outra informação importante é o coeficiente de partição ($\log P$), que é de 0,97, e tem relação com a permeabilidade do fármaco, que será explicada no tópico 2.4 (DRUGBANK, 2019).

2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE DAPSONA

Alguns métodos para quantificação de dapsona estão descritos na literatura. Como os das farmacopéias British Pharmacopeia 2017, volume I páginas 690 e 691; United States Pharmacopeia 40, volume 2, 2017, páginas 3636 a 3639; European Pharmacopoeia 6.0, volume 2, 2008 páginas 1646 e 1647 que apresentam monografias para matéria-prima, suspensão oral e forma farmacêutica comprimido de dapsona, não sendo disponibilizada monografia para forma farmacêutica cápsula.

Além dos métodos citados anteriormente, existem métodos descritos em publicações em periódicos, como o utilizado como parâmetro para quantificação de matéria prima e polimorfo

validado para este trabalho (SALAMA et al., 2012). Estudos recentes incluem um método cromatográfico para a quantificação simultânea de dapsona e clofazimina em nanoformulações (MACHADO et al., 2018).

2.4 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (SCB)

Desde meados da década de 1990, cientistas vêm trabalhando numa proposta para evitar a necessidade de estudos de bioequivalência em humanos. Após extensa pesquisa, o trabalho foi publicado, sugerindo um sistema de classificação de substâncias farmacêuticas em quatro grupos de acordo com as propriedades de solubilidade e permeabilidade do ativo farmacêutico (AMIDON et al., 1995, MEHTA et al., 2017). A Classificação Biofarmacêutica busca correlacionar a dissolução *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo*. (WU; BENET, 2005).

Uma ferramenta importante para a determinação da solubilidade e permeabilidade do fármaco é o coeficiente de partição ($\log P$). Este é um parâmetro informativo de uma substância, que uma vez no organismo humano, distribuir-se entre as estruturas apolares e as soluções aquosas. Se $\log P = 0$, então $P = 1$ e a substância tem a mesma afinidade por ambas as fases. Se $\log P < 0$, então $P < 1$ e a tendência da substância é de se dissolver preferencialmente na fase aquosa. Se $\log P > 0$, então $P > 1$ e a substância tem maior afinidade pelas estruturas apolares. Uma substância apresenta uma boa permeabilidade, quando $\log P$ tem valores entre 0 e 3 (ANDRICOPULO, 2019).

Compostos de Classe I, ou seja, com alta solubilidade e alta permeabilidade, devem ser rapidamente solubilizados quando incluídos em formas farmacêuticas de liberação imediata e, também, ser rapidamente transportados através da parede do trato gastrointestinal. Espera-se, portanto, que estes fármacos sejam bem absorvidos a menos que sejam instáveis, formem complexos insolúveis, sejam segregados diretamente a partir da parede do trato gastrointestinal, ou sofram metabolismo de primeira passagem. Os ensaios de dissolução para formulações de liberação imediata de fármacos pertencentes à Classe I necessitam apenas da verificação de que o fármaco é de fato rapidamente liberado da sua forma farmacêutica num meio aquoso (AMIDON et al., 1995, BRASIL, 2003, BRASIL, 2010).

Fármacos de Classe II são considerados de alta permeabilidade e baixa solubilidade e, nesta classe, o perfil de dissolução deve estar muito bem definido e ser altamente reprodutível. A dissolução dos fármacos da Classe II é o passo limitante para absorção, desta forma, as condições em que o ensaio de dissolução será realizado devem estar muito bem definidas. A

adequada comparação das formulações contendo fármacos desta classe requer ensaios de dissolução com múltiplas amostragens de modo a caracterizar o perfil de liberação.

Para esta classe devem ainda ser considerados meios que reflitam a situação *in vivo*, como a adição de surfactantes. Para obter boas correlações *in vitro/in vivo*, são particularmente importantes o estudo do meio de dissolução e o emprego de metodologias que reflitam o controle do processo *in vivo*. O estabelecimento de correlação *in vitro/in vivo* e o resultado da habilidade em discriminar formulações com diferentes biodisponibilidades irá depender de quão bem os ensaios *in vitro* foram estabelecidos (AMIDON et al., 1995, BRASIL, 2010, BRASIL, 2011). A dapsona está incluída na Classe II do SCB, ou seja, possui baixa solubilidade e alta permeabilidade (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004, WU; BENET, 2005, GREBOGI et al. 2012, BERGSTRÖM et al., 2014, CHAVES et al., 2015).

A Classe III abrange fármacos de alta solubilidade e baixa permeabilidade onde a permeabilidade é o passo que controla a velocidade de absorção do fármaco. Tanto a extensão quanto a velocidade de absorção podem ser altamente variáveis para esta classe de fármacos, mas se a dissolução é rápida, por exemplo, 85% dissolvido em menos de 15 minutos, esta consideração se torna mais susceptível às variações do trato gastrointestinal do que aos fatores da forma farmacêutica (AMIDON et al., 1995, BRASIL, 2003b, BRASIL, 2010).

Na Classe IV, estão agrupados os fármacos de baixa solubilidade e baixa permeabilidade, e são os que potencialmente podem apresentar problemas de absorção quando administradas por via oral. O estabelecimento de correlações para esta classe de fármacos é muito restrito. Estes fármacos têm uma fraca absorção em geral, mas considera-se que, tal como no caso dos fármacos de Classe II, uma pobre ou má formulação pode ter uma influência adicional negativa tanto na taxa como na extensão da absorção do fármaco (AMIDON et al., 1995, BRASIL, 2010, BRASIL, 20011).

Portanto, para as quatro categorias considera-se que ensaios de dissolução bem concebidos podem ser considerados a chave para o prognóstico na determinação da absorção oral e da bioequivalência dos fármacos a partir da sua forma farmacêutica (SACCONI, 2004).

Além disto, outros fatores interferem na dissolução como aqueles relacionados ao fármaco e a formulação (solubilidade, tamanho de partícula, natureza química, forma farmacêutica, excipientes e tecnologia de fabricação); relacionados ao equipamento (aparato, geometria e vibração do sistema, velocidade de agitação, posição da haste, posição e método de amostragem e dispositivo para formas farmacêuticas que flutuam); relacionados ao meio de dissolução (volume, presença de gases/ar, presença de bolhas de ar, pH, temperatura,

viscosidade, evaporação do meio, força iônica/pressão osmótica, tensoativo); relacionados ao meio ambiente (condições de estocagem); relacionados ao método analítico (método de filtração e método de análise), sendo que o teste a ser realizado deve considerar todas as variáveis do sistema (CULEN et al., 2013, DUCONSEILLE et al., 2015, ÂNGELO, 2016, UNITED, 2017).

2.5 EXCIPIENTES PARA FÁRMACOS DE CLASSE II

Os estudos relatados na literatura sobre excipientes para agregar fármacos que possuem baixa solubilidade e alta permeabilidade (Classe II) embasam-se no Sistema de Classificação Biofarmacêutica. A Tabela 1 apresenta os excipientes utilizados para essa classe de fármaco (FERREIRA, 2008, AMIDON et al., 1995, BERGSTRÖM et al., 2014).

Os excipientes são substâncias sem atividade farmacológica, que possuem a função de auxiliar na obtenção mais eficiente da forma farmacêutica desejada, agindo como diluentes, estabilizantes, conservantes, corantes, flavorizantes, entre outras funções (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011).

Embora os excipientes sejam farmacologicamente inertes, eles podem interagir com o fármaco, podendo afetar a estabilidade do medicamento em aspectos físicos, tais como propriedades organolépticas e dissolução ou quimicamente por causar a degradação do fármaco. A seleção cuidadosa de excipientes é necessária para uma formulação robusta e eficaz de forma que facilite a administração, aumente a adesão do paciente, promova a liberação e biodisponibilidade do fármaco e aumente a sua vida de prateleira (MACHADO et al., 2012; PATEL et al., 2015).

Além dos excipientes sugeridos na tabela, também se levou em consideração as funções de cada excipiente. Como O dióxido de silício coloidal, que atua como agente deslizante, a fim de otimizar a fluidez de pós. E o lauril sulfato de sódio, que atua como agente molhante, que tem por finalidade diminuir a tensão superficial na interface sólido/líquido, auxiliando na desintegração das cápsulas. Além da Lactose e Celulose, utilizadas como diluente nas formulações (MACHADO et al., 2012; PATEL et al., 2015).

Tabela 1 - Excipientes para fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

Sugestão 1		
Agente	Excipiente	Concentração (%)
Molhante	Lauril sulfato de sódio	1,0
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Lactose monoidratada malha 200 75,0% / Celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 2		
Molhante	Lauril sulfato de sódio	1,0
Desintegrante	Croscarmelose sódica	10,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Lactose monoidratada malha 200 75,0% / Celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 3		
Molhante	Lauril sulfato de sódio	1,0
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Manitol 75,0% /celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 4		
Molhante	Lauril sulfato de sódio	1,0
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Amido pré gelatinizado 75,0% /celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 5		
Molhante	Ducosato de sódio	0,5
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Amido pré gelatinizado 75,0% /celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 6		
Molhante	Lauril sulfato de sódio	1,0
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Diluyente e desintegrante	Amido pré gelatinizado 75,0% /celulose microcristalina 25,0%	qsp 100
Sugestão 7		
Molhante	Polissorbat 80 (tween 80)	3,0
Desintegrante	Glicolato sódico de amido	4,0
Deslizante	Dióxido de silício Coloidal	0,2
Diluyente e desintegrante	Lactose monoidratada malha 200 75,0% / Celulose microcristalina 25,0%	qsp 100

Fonte: FERREIRA, 2008.

2.6 VALIDAÇÃO

Alguns órgãos reguladores como International Conference on Harmonization (ICH), International Standard Organization (ISO), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Instituto Internacional de Metrologia (INMETRO), dentre outros, exigem a validação de métodos analíticos como requisito no credenciamento para qualidade assegurada e demonstração de competência técnica (BRASIL, 2017, ICH, 2005, INMETRO, 2010, ISO/IEC, 1999).

No Brasil, a resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 determina que a validação deva garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. O método deve apresentar seletividade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, exatidão, robustez, limite de quantificação e detecção adequadas à análise (BRASIL, 2017). Os parâmetros são definidos abaixo:

- a) Especificidade e Seletividade: Capacidade do método em medir exatamente, um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz;
- b) Linearidade: Capacidade de metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito no intervalo especificado;
- c) Intervalo: Corresponde à faixa entre os limites de quantificação superior e inferior do método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e depende da aplicação pretendida do método. É estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequadas quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado;
- d) Precisão: Avalia a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de amostragem múltipla da mesma amostra.

Esta é considerada em três níveis:

- repetitividade (precisão intra-corrída): Concordância entre resultados dentro de curto período de tempo, com o mesmo analista e mesma instrumentação. Deve ser verificada por, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada ou mínimo de 6 determinações a 100% da concentração do teste;

- precisão intermediária (precisão inter-corridas): Concordância entre resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para determinação da precisão intermediária recomenda-se um mínimo de 2 dias diferentes com analistas diferentes;
 - reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial): Concordância entre resultados obtidos por laboratórios diferentes com estudos colaborativos, geralmente aplicados à padronização de metodologia analítica, por exemplo, para inclusão de metodologia em farmacopeias. Estes dados não precisam ser apresentados para a concessão de registro. A precisão se expressa como desvio padrão ou desvio padrão relativo (DPR).
- e) Exatidão: Define-se pela proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Deve ser verificada por, no mínimo, 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas em cada nível;
- f) Robustez: Mede a sensibilidade que este apresenta frente a pequenas variações. Um método diz-se robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse está sendo executado. Durante o desenvolvimento da metodologia, deve-se considerar a avaliação da robustez. Constatando-se a susceptibilidade do método as variações nas condições analíticas, estas deverão ser controladas e precauções devem ser incluídas no procedimento. Os parâmetros analíticos devem ser baseados na intenção do uso do método. Se um método será usado na análise quantitativa em nível de teor, por exemplo, há necessidade de testar e validar parâmetros de linearidade, intervalo, precisão, exatidão e robustez do método;
- g) Limite de Quantificação: É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação é um parâmetro determinado, principalmente, para ensaios quantitativos de impurezas, produtos de degradação em fármacos e produtos de degradação em formas farmacêuticas e é expresso como concentração do analito (por exemplo, percentagem p/p ou p/v, parte por milhão) na amostra;
- h) Limite de Detecção: É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser detectada e não quantificada sob as condições experimentais estabelecidas.

2.7 DISSOLUÇÃO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

A dissolução em sistemas biológicos consiste no fenômeno em que um fármaco, no estado sólido, é liberado da forma farmacêutica de administração e se solubiliza. Portanto, a dissolução é uma importante condição para absorção sistêmica do fármaco, podendo afetar a biodisponibilidade do mesmo. O ensaio de dissolução *in vitro* mede a velocidade e a extensão de liberação do ativo no meio avaliado (AMIDON et al., 1995, ÂNGELO, 2016). A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral depende de sua liberação, da dissolução ou solubilização do mesmo em condições fisiológicas e de sua permeabilidade por meio das membranas do trato gastrintestinal (TGI). Devido à natureza crítica dos dois primeiros, a dissolução *in vitro* pode ser relevante para prever o desempenho *in vivo* (ANSEL et al., 2000, AULTON, 2005).

No desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos o ensaio de dissolução *in vitro* se constitui uma ferramenta cada vez mais importante de forma a simular o comportamento do fármaco no trato gastrintestinal e para criar essas condições, faz-se necessário utilização de equipamento de dissolução adequado e dados sobre a fisiologia humana (CULLEN et al., 2013). O comportamento de absorção do fármaco após a administração oral é influenciado por suas propriedades físico-químicas, como solubilidade, forma cristalina, fatores fisiológicos e forma farmacêutica, como cápsulas e comprimidos (FUJIOKA et al., 2008).

A taxa na qual os fármacos com baixa solubilidade em água se dissolve a partir da forma farmacêutica, intacta ou desintegrada, no trato gastrintestinal, geralmente é limitante para a absorção sistêmica dos mesmos. Deste modo, a dissolução de ativos pouco solúveis a partir de formas farmacêuticas de liberação imediata possui muitos desafios. Incluindo o desenvolvimento e a validação da metodologia de teste, garantindo que o mesmo seja apropriadamente discriminatório e que possui potencial correlação *in vivo/in vitro* (BRASIL, 2003, ÂNGELO, 2016, ANSEL et al., 2000).

Pode-se estabelecer uma relação direta entre a dissolução e a eficácia clínica do produto farmacêutico, dado que o fármaco deve encontrar-se dissolvido para difundir-se em líquidos do TGI e atravessar as membranas biológicas. Os compostos para serem administrados oralmente devem ter adequada solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, de forma a atingir sua concentração terapêutica na circulação sistêmica (AMIDON et al., 1995, ÂNGELO, 2016, BRASIL, 2011).

Atualmente, o ensaio de dissolução é um requisito considerado fundamental na indústria farmacêutica para assegurar a qualidade das formas farmacêuticas sólidas de uso oral. É utilizado para garantir a qualidade lote-a-lote, orientar o desenvolvimento de novas formulações e assegurar a uniformidade da qualidade e do desempenho do medicamento mesmo após determinadas modificações. Além disso, o ensaio permite otimização de formulações durante a fase de desenvolvimento, estudos de estabilidade, monitoramento dos processos de fabricação, assim como o estabelecimento de correlações *in vivo/in vitro*. A biodisponibilidade de fármacos da classe II é limitada pela taxa de dissolução, assim, com o seu aumento, pode haver um incremento da biodisponibilidade desta classe de fármacos (BRASIL, 2003, SACCONI, et al., 2004, BRASIL, 2010, BRASIL, 2011, GOMES et al., 2015, GNIADO et al., 2016).

2.7.1 Características do ensaio de dissolução

O teste de dissolução *in vitro* avalia a liberação do fármaco de formas farmacêuticas sólidas e semi-sólidas e tem como principal foco, no controle de qualidade, a detecção de desvios de fabricação para garantir desempenho *in vivo* consistente (GAO et al., 2018). O teste de dissolução *in vitro* se propõe a quantificar e a avaliar a taxa e a extensão da dissolução, sendo seu resultado expresso em porcentagem do fármaco declarada dissolvida, num certo período de tempo. Quando existe uma correlação com a biodisponibilidade *in vivo*, esta poderia ser acessada através do ensaio de dissolução *in vitro* avaliado (BRASIL, 2003, BRASIL, 2010, BRASIL, 2011, CULLEN et al., 2013, GOMES et al., 2015, ÂNGELO, 2016).

Com intuito de obter esta correlação, o desenvolvimento do ensaio de dissolução e da metodologia de quantificação do fármaco envolve a seleção de parâmetros, como característica e volume do meio de dissolução, pH do meio simulado ao trato gastrintestinal, velocidade de agitação do ensaio e utilização de equipamento específico e sensível para a quantificação (BRASIL, 2003, BRASIL, 2010).

O volume do meio de dissolução deve ser capaz de manter as condições sink, que preconiza a utilização de um volume não inferior a 3 vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco. Isto se faz necessário, visto que, um excesso de meio permite que o fármaco se dissolva continuamente (BRASIL, 2003, BRASIL, 2010).

2.8 POLIMORFISMO

Os materiais sólidos podem apresentar-se estruturados e espacialmente organizados. Esta regularidade estrutural é denominada cristal e é comum em substâncias e compostos sólidos. A cristalização é o processo de formação do cristal, caracterizada pelo agrupamento de aproximadamente 10²⁰ moléculas ou íons em um arranjo regular (BRANDÃO, 2006, FDA, 2017). Dentro deste contexto alguns termos possuem significados diferentes, são eles: polimorfo, solvato e sólido amorfo. Entretanto, os guias da Food and Drug Administration (FDA) e do International Conference on Harmonisation (ICH) direcionados ao tema consideram, de modo geral, o termo polimorfismo como “a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco” e abrangem, dentro do termo polimorfo, os solvatos/hidratos (EMEA, 2006, BRITAIN, 2010).

A compreensão da natureza polimorfa de um fármaco ou excipiente é de fundamental importância para o delineamento das formulações farmacêuticas. O fármaco pode sofrer alterações da forma cristalina durante processos como, por exemplo, secagem do granulado, moagem ou compactação. A mudança da forma cristalina pode acarretar alterações na temperatura de fusão, densidade, solubilidade, estabilidade física ou química, dissolução e biodisponibilidade de um fármaco e de sua formulação (BRANDÃO, 2006, BRITAIN, 2010, HILFIKER, 2006).

Nesse contexto, torna-se de fundamental importância a caracterização físico-química do fármaco por técnicas diversas tais como difração de raios X, análises térmica, espectrométricas (UV e IV) visando a melhoria da liberação do fármaco da forma farmacêutica *in vitro* (AMIDON et al., 1995, BABU, 2011).

2.9 FORMAS CRISTALINAS DA DAPSONA

As transformações de fase em sólido-sólido ou as inter-relações entre os polimorfos da dapsona foram publicadas por Kuhnert-Brandstätter e Moser (1979). De acordo com os autores a dapsona anidra, que existe à temperatura ambiente é chamada DDS forma III. A forma DDS III pode mudar por meio de um mecanismo baseado em enantiotropia para a forma DDS II aproximadamente a 82°C e reverter para a forma III a 70°C. Por esta razão, o ponto de fusão da forma DDS III não pode ser obtido. A forma DDS II funde a 177 °C. Diz-se que a forma I funde a 179 °C, mas é recristalizada a partir do fundido da forma II e existe uma relação enantiotrópica entre a forma I e a forma II e adicionalmente entre a forma I e III. A forma

hidratada de DDS foi denominada forma DDS IV e a sua forma desidratada funde a 170°C (KUHNERT-BRANDSTÄTTER, MOSER, 1979). Ainda segundo os autores, a forma usual encontrada como insumo farmacêutico ativo é forma III.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi padronizar formulações para cápsulas de dapsona 50 e 100 mg, validar método analítico para quantificar do fármaco e sua liberação a partir da forma farmacêutica cápsula.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- a) Propor formulações para dapsona na forma farmacêutica cápsula, por planejamento fatorial de misturas, e selecionar as formulações mais promissoras que produzam as melhores respostas.
- b) Manipular as formulações propostas, a partir de pesagens do fármaco e excipientes, processos de moagem e/ou tamização dos pós, mistura dos ingredientes, granulometria, volume aparente, utilizando procedimentos para encapsulação.
- c) Validar metodologia analítica para quantificação do ativo farmacêutico (doseamento) e uniformidade de doses unitárias;
- d) Avaliar a qualidade da forma farmacêutica manipulada quanto ao peso médio, desintegração, doseamento e uniformidade de doses unitárias;
- e) Padronizar as condições para realização do ensaio de dissolução para dapsona 100 mg, na forma farmacêutica cápsula, considerando o meio de dissolução, tipos de aparato, velocidade de rotação, tempos de coletas e o método de quantificação.
- f) Analisar estatisticamente os resultados.
- g) Obter cristais a partir da matéria-prima dapsona por técnicas de recristalização, caracterizar e realizar estudo de solubilidade.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos que foram utilizados nesse projeto estão descritos nos próximos tópicos.

4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

4.1.1 Materiais

Os materiais utilizados estão listados a seguir:

- a) Ácido clorídrico, Synth, lote 197257
- b) Água de osmose reversa Gehaka
- c) Cápsula gelatinosa incolor-n°4
- d) Celulose microcristalina Fagron, lote 15116198-002057A
- e) Dapsona Insumo Farmacêutico Ativo (IFA), fabricante: SUZHOU YINSHENG CHEMICAL CO. LTD/China; lote: 2016-01-16; validade: 08/01/2019
- f) Dióxido de Silício Coloidal, Henrifarma, lote 156012014-039377/16
- g) Etanol (álcool etílico) grau HPLC/UV, Dinâmica®, lote 64812.
- h) Lactose monohidratada Fagron, lote 16F21-B011-007051
- i) Lauril Sulfato de Sódio, Henrifarma, lote 0015282126-039353/16
- j) Substância Química de Referência, dapsona USP, lote R020A0, catalogo nº 1164008. Teor declarado 99,60%.

4.1.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados estão listados a seguir:

- a) Aparelho de ultrassom Unique, modelo USC 1400.
- b) Balança analítica Bel Ultra Mark, modelo 210
- c) Desintegrador Nova ética, modelo 3013.
- d) Dissolutor Electrolab ® modelo TDT-08 L (n=8).
- e) Encapsulador semi-automático Color Plus 240 Ideal®.
- f) Espectrofotômetros UV/Vis Shimadzu®, modelos 1601PC e 2001PC.

- g) Sistema de purificação de água Millipore®, modelo Direct-Q® 5; sistema purificador de água Gehaka®, modelo osmose reversa.
- h) Software Design Expert 5
- i) Balança analítica Sartorius CP225D.
- j) Balança analítica Sartorius– ALC.
- k) Difrátômetro de raios X de pó Rigaku® modelo Ultima IV (tipo II).
- l) Espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier Shimadzu®, modelo Affinity-1 (Shimadzu®) acoplado a acessório de amostragem por refletância total atenuada PikeMiracle® com cristais de ZnSePike Technologies®.
- m) Medidor de pH digital Del lab, modelo DLA-PH.
- n) Bomba de vácuo Nova Técnica.
- o) Estufa de secagem de pós e grânulos com circulação e renovação de ar CIENLAB mod. CE035/150.
- p) Aparelho de ultrassom Unique®, modelo USC 2800^a.
- q) Cromatógrafo líquido alta eficiência(Class-VP) - Shimadzu
- r) Cromatógrafo líquido UFLC - (LC solution) – Shimadzu

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Processos tecnológicos para cápsulas

4.2.1.1 Desenvolvimento das formulações

Para estudo das formulações de dapsona 50 e 100 mg em cápsula, inicialmente foi utilizada ferramenta de planejamento fatorial de misturas, de forma a gerar 16 formulações (ativo + dosagens + excipientes). Para selecionar as formulações de dapsona, na forma farmacêutica cápsula, foram manipulados 2 lotes de cada formulação. Após a manipulação foi feita uma análise de teor unificada de dapsona dos dois lotes, assim como a uniformidade de doses unitárias, que foi feita para os dois lotes.

Com as informações obtidas, utilizou-se a ferramenta Design of Experiments (DOE), projeto de mistura (Software Design Expert 5) de forma a gerar diferentes composições e avaliar as características físico químicas das formulações para obter dados sobre os experimentos. A partir dos resultados obtidos, foram selecionadas as composições que apresentaram às

características desejadas e estudadas as influências das variáveis nas características físico-químicas das cápsulas (DUQUE et al, 2013, MARTINELLO et al., 2006). Para as formulações de 100 mg, foi avaliado o perfil de dissolução das três formulações que apresentaram os melhores resultados em peso médio, teor e valor de aceitação menor que 15 para os dois lotes na uniformidade de doses unitárias.

4.2.1.2 Determinação da granulometria dos pós

A granulometria de pós é expressa, pela referência, à abertura nominal da malha do tamis utilizado. Os tamises empregados são de aço inoxidável, sendo que não é permitido o revestimento dos fios (F. BRAS, 2010).

De acordo com o procedimento descrito na Farmacopéia Brasileira (F. BRAS, 2010), foi realizada a determinação granulométrica dos pós (determinação do tamanho das partículas) com o auxílio de tamises operados por dispositivo mecânico. Este tipo de dispositivo reproduz os movimentos horizontais e verticais da operação manual, através da ação mecânica uniforme. O procedimento foi realizado com o insumo farmacêutico e os placebos 1 e 2. Placebos utilizados no teste estão descritos na Tabela 2. Esses placebos foram escolhidos porque tem a maior concentração de todos os excipientes selecionados para compor as formulações.

Tabela 2 - Composição dos placebos utilizados.

Excipiente	Placebo 1 (%)	Placebo 2 (%)
Dióxido de silício coloidal	0,50	0,50
Lauril sulfato de sódio	2,00	2,00
Celulose	-	97,5
Lactose	97,5	-

Fonte: da autora.

✓ Procedimento:

Montou-se um conjunto com 4 tamises (Bertel®) para os placebos e 5 para o fármaco, o tamis de maior abertura sobre o de abertura menor. Colocou-se o conjunto sobre o receptor de tamises. Para os excipientes (placebo 1 e 2) foram utilizados os tamises de números: 65, 125, 150 e 200 e para o fármaco (dapsona) foram utilizados os tamises números: 250, 212, 106, 75 e 45.

Foram pesados 5 g de cada amostra e estes foram transferidos para o tamis superior,

distribuindo o pó de maneira uniforme. O conjunto de tamises foi fechado e o aparelho acionado, por cerca de 30 minutos, com vibração adequada. Após o tempo determinado, calculou-se a percentagem das porções de princípio fármaco e placebos presentes nas malhas dos tamises.

O percentual retido em cada tamis foi calculado através da seguinte equação:

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = (P_1/P_2).100 \quad (1)$$

Onde:

P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas);

100 = Fator de percentagem.

4.2.1.3 Determinação do Volume Aparente e Escolha do Invólucro

Para escolha correta do tamanho da cápsula a ser utilizada, foi necessário realizar, previamente, a determinação do volume aparente do pó, através da conversão da unidade de massa, grama para volume, mililitro. O volume aparente do pó foi verificado utilizando uma proveta graduada através do seguinte procedimento (PRISTA, 2002, FERREIRA, 2008, PINHEIRO, 2008a, BENETTI, 2010, DUTRA, 2012):

- a) Pesou-se quantidade de matéria-prima, correspondente a dosagem em proveta graduada. Utilizou-se proveta de pequeno diâmetro, como de dez mililitros;
- b) Elevou-se a proveta a uma altura de 2 cm que foi solta, deixando bater na bancada algumas vezes. Verificou-se o volume e calculou-se a densidade do fármaco para a escolha do tamanho da cápsula correspondente a sua dosagem;
- c) A densidade aparente foi obtida ao se dividir a massa correspondente do pó pelo seu volume aparente e é expressa em g/mL. A escolha do tamanho da cápsula foi feita pela soma das densidades aparentes de todos os componentes da formulação.

4.2.1.4 Manipulação das Cápsulas

Foram manipuladas 50 cápsulas de dapsona 50 e 100 mg, a partir do planejamento de misturas, ou seja, 16 formulações manipuladas em dois lotes de 25 cápsulas cada, procedendo-se as etapas de pesagem, moagem, mistura e enchimento de acordo com os princípios de Boas

Práticas de Manipulação, e utilizando encapsulador semiautomático Color Plus 240 Ideal® (BRASIL, 2008).

As etapas envolvidas no processo são descritas a seguir (DUTRA, 2012):

- a) Pesagem: realizou-se pesagem individual dos componentes da fórmula a ser manipulada em balança analítica levando em consideração as conversões, como fator de correção e diluição, e o número de cápsulas.
- b) Moagem (ou trituração): as ferramentas utilizadas foram o gral (almofariz) e o pistilo. O almofariz deve ser profundo o suficiente para que não haja projeção do material durante a operação.
- c) Mistura: utilizou-se também gral e pistilo para esta operação, sendo o tempo escolhido de acordo com cada formulação, 2 ou 5 minutos.
- d) Enchimento das cápsulas: a placa de encapsular foi preenchida manualmente com as cápsulas fechadas, na quantidade total da fórmula e depois abertas manualmente. O pó foi colocado gradualmente e espalhado com o auxílio de uma palheta. A placa foi batida no balcão para os pós se acomodarem mais facilmente. Após o enchimento, as hastes foram abaixadas e foi colocada a parte superior das cápsulas.

4.2.2 Validação do método analítico por espectrofotometria na região do ultravioleta

4.2.2.1 Escolha do comprimento de onda e solvente adequado

Na escolha do comprimento de onda realizou-se varredura espectral de 200 a 400 nm de solução de dapsona SQR na concentração de 5 µg/mL, utilizando mistura de etanol e água (50:50) como solvente. A escolha do solvente foi baseada na solubilidade da dapsona descrita nas Farmacopéias Americana, Britânica e Europeia (UNITED, 2017, BRISTH, 2017, EUROPEAN, 2008).

4.2.2.2 Seletividade

O ensaio de seletividade foi realizado por varredura espectral, separadamente, de soluções de padrão primário, diluente, placebo e placebo com padrão, na faixa de 200 a 400 nm, conforme procedimento operacional abaixo:

- a) Preparo da solução padrão (SQR):
 - Foram pesados exatamente 5 mg de dapsona SQR e estes foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL e o solvente foi adicionado (mistura de etanol e água 50:50). A

solução foi levada ao ultrassom por 5 minutos e completou-se o balão com solvente, obtendo-se solução estoque na concentração de 50 µg/mL. Após homogeneização e filtração foi retirada uma alíquota de 1 mL e esta foi transferida para balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume do balão com solvente. A solução final continha 5 µg/mL.

b) Preparo do placebo:

- O placebo para avaliação da seletividade das cápsulas foi obtido pela mistura dos excipientes das formulações propostas, conforme Tabela 2.

- As misturas de placebos foram pesadas de acordo com o peso médio da forma farmacêutica, 10 mg para placebo 1 e 8,5 mg para placebo 2. Essas massas foram transferidas para respectivos balões volumétricos de 100 mL, o solvente foi adicionado (mistura de etanol e água (50:50) e levados ao banho de ultrassom por 5 min. Completou-se os volumes dos balões com o mesmo solvente. Após homogeneização e filtração foram retiradas alíquotas de 1 e 0,5 mL, dessa solução e transferidos para balões volumétricos de 10 mL, obtendo equivalência da quantidade de excipiente presente em cada dose.

c) Preparo de padrão com excipiente:

- As soluções foram preparadas da mesma forma que as anteriores, considerando os pesos de excipientes e de padrão definido para os preparos.

d) Preparo do solvente:

- O solvente foi preparado transferindo alíquota de 0,5 mL de etanol e completando o volume de balão de 10 mL com água.

4.2.2.3 Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir da preparação de uma solução de dapsona SQR com concentrações de 2,50 a 7,50 µg/mL (50% a 150%) conforme procedimento abaixo:

Foram pesados exatamente 12,5 mg de dapsona em papel manteiga e transferidos para balão volumétrico de 1000 mL, e adicionados 500 mL de solvente (mistura de etanol e água (50:50)). A solução foi levada ao ultrassom para completa solubilização e avolumada até o menisco com solvente. Após homogeneização, obteve-se solução com concentração de 12,5 µg/mL de dapsona SQR. Com o auxílio de uma bureta de 10 mL foram feitas diluições da solução SQR, conforme Tabela abaixo, transferindo para balões volumétricos de 10 mL e completando o volume com solvente. As leituras das soluções foram realizadas em

espectrofotômetro no comprimento de onda de 291 nm. Cada concentração foi feita em quintuplicata.

Para a avaliação da linearidade utilizou-se o método dos mínimos quadrados, onde obteve-se a equação da reta, além do coeficiente de correlação que demonstra uma boa correlação linear entre o fator dependente e o fator independente. A avaliação da igualdade de variâncias foi feita pelo método de Cochran. E também a análise de variância (ANOVA) foi feita para observar se a equação da reta explica satisfatoriamente a relação entre concentração e sinal.

Tabela 3 - Preparo das soluções para construção da curva analítica para dapsona, utilizando a espectrofotometria UV.

Amostras	Volume de SQR (mL)	Solvente q.s.p. (mL)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
1	2,00	10,0	2,50
2	3,00	10,0	3,75
3	4,00	10,0	5,00
4	5,00	10,0	6,25
5	6,00	10,0	7,50

Fonte: da autora.

4.2.2.4 Precisão

O teste de precisão foi realizado pela repetitividade (intradia) e precisão intermediária (interdias). A repetitividade foi avaliada por análise no mesmo dia de SQR contendo 2,5, 5,0 e 7,5 $\mu\text{g/mL}$ de dapsona em triplicatas, preparadas individualmente, e a precisão interdias foi avaliada por repetição dos ensaios em dois dias diferentes, por analistas diferentes. As soluções foram preparadas em triplicata, conforme descrito abaixo e, posteriormente, analisadas por espectrofotometria UV em 291 nm.

a) Preparo de padrão:

Pesou-se exatamente 5,0 mg de SQR, em triplicata, que foram transferidos para balões volumétricos de 100 mL. Em cada balão foi adicionado o solvente (mistura de etanol e água (50:50)) e estes foram levados ao banho de ultrassom por 5 minutos. Completou-se o volume dos balões com o mesmo solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, foi retirado de cada balão uma alíquota de 1 mL, que foi transferida para balões

volumétricos de 10 mL. A concentração final foi de 5,0 µg/mL de SQR. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro em 291 nm.

b) Preparo de amostra de dapsona adicionadas de placebo

Foram pesados exatamente 2,5 mg, 5,0 mg e 7,5 mg de SQR, em triplicata; e como há dois placebos de densidades diferentes, as pesagens foram realizadas da seguinte forma:

Placebo 1 (lauril sulfato de sódio, aerosil e lactose): 5; 10 e 15 mg para cada concentração, contendo o equivalente a 2,5, 5,0 e 7,5 mg de dapsona respectivamente.

Placebo 2 (lauril sulfato de sódio, aerosil e celulose): 4,25; 8,5 e 12,75 mg para cada concentração, contendo o equivalente a 2,5, 5,0 e 7,5 mg de dapsona respectivamente.

As amostras foram transferidas para balões de 100 mL aos quais foi adicionado o solvente (mistura de etanol e água (50:50)) em cada balão. Os balões foram levados ao banho de ultrassom por 5 minutos. O menisco foi então acertado com solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, alíquotas de 1 mL de cada filtrado foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro em 291 nm. Os resultados foram expressos como desvios padrões relativos (DPR).

4.2.2.5 Exatidão

A exatidão foi verificada contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, três concentrações: baixa, média e alta, com três réplicas cada. As amostras foram preparadas de maneira independente, desde a pesagem de padrão e excipientes. O preparo das soluções foi feito da mesma maneira do item anterior, tanto para padrão, como para amostra. A exatidão foi avaliada pelo cálculo da porcentagem de recuperação para cada concentração.

4.2.2.6 Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

O limite de quantificação foi estabelecido através da seguinte fórmula:

$$LQ = \frac{10 \cdot \sigma}{IC} \quad (2)$$

E o limite de detecção foi estabelecido através da seguinte fórmula:

$$LD = \frac{3,3 \cdot \sigma}{IC} \quad (3)$$

Onde, σ corresponde ao desvio padrão residual da linha de regressão e IC corresponde

à inclinação da curva de calibração.

4.2.2.7 Robustez

A robustez foi avaliada pela variação dos seguintes parâmetros: estabilidade da solução após 6 e 24 horas; tempo de extração, 3 e 7 minutos; proporção de etanol na solução, 45 e 55 % e marca diferente de etanol. O tempo de extração utilizado no método foi de 5 minutos e a proporção de etanol no solvente foi de 50%.

a) Preparo de padrão:

Concentrações: 5,00 µg/mL (100%).

Foram pesados exatamente 5 mg, em triplicata cujas massas foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL e adicionou-se o solvente (mistura de etanol e água (50:50)). As soluções foram levadas ao ultrassom por 5 minutos, e os balões foram avolumados até o menisco com solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, alíquota de 1 mL de cada filtrado foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro a 291 nm.

b) Preparo de amostra de dapsona adicionada de placebos

Para o preparo da amostra a quantidade de padrão é a mesma utilizada no preparo do padrão. Pesou-se exatamente 5 mg de SQR para cada concentração, em triplicata. Como há dois placebos, de densidades diferentes, a pesagem foi feita da seguinte forma:

- Placebo 1: (lauril sulfato de sódio, aerosil e lactose): o equivalente a 5 mg de dapsona.

- Placebo 2: (lauril sulfato de sódio, aerosil e celulose): o equivalente a 5 mg de dapsona.

As amostras foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL e adicionou-se o solvente (mistura de etanol e água (50:50)). As soluções foram levadas ao ultrassom por 5 minutos, e os balões foram avolumados até o menisco com solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, alíquotas de 1 mL de cada filtrado foram transferidas para respectivos balões volumétricos de 10 mL. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro a 291 nm. Concentração final de 5,0 µg/mL.

Para avaliar a estabilidade, as soluções em condições normais do método foram deixadas em balão volumétrico e a leitura feita após 6 e 24 horas em espectrofotômetro a 291 nm.

Para avaliar o tempo de extração, variou-se o tempo em 2 minutos para mais e para menos, em três soluções de cada, preparadas de forma independente e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 291 nm.

Para avaliar a proporção de etanol, variou-se a proporção em 5% para mais e para menos, em três soluções de cada, preparadas de forma independente e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 291 nm.

Para avaliar a marca de etanol, alterou-se a marca utilizada normalmente, em três soluções preparadas de forma independente e a leitura feita em espectrofotômetro a 291 nm.

Realizou-se análise de variância para comparar o teor de dapsona e verificar a robustez do método.

4.2.3 Análise de qualidade das formulações

4.2.3.1 Peso Médio

A determinação do peso médio verifica a uniformidade de peso das unidades de um mesmo lote, sendo realizado através da pesagem individual de 20 unidades de cápsulas do produto manipulado a ser avaliado e, deverá obedecer aos critérios estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira V, que preconiza um limite de variação de 10,0 % para forma farmacêutica cápsula com peso menor que 300,0 mg (F. BRAS, 2010). Aceita-se não mais que duas fora do intervalo e desvio padrão relativo menor que 4,0%

4.2.3.2 Teste de Desintegração

O teste de desintegração foi realizado com as cápsulas manipuladas, de acordo com os critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. O procedimento consiste em colocar uma cápsula em cada um dos seis tubos da cesta, adicionar um disco a cada tubo e acionar o aparelho, utilizando água mantida a 37 ± 1 °C como líquido de imersão. Ao final do intervalo de tempo especificado (45 minutos), cessar o movimento da cesta e observar o material em cada um dos tubos. Todos as cápsulas devem estar completamente desintegrados (F. BRAS, 2010).

4.2.3.3 Doseamento e Uniformidade de Doses Unitárias

Para quantificação do princípio ativo na análise de teor de dapsona 50 e 100 mg, será considerada a Resolução RDC nº 166, de 24/07/2017, que estabelece que o método analítico deve apresentar seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez (BRASIL, 2017).

As análises do teor das formulações manipuladas foram executadas, de acordo com o método validado, nas seguintes condições:

- Solvente: 50% etanol e 50% água
- Branco: água
- Tempo de ultrassom: 5 minutos
- Comprimento de onda: 291 nm
- Concentração das soluções: 5µg/mL
- Padrão secundário caracterizado: Teor: 100,0%; Lote: 16E02-B011-006147; Validade: 01/2019.

Doseamento:

- Preparo das amostras:

Preparo de padrão: Foram pesados exatamente 5 mg de padrão secundário, que foram transferidos para balão de 100 mL, adicionou-se o solvente, e este foi levado ao banho de ultrassom por 5 minutos. Completou-se o volume do balão com o mesmo solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, foi retirado dessa solução uma alíquota de 1 mL e esta foi transferida para balões volumétricos de 10 mL. O procedimento foi realizado em triplicata. A concentração final foi de 5 µg/mL. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro em 291 nm.

Preparo de amostra: fez-se um pool de 20 cápsulas e pesou-se o equivalente a 5,0 mg de amostra que foram transferidos para balão de 100 mL, adicionou-se o solvente e levou-se ao banho de ultrassom por 5 minutos. Completou-se o volume do balão com o mesmo solvente. Após homogeneização e filtração, com o auxílio de uma micropipeta, retirou-se dessa solução uma alíquota de 1 mL, que foi transferida para balões volumétricos de 10 mL. O procedimento foi realizado em quintuplicata. A concentração final foi de 5 µg/mL. As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro em 291 nm.

Para a determinação da uniformidade de doses unitárias pelo método de variação de peso separou-se 10 unidades de cada lote para análise. A quantidade de fármaco por unidade é estimada a partir do resultado do doseamento e dos pesos individuais, assumindo-se distribuição homogênea do componente ativo (F. BRAS, 2010).

As quantidades individuais estimadas (x_i) são calculadas segundo a equação 4:

$$x_i = p_i \times A/P \quad (4)$$

em que,

p_i = pesos individuais das unidades ou dos conteúdos das unidades testadas;

A = quantidade de componente ativo, expressa em porcentagem da quantidade declarada, determinada no doseamento;

P = peso médio das unidades utilizadas no doseamento.

Para cálculo do valor de aceitação, foi utilizada a fórmula abaixo:

$$VA = |M - X| + K s \quad (5)$$

Onde,

M = valor de referência

X = média dos conteúdos individuais expressos em porcentagem da quantidade declarada

K = constante de aceitabilidade

S = desvio padrão da amostra

Se n (número de unidades testadas) = 10, K = 2,4.

M = 98,5% (quando X é menor que 98,5%)

O valor máximo do valor de aceitação é 15,0.

4.2.4 Análise Estatística

O planejamento fatorial foi realizado para avaliar os fatores significativos envolvidos nas formulações de cápsulas de dapsona. A resposta analítica utilizada neste projeto experimental baseou-se na abordagem da função desejável, que foi aplicada para otimizar simultaneamente as variáveis em estudo (BONFILIO et al., 2013). A análise foi realizada com base no valor de aceitação do teste de uniformidade de doses unitárias das cápsulas de dapsona. Estas foram submetidas ao doseamento e uniformidade de doses unitárias por variação de peso, de maneira aleatória, utilizando metodologia validada por espectrofotometria UV para o doseamento.

Os resultados obtidos na determinação da variação de peso das cápsulas de dapsona e os valores das respostas foram utilizados para calcular a média dos valores das respostas analíticas e variância de cada ensaio. A variância de cada experimento foi obtida usando a equação 6:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - x)^2 \quad (6)$$

Onde n é o número de vezes que cada ensaio foi repetido, xi representa as respostas analíticas de cada ensaio (D) e x representa o valor médio de cada ensaio.

As respostas analíticas também foram usadas para calcular os efeitos, que foram obtidos pela média de todas as respostas obtidas (D) quando os fatores são positivos menos a média dos valores correspondentes às linhas onde os fatores foram considerados negativo.

Para determinar a significância estatística dos fatores e suas interações, a variância padrão (Sp^2) foi calculado via Equação 7:

$$s_p^2 = \frac{(n_A - 1)s_A^2 + (n_B - 1)s_B^2}{(n_A - 1) + (n_B - 1)} \quad (7)$$

Onde n é o número de vezes que o ensaio foi repetido e s^2 é a variância obtida em cada ensaio. Além disso, a variância estimada dos efeitos foi obtida da Equação 8:

$$V(\textit{estimated}) = \frac{s_p^2}{n} + \frac{s_p^2}{n} \quad (8)$$

Onde Sp^2 é a variância padrão e n é o número de ensaios com níveis baixos e altos ($n = 8$).

O erro das estimativas de contraste foi então obtido pela raiz quadrada da variância estimada. Multiplicando o erro por um valor t tabelado (2,12), com 16 graus de liberdade ao nível de significância de 5 %, foi obtido o erro estimado.

4.2.5 Validação do ensaio de dissolução

As condições para desenvolvimento do perfil de dissolução dos medicamentos contendo dapsona 50 e 100 mg, na forma farmacêutica cápsula, foram estabelecidas pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) considerando as características de solubilidade e permeabilidade do fármaco (BRASIL, 2011). A validação do ensaio de dissolução e do método de quantificação envolveu os parâmetros de linearidade, precisão, exatidão e robustez (BRASIL, 2010, BRASIL, 2017):

Para definição dos parâmetros do perfil de dissolução, 6 cápsulas de dapsona 100 mg, foram introduzidas uma em cada cuba do dissolutor contendo HCl 2% como meio de dissolução (1000mL) e analisadas nas rotações de 50 e 100 rpm e com os aparatos pá e cesta, respectivamente. Foram utilizados sinkers (com o aparato pá), visando evitar a flutuação das cápsulas. Em cada cuba do dissolutor, foram coletados 5 mL do meio de dissolução nos tempos de 5, 15, 30 e 60 minutos, com reposição do meio. Os volumes coletados foram filtrados em filtro tipo PTFE 0,45 μ m. Em seguida, foram transferidos 2 mL de cada solução para balões volumétricos de 10 mL e estes foram avolumados com o meio (HCl 2%) e, posteriormente, analisados por espectrofotometria. A temperatura do banho foi estabelecida em 37,5°C \pm 1°C. As absorvâncias obtidas foram usadas como parâmetro para definição da rotação e do aparato a ser empregado no método.

4.2.5.1 Seletividade

O ensaio de seletividade foi realizado por meio de uma nova varredura espectral de soluções de padrão secundário, solvente, placebo e placebo com padrão na faixa de 200 a 400 nm, devido a mudança do solvente utilizado. O procedimento operacional está descrito abaixo:

c) Preparo da solução padrão (SQR):

Foram pesados exatamente 20 mg de dapsona SQR e transferidos para balão volumétrico de 100 mL ao qual foi adicionado o solvente (HCl 2%). A solução foi levada ao ultrassom por 5 minutos e completou-se o balão com solvente. A solução foi filtrada e do filtrado uma alíquota de 1 mL foi transferida para balão de 10 mL, que foi completado com HCl 2% obtendo-se solução com 20 µg/mL.

d) Preparo do placebo:

Os placebos para avaliação da seletividade das cápsulas foram obtido pela mistura dos excipientes das formulações propostas, conforme Tabela 2.

Os placebos foram pesados de acordo com o peso médio da forma farmacêutica, 16,33 mg para placebo 1 e 9,48 mg para placebo 2, equivalente a 20 mg de dapsona. Essas massas foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL aos quais foi adicionado o solvente (HCl 2%). Em seguida, foram levados ao banho de ultrassom por 5 min. Completou-se volumes dos balões com o mesmo solvente. A solução foi filtrada e do filtrado foi transferida uma alíquota de 1 mL para balão de 10 mL. O volume foi completado com HCl 2%. A varredura espectral foi realizada em espectrofotômetro na região do UV de 200 a 400 nm.

e) Preparo de padrão com excipiente:

Preparado da mesma forma que as soluções anteriores, considerando os pesos de excipientes e de padrão definido para os preparos.

4.2.5.2 Linearidade

Para avaliação de linearidade foi construída uma curva analítica com diluições do padrão primário, com concentrações de 10 a 30 µg/mL conforme procedimento abaixo:

Pesaram-se exatamente 10 mg de padrão SQR de dapsona em papel manteiga que foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL, ao qual acrescentou-se 80 mL de HCl 2%. A solução foi levada ao ultrassom por 5 minutos para completa solubilização e, após, o menisco foi avolumado com o solvente. Após homogeneização e filtração, obteve-se solução com 100 µg/mL de dapsona SQR em HCl 2%.

Com o auxílio de bureta de 10 mL, as diluições foram realizadas conforme Tabela 6, transferindo o volume de SQR para balões volumétricos de 10 mL e completando o volume com solvente. Foram preparadas três réplicas para cada concentração. As leituras das soluções de dapsona (n=15) foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 290 nm.

Tabela 4 - Preparo de soluções para obtenção da curva analítica para dapsona, por espectrofotometria no UV.

Amostras	Volume de SQR (mL)	HCl 2 % q.s.p. (mL)	Concentração (µg/mL)
1	1,00	10	10,0
2	1,50	10	15,0
3	2,00	10	20,0
4	2,50	10	25,0
5	3,00	10	30,0

Fonte: da autora.

Para a avaliação da linearidade foram utilizados os mesmos critérios do método para quantificação do fármaco.

4.2.5.3 Precisão

A precisão do ensaio de dissolução foi avaliada, pelo desvio padrão relativo, entre as leituras de soluções de dapsona (50%, 100% e 150% do valor teórico), utilizando ácido clorídrico 2% como meio e quantificação por espectrofotometria a 290 nm. A repetitividade foi avaliada pela análise de nove soluções de dapsona SQR, com concentrações teóricas de 10, 20 e 30 µg/mL, preparadas no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. A partir da pesagem exata de dapsona SQR e placebos conforme descrito na Tabela 5, os pós foram adicionados às cubas do dissolutor, contendo 1000 mL de ácido clorídrico cada cuba. As pesagens foram independentes e as análises foram executadas no mesmo dia, em triplicata. O padrão foi preparado em balão volumétrico de 100 mL, pesando 20 mg de dapsona padrão, e retirando uma alíquota de 2 mL, que foi transferida para balão de 10 mL, chegando a concentração final de 20 µg/mL. Após tempo de análise de 1 hora uma alíquota foi retirada e filtrada, 2 mL do filtrado foi transferido para o balão de 10 mL e completado com solvente, chegando também a concentração final de 20 µg/mL.

Tabela 5 – Quantidade de placebos e padrão utilizados no ensaio de precisão e exatidão.

Dapsona SQR (g)	Placebo 1 (g)	Placebo 2 (g)	Concentração (µg/mL)
0,050	0,0408	-	10
0,050	-	0,0237	10
0,100	0,0817	-	20
0,100	-	0,0474	20
0,150	0,1225	-	30
0,150	-	0,0711	30

Fonte: da autora.

4.2.5.4 Exatidão

A exatidão para o ensaio de dissolução foi avaliada com 3 concentrações de dapsona 10, 20 e 30 µg/mL em triplicata, individualmente preparadas, na presença dos placebos 1 e 2, na cuba de dissolução contendo 1000 mL de ácido clorídrico 2%, na devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 100 mg de dapsona, conforme a Tabela 7. Essas concentrações correspondem a 50, 100 e 150% da dose do IFA em relação ao peso médio da cápsula de 100 mg. O preparo da amostra foi feito como no procedimento anterior. Para a avaliação da exatidão foi calculado o percentual de recuperação.

4.2.5.5 Robustez

Para avaliar a robustez do ensaio de dissolução para a dapsona foram considerados os parâmetros: rotação (50 e 100 rpm) e aparato (cesta e pá). Todos os ensaios foram realizados para o placebo 1 e 2, em triplicata na concentração de 20 µg/mL de dapsona. Primeiramente foi feita uma análise das condições normais do método e variou-se aparato e rotação.

4.2.6 Perfis de dissolução

O ensaio de dissolução validado foi aplicado na avaliação das formulações de dapsona 100 mg através da realização dos perfis de dissolução. As formulações 4, 10 e 14 (Tabela 7) foram escolhidas de acordo com o doseamento e uniformidade de doses unitárias. As condições estabelecidas para avaliação do perfil de dissolução de dapsona foram:

- f) Rotação 50 rpm;
- g) Aparato cesta;

- h) Temperatura do banho de 37,5 °C;
- i) Meio de dissolução: ácido clorídrico 2%;
- j) Volume de 1000 mL de meio de dissolução por cuba;
- k) Tempos de coleta em 5,10, 15, 20, 30, 60 minutos;
- l) Volume de coleta e reposição de 5 mL

4.2.7 Obtenção de diferentes formas sólidas de dapsona

As formas sólidas cristalinas de dapsona foram obtidas por meio de técnicas de cristalização baseadas na evaporação lenta de um ou mais solventes, variando as suas respectivas proporções. Foram preparadas soluções saturadas do insumo farmacêutico ativo (IFA) com diferentes solventes e proporções entre eles conforme apresentado abaixo. As soluções permaneceram em repouso à temperatura ambiente até secagem dos solventes.

Para obtenção de diferentes formas sólidas de dapsona o preparo de cada amostra seguiu as condições descritas abaixo:

DDS1: 8mL de água destilada aquecida 60°C.

DDS2: 8 mL de água destilada temperatura ambiente (25° C).

DDS3: 8 mL de acetonitrila, temperatura ambiente.

DDS4: 5 mL de acetonitrila e água na proporção 4:1 (v/v), temperatura ambiente.

DDS5: 6 mL de acetona, temperatura ambiente.

DDS6: 5 mL de acetona e água na proporção 3:2 (v/v), temperatura ambiente.

DDS7: 5 mL de etanol e água na proporção 3:2 (v/v), temperatura ambiente.

DDS8: 2 mL de acetona e etanol na proporção 1:1 (v/v), temperatura ambiente.

DDS9: 8 mL de metanol, temperatura ambiente.

DDS10: 2 mL de metanol e água na proporção 1:1 (v/v), temperatura ambiente.

DDS11: 8 mL de clorofórmio, temperatura ambiente.

DDS12: 2 mL de clorofórmio e água proporção 1:1 (v/v), temperatura ambiente.

4.2.8 Caracterização das formas cristalinas

As formas obtidas e o IFA foram analisadas e caracterizadas utilizando as técnicas de difração de Raios-X por pó (DRXP), infravermelho e análises térmicas.

4.2.8.1 Análise da matéria-prima por difração de Raios-X por pó (DRXP)

As análises foram realizadas nas seguintes condições: radiação monocromática em tubo selado de grafite por filtro de Cu (CuK, $\lambda = 1,54187\text{\AA}$), varreduras no intervalo de 3 a $40^\circ 2\theta$, a temperatura ambiente, com passo óptico de 0,02 em 2θ , corrente de 30 mA, tensão de 40 kV, velocidade de varredura de $1^\circ/\text{min}$ e fenda 10mm. As amostras foram caracterizadas com base nos difratogramas dos polimorfos padrões de dapsona, depositados na base de dados de estruturas cristalinas da Cambridge, o CSD (Cambridge StructuralDatabase).

4.2.8.2 Análise da matéria-prima por espectrofotometria na região do infravermelho

As análises foram realizadas utilizando espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier da marca Shimadzu, modelo Affinity-1, acoplado a um acessório de reflectância total atenuada da marca PikeMiracle. Os dados foram coletados a temperatura ambiente, na região do infravermelho entre $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$, sendo que as amostras não necessitaram de preparo inicial.

4.2.8.3 Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Para execução destas análises, pequenas quantidades (3 a 5 mg) das matérias-primas pré-selecionadas foram utilizadas nos experimentos. A análise foi realizada em cadinhos de alumínio fechados. As amostras foram analisadas utilizando razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, no intervalo de aquecimento entre $25\text{-}280^\circ\text{C}$, sob uma atmosfera de nitrogênio e com vazão de $50\text{ mL}/\text{min}$. As análises foram realizadas em parceria com o Instituto de Química da UNIFAL-MG.

4.2.9 Validação do método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para estudo de solubilidade

4.2.9.1 Parâmetros cromatográficos

O método validado por cromatografia líquida de alta eficiência foi baseado em um trabalho encontrado na literatura (SALAMA et al., 2012). Os parâmetros que foram utilizados

na condução do método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) estão descritas a seguir:

Fase móvel: tampão fosfato pH 5,5: metanol (75:25)

Fase estacionária: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5 µm (marca: Waters-Symmetry)

Comprimento de onda: 289nm

Temperatura: 25°C

Volume de injeção: 20µL

Desvio padrão relativo: não mais que 5,0%

Resultados satisfatórios foram obtidos com o fluxo de 1,0mL/min, quando o tempo de retenção foi em torno de 4,0 minutos.

4.2.9.2 Seletividade

A seletividade foi avaliada pela pureza de pico do IFA e também pelo estudo de degradação forçada da mesma, que foi realizado sob as seguintes condições:

Hidrólise I: HCl 0,1M, NaOH 0,1M, e H₂O₂ 35%. Soluções mantidas em estufa a 60°C por 6 dias.

Hidrólise II: Amostra preparada em solução HCl 0,01M e leitura imediata.

Fotólise: Amostra sólida em placa de petri sob fonte de luz ultravioleta por 23h.

Térmica: Estufa a 60°C e umidade relativa de aproximadamente 75%.

Após o período estimado em cada caso, foram preparadas soluções na concentração de 30 µg/mL de dapsona em fase móvel e em seguida foram quantificadas por CLAE.

4.2.9.3 Linearidade

A avaliação da linearidade foi realizada a partir da construção da curva analítica com 6 concentrações em triplicata no intervalo de 10 à 60µg/mL (10, 20, 30, 40, 50 e 60µg/mL), preparadas a partir da diluição de uma solução-mãe com concentração de 100µg/mL.

As soluções recém-preparadas foram quantificadas por CLAE, utilizando os parâmetros determinados no ensaio de seletividade. Para a avaliação da linearidade foram utilizados os mesmos critérios do método para quantificação do fármaco.

4.2.9.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada pelo desvio padrão relativo entre as leituras das soluções de dapsona. A repetitividade foi avaliada pela análise de nove soluções de dapsona padrão, com concentrações teóricas de 20, 30 e 40 µg/mL preparadas no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. As soluções de cada concentração foram preparadas em triplicata e de maneira independente. A precisão intermediária (intradias) foi avaliada pela repetição do procedimento em dois diferentes dias, por dois diferentes analistas.

4.2.9.5 Exatidão

A exatidão foi avaliada pelas porcentagens de recuperação de dapsona em soluções padrão, em triplicata e de maneira independente e em três níveis de concentração: 80%, 100% e 120%, correspondendo a concentrações de 20, 30 e 40 µg/mL.

As soluções recém-preparadas foram quantificadas por CLAE, utilizando os parâmetros determinados no ensaio de seletividade.

4.2.9.6 Robustez

Foram realizadas variações nos fatores que potencialmente afetariam as condições analíticas normais, sendo elas: fluxo de fase móvel 0,8 mL/min e 1,2 mL/min, temperatura 27°C, troca da marca da coluna, de coluna Waters®, para Phenomenex®.

4.2.10 Estudo de solubilidade

Para o ensaio solubilizaram-se quantidades adequadas (até que fosse observada saturação) de dapsona e do hidrato obtido em quatro diferentes solventes aquosos: HCl 0,01 pH = 2,0; tampão acetato pH 4,5; tampão fosfato pH 6,8 e água. Posteriormente, as soluções foram mantidas no shak flask sob temperatura controlada (37°C) e rotação de 150 rpm por 48 horas. Nos intervalos de 12, 24 e 48 horas as soluções foram amostradas, diluídas em fase móvel, e quantificadas por CLAE, utilizando método descrito na seção 3.5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PROCESSOS TECNOLÓGICOS PARA CÁPSULAS

5.1.1 Desenvolvimento das formulações

Para todas as formulações foram produzidos dois lotes, com uma análise de teor unificado. Nas Tabelas 6 e 7 estão apresentadas as propostas de formulações a partir do planejamento fatorial.

Tabela 6 - Parâmetros do experimento fatorial

Experimento Fatorial $2^{(5-1)}$		
Fatores	Nível dos Fatores usados na formulação	
	-	+
X1: Dose de IFA	A (50 mg)	B (100 mg)
X2: Concentração de Aerosil	0,1 %	0,5 %
X3: Concentração Lauril Sulfato de Sódio	1,0 %	2,0 %
X4: Diluente	C (lactose)	D (celulose microcristalina)
X5: Tempo de Mistura	2 minutos	5 minutos

Fonte: da autora.

Tabela 7 - Planejamento fatorial para obtenção de formulações diferentes de cápsulas que foram testadas.

Planejamento Fatorial 2 ⁵ (5-1)					
Formulações	IFA	Dióxido silício coloidal (%)	Lauril sulfato de sódio (%)	Diluyente (qsp)	Tempo de Mistura (minutos)
1	A	0,1	1	C	5
2	B	0,1	1	C	2
3	A	0,5	1	C	2
4	B	0,5	1	C	5
5	A	0,1	2	C	2
6	B	0,1	2	C	5
7	A	0,5	2	C	5
8	B	0,5	2	C	2
9	A	0,1	1	D	2
10	B	0,1	1	D	5
11	A	0,5	1	D	5
12	B	0,5	1	D	2
13	A	0,1	2	D	5
14	B	0,1	2	D	2
15	A	0,5	2	D	2
16	B	0,5	2	D	5

Fonte: da autora.

5.1.2 Deteminação granulométrica dos pós

Para os placebos 1 e 2, apresentados na Tabela 2, foram utilizados os tamises de números: 65, 125, 150 e 200 na determinação granulométrica. Foi observado que a maioria das partículas dos pós permaneceu retida no coletor (receptor de tamises), portanto, seu diâmetro encontra-se abaixo de 75 µm conforme demonstrado nas tabelas 8 e 9, respectivamente.

Tabela 8 - Composição granulométrica do placebo 1.

Peneiras	Determinação após 30 minutos		
Número do tamis (ABNT/ ASTM)	Orifício do tamis (μm)	Peso retido (g)	% Retida
65	212	0,0015	0,003
125	115	0,0039	0,078
150	106	0,0556	1,112
200	75	2,0170	40,340
Fundo	-	2,9220	58,440

Fonte: da autora.

Tabela 9 - Composição granulométrica do placebo 2.

Peneiras	Determinação após 30 minutos		
Número do tamis (ABNT/ ASTM)	Orifício do tamis (μm)	Peso retido (g)	% Retida
65	212	0,002	0,040
125	115	0,005	0,100
150	106	0,219	4,380
200	75	1,988	39,760
Fundo	-	2,786	55,720

Fonte: da autora.

Para a classificação granulométrica do fármaco (dapsona) foram utilizados os tamises de números: 60, 70, 140, 200 e 325. Foi observado que a maioria das partículas do ativo ficou retida no tamis de número 140, sugerindo um tamanho de partícula entre 212 e 106 μm conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 10 - Composição granulométrica do fármaco.

Peneiras	Determinação após 30 minutos		
Número do tamis (ABNT/ ASTM)	Orifício do tamis (μm)	Peso retido (g)	% Retida
60	250	1,097	21,58
70	212	0,702	13,81
140	106	3,034	59,69
200	75	0,241	4,74
325	45	0,008	0,16
Fundo	-	0,001	0,02

Fonte: da autora.

O tamis escolhido para os placebos foi o de malha 200, tamanho de partícula 75 μm . No entanto, para o fármaco, foi escolhido o de malha 120, tamanho de partícula 115 μm . As matérias primas foram trituradas e transferidas para as malhas e não apresentaram problemas no processo de mistura. De acordo com a literatura, os componentes da formulação devem ser tamisados para obtenção de mistura homogênea e distribuição adequada do fármaco em todas as misturas dos pós, de forma a obter densidade e tamanho das partículas de pós similares (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2011).

5.1.3 Determinação do volume aparente e escolha do invólucro

Os resultados para densidade do fármaco e dos placebos foram os seguintes:

Dapsona: 0,88 g/mL.

Placebo 1: 0,91 g/mL.

Placebo 2: 0,53 g/mL.

Considerando as doses de dapsona, 50 e 100 mg, o tamanho da cápsula escolhido foi a número 4, com volume de 0,21 mL, permitindo acomodação de toda mistura para o encapsulamento (PINHEIRO, 2008a).

5.1.4 Manipulação das cápsulas

As cápsulas foram manipuladas de acordo com as boas práticas de manipulação, recomendado pela Resolução RDC nº. 67, apresentando bom aspecto, forma, sem extravasamento de conteúdo e foram utilizadas nos experimentos posteriores (BRASIL, 2007).

5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA

5.2.1 Escolha do comprimento de onda e solvente adequado

A dapsona apresenta baixa solubilidade em água e alta solubilidade em etanol e ácidos minerais diluídos, porém, a mistura de etanol e água (50:50) foi escolhida como solvente em virtude da baixa interferência dos placebos 1 e 2, e por trazer menos danos ao meio ambiente. O pico de máxima absorção da dapsona, utilizando a mistura etanol e água (50:50) como solvente, ocorreu no comprimento de onda de 291 nm, que foi utilizado para as análises posteriores.

5.2.2 Seletividade

A Figura 2 apresenta a varredura espectral das soluções analisadas e demonstra que os excipientes empregados não interferem de maneira significativa na quantificação do fármaco, sendo o método considerado seletivo para estes excipientes. Também foi possível observar que a substância analisada foi identificada como dapsona, uma vez que ela apresentou o máximo de absorvância no mesmo comprimento de onda da solução SQR, em 291 nm.

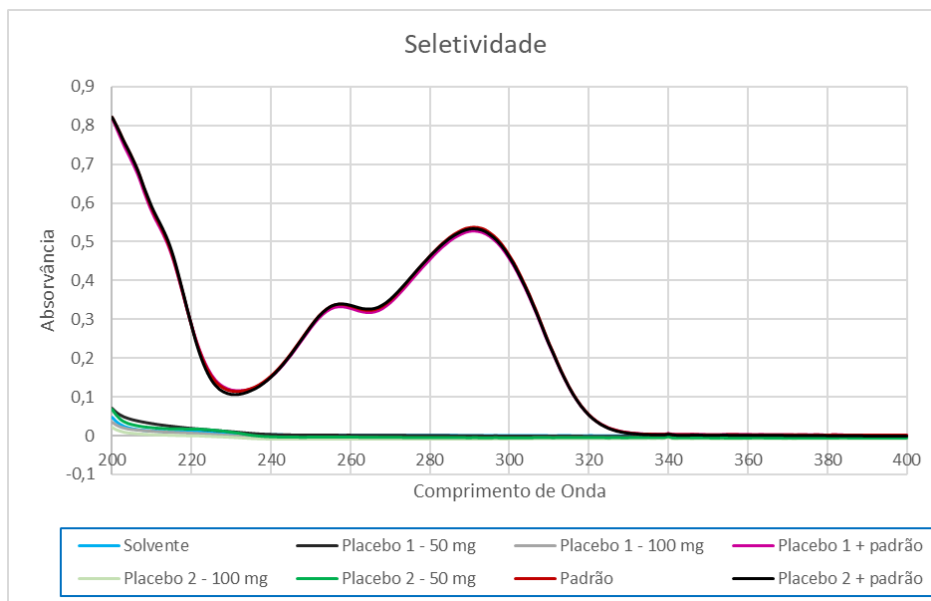


Figura 2 - Varredura espectral das soluções analisadas na seletividade do método, na concentração de 5 µg/mL e utilizando mistura de etanol e água (50:50) como solvente.

Fonte: da autora.

5.2.3 Linearidade

Para o estudo de linearidade, evidenciou-se que existe boa correlação linear entre o fator independente (concentração da SQR) e os fatores dependentes (absorvâncias das concentrações de dapsona) através da equação $y = 0,1058 x - 0,0077$, e com coeficiente de determinação (0,9998) foi possível averiguar o grau de explicação do modelo (BRASIL, 2017).

A partir das leituras das absorvâncias das soluções, construiu-se a curva analítica plotando-se os valores das absorvâncias em função das concentrações. Determinou-se a equação da reta e o coeficiente de correlação pelo método dos mínimos quadrados, bem como o desvio padrão relativo (DPR) para cada ponto da curva, conforme demonstrado na Tabela 11 e Figura 3.

Tabela 11 - Valores de absorvâncias obtidos na construção da curva analítica para dapsona com as respectivas médias e desvios padrão relativos (DPR%) por espectrofotometria na região do ultravioleta.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorvância	Média das absorvâncias	DPR(%)
2,50	0,26543	0,272	1,41
2,50	0,27200		
2,50	0,27248		
2,50	0,27254		
2,50	0,27596		
3,75	0,40279	0,404	0,45
3,75	0,40331		
3,75	0,40355		
3,75	0,40491		
3,75	0,40733		
5,00	0,53282	0,536	0,53
5,00	0,53435		
5,00	0,53674		
5,00	0,53799		
5,00	0,53992		
6,25	0,66953	0,671	0,27
6,25	0,67030		
6,25	0,67062		
6,25	0,67116		
6,25	0,67427		
7,50	0,79645	0,799	0,31
7,50	0,79855		
7,50	0,79912		
7,50	0,79932		
7,50	0,80338		

Fonte: da autora.

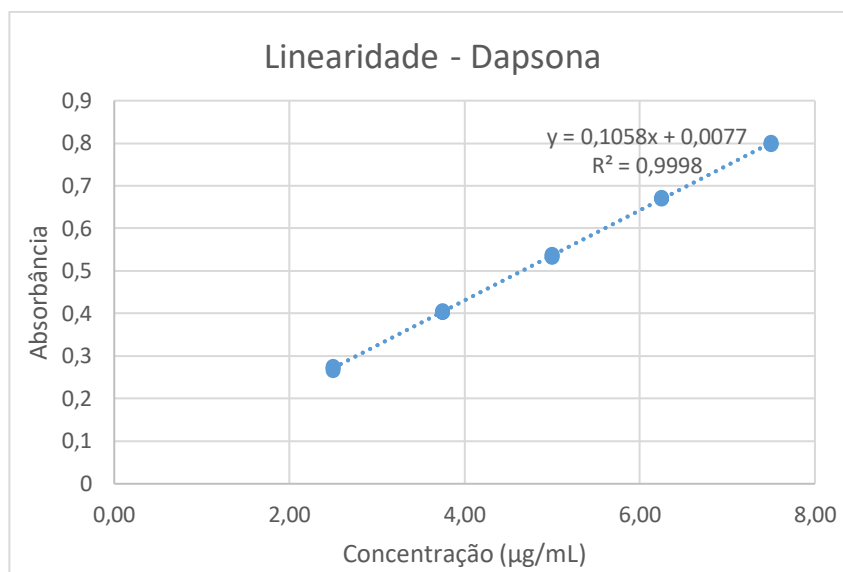


Figura 3 - Representação gráfica da curva analítica do ensaio de linearidade do método para dapsona por espectrofotometria UV a 291 nm.

Fonte: da autora.

Coefficiente de correlação (r): 0,9999

Faixa de avaliação: 2,5 a 7,5 µg/mL

Sensibilidade (inclinação): 0,1058

Interseção: 0,0077

Equação da reta: $y = 0,1058x - 0,0077$

Coefficiente de Determinação (R^2): 0,9998

Pelos parâmetros apresentados na Tabela 11 e Figura 3, é possível observar que a linearidade do método, obtida na faixa de concentração de 2,5 a 7,5 µg/mL, apresenta coeficiente de correlação de 0,9999, com desvio padrão relativo médio menor que 2 %, demonstrando boa correlação linear entre o fator independente (concentração do padrão primário) e o fator dependente (absorbância das concentrações de dapsona). Os valores obtidos de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade estão apresentados na Tabela 12.

A qualidade do ajuste da curva analítica e sua linearidade também foram avaliadas por meio da inspeção visual do gráfico de resíduos gerados pela regressão. A avaliação da igualdade das variâncias foi realizada utilizando o método de Cochran (BRASIL, 2017), conforme Tabela 13, onde $C_{cal} < C_{crítico}$, e com essa condição aceita a hipótese nula, ou seja, as variâncias são iguais.

O teste F na análise de variância tem o objetivo de testar a significância da estimativa do coeficiente associado à variável independente x (concentração); se F calculado for maior ou igual a F de significação, conclui-se que o modelo é adequado (Tabela 14). O valor de F calculado $>$ F tabelado, rejeita a hipótese nula, ou seja, a reta de regressão explica satisfatoriamente a relação entre concentração e sinal.

O coeficiente de determinação (R^2) é determinado com o objetivo de averiguar o grau de explicação do modelo (BRASIL, 2017).

Os resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados do ensaio de linearidade estão apresentados na Tabela 15 e Figura 4, respectivamente. Os pontos no gráfico de resíduos deverão estar aleatoriamente distribuídos ao redor do eixo x , não apresentando nenhum comportamento ou tendência funcional, o que pode ser observado na Figura 4 (BRASIL, 2017).

Tabela 12 - Valores obtidos de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade para dapsona por espectrofotometria UV.

Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)	Variâncias
2,50	1,47157E-05
3,75	3,33632E-06
5,00	8,01163E-06
6,25	3,33973E-06
7,50	6,33593E-06
	Soma: 3,57393E-05

Fonte: da autora.

Tabela 13 - Valores obtidos no Teste de Cochran, ao nível de 5 % de significância, aplicado aos dados ponderados do ensaio de linearidade para dapsona por espectrofotometria UV.

C crítico	C calculado
0,5441	0,4118

Fonte: da autora.

Tabela 14 - Valores obtidos na análise de variância.

ANOVA						
	gl	SQ	MQ	F	F de significação	F tabelado
Regressão	1	0,8741	0,8741	107980,7	9,8112E-44	4,28
Resíduo	23	0,0002	8,0946E-06			
Total	24	0,8742				

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	0,0077	0,0017	4,5271	0,00015	0,0042	0,0113
Concentração	0,1058	0,0003	328,60	9,81E-44	0,1051	0,1064
Inferior 95,0%	Superior 95,0%					
	0,0042	0,0113				
	0,1051	0,1064				

Fonte: da autora.

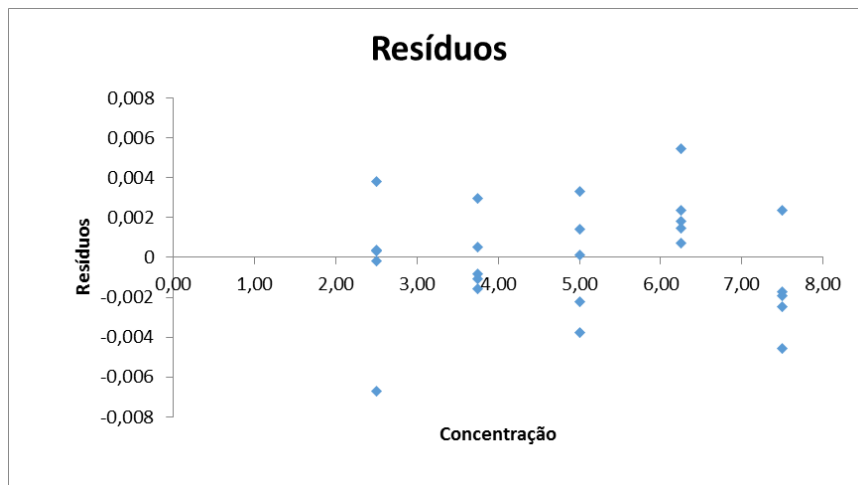


Figura 4 - Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.

Fonte: da autora.

Tabela 15 - Valores obtidos de resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade por espectrofotometria UV.

Observação	Y previsto	Resíduos
1	0,2721604	-0,0067304
2	0,2721604	-0,0001604
3	0,2721604	0,0003196
4	0,2721604	0,0003796
5	0,2721604	0,0037996
6	0,4043766	-0,0015866
7	0,4043766	-0,0010666
8	0,4043766	-0,0008266
9	0,4043766	0,0005334
10	0,4043766	0,0029534
11	0,5365928	-0,0037728
12	0,5365928	-0,0022428
13	0,5365928	0,0001472
14	0,5365928	0,0013972
15	0,5365928	0,0033272
16	0,668809	0,000721
17	0,668809	0,001491
18	0,668809	0,001811
19	0,668809	0,002351
20	0,668809	0,005461
21	0,8010252	-0,0045752
22	0,8010252	-0,0024752
23	0,8010252	-0,0019052
24	0,8010252	-0,0017052
25	0,8010252	0,0023548

Fonte: da autora.

5.2.4 Precisão

Segundo ANVISA, (BRASIL, 2017), o desvio padrão relativo permitido é de até 5,0%. As cápsulas testadas pelo método proposto possuem 50 mg e 100 mg de dapsona por cápsula,

portanto devem obedecer aos limites de recuperação e desvio padrão relativo citados anteriormente.

Os valores de precisão foram expressos pelos desvios padrão relativos (DPR%). Os resultados obtidos nos ensaios intradias estão demonstrados nas Tabelas 16 e 17 para os placebos 1 e 2, respectivamente. De modo semelhante foram demonstrados nas Tabelas 18 e 19 os valores obtidos nos ensaios interdias para placebos 1 e 2, respectivamente.

Tabela 16 - Valores obtidos na determinação da precisão intradia para dapsona e placebo 1, por espectrofotometria UV.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorvância	DRP (%)
2,5	0,276	1,06
	0,270	
	0,271	
5,0	0,530	0,67
	0,537	
	0,537	
7,5	0,817	0,37
	0,816	
	0,811	

Padrão: média das absorvâncias = 0,539

Fonte: da autora.

Tabela 17 - Valores obtidos na determinação da precisão intradia para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorvância	DRP (%)
2,5	0,283	1,72
	0,275	
	0,274	
5,0	0,536	0,20
	0,535	
	0,534	
7,5	0,803	0,32
	0,808	
	0,807	

Padrão: média das absorvâncias = 0,543

Fonte: da autora.

Tabela 18 - Valores obtidos na determinação da precisão interdias para dapsona e placebo 1, por espectrofotometria UV.

Concentração µg/mL	Absorvância dia 1	Absorvância dia 2	DRP (%)
	0,276	0,273	
2,5	0,270	0,278	1,91
	0,271	0,288	
	0,530	0,541	
5,0	0,537	0,553	1,27
	0,537	0,536	
	0,817	0,819	
7,5	0,816	0,834	0,98
	0,811	0,831	

Padrão dia 2: média das absorvâncias = 0,555

Fonte: da autora.

Tabela 19 - Valores obtidos na determinação da precisão interdias para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.

Concentração µg/mL	Absorvância dia 1	Absorvância dia 2	DRP (%)
	0,283	0,279	
2,5	0,275	0,267	2,35
	0,274	0,266	
	0,536	0,517	
5,0	0,535	0,537	2,22
	0,534	0,531	
	0,803	0,797	
7,5	0,808	0,803	2,23
	0,807	0,807	

Padrão dia 2: média das absorvâncias = 0,519

Fonte: da autora.

Todos os valores de desvio padrão relativo estão dentro da especificação de no máximo de 5%, demonstrando que o método apresenta precisão adequada (BRASIL, 2017).

5.2.5 Exatidão

O cálculo da percentagem de recuperação foi realizado por meio da razão da concentração experimental pela concentração teórica das soluções e os resultados estão expressos nas Tabelas 20 e 21. Os valores entre 98 a 102 % indicam boa recuperação para o método.

Tabela 20 - Valores obtidos na determinação da recuperação para dapsona e placebo 1 por espectrofotometria UV.

Concentrações	2,5 µg/mL	5,0 µg/mL	7,5 µg/mL
Média das absorvâncias	0,2769	0,5456	0,8060
DPR (%)	0,32	1,86	0,52
% de recuperação	98,4	100,4	98,2

Fonte: da autora.

Tabela 21 - Valores obtidos na determinação da recuperação para dapsona e placebo 2 por espectrofotometria UV.

Concentrações	2,5 µg/mL	5,0 µg/mL	7,5 µg/mL
Média das absorvâncias	0,2775	0,5349	0,8065
DPR(%)	1,75	0,15	0,32
% de recuperação	98,8	98,5	98,3

Fonte: da autora.

5.2.6 Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

Os limites de quantificação e detecção foram obtidos a partir da curva analítica, com valores de 0,263 µg/mL e 0,087 µg/mL, respectivamente. Concluindo-se que o intervalo de trabalho do método (2,5 a 7,5 µg/mL) está acima do limite de quantificação e de detecção, demonstrando que o método é adequado para o objetivo proposto.

5.2.7 Robustez

A robustez foi avaliada pela variação dos seguintes parâmetros: estabilidade da solução após 6 e 24 horas; tempo de extração, 3 e 7 minutos; proporção de etanol na solução, 45 e 55 % e marca diferente de etanol. Os resultados de robustez estão apresentados nas Tabelas 22 e 24, para placebos 1 e 2.

Tabela 22 - Valores obtidos na robustez do método para soluções de dapsona e placebo 1, na concentração de 5 µg/mL, por espectrofotometria UV.

Teor (%)								
	Solvente Marca A	Estabilidade 6 h	Estabilidade 24 h	US 3'	US 7'	Etanol 45 %	Etanol 55 %	Solvente Marca B
	99,8	98,4	99,8	101,3	101,0	100,6	100,6	101,2
	100,6	98,4	99,3	101,3	100,8	99,4	100,4	100,3
	98,4	98,3	99,3	101,0	100,5	100,4	102,2	101,3
DPR %	1,12	0,06	0,29	0,17	0,25	0,64	0,98	0,55

Fonte: da autora.

Tabela 23 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona e placebo 1.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	14,869375	7	2,124196429	3,309361525	0,05763952	3,500463855
Dentro dos grupos	5,135	8	0,641875			
Total	20,004375	15				

OBS: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; MQ = Quadrado médio.

Fonte: da autora.

Como o valor de F é menor que F crítico, (Tabela 23) significa que as variâncias são estatisticamente iguais, então, o método é robusto, nas condições testadas para quantificação de dapsona na presença dos excipientes do placebo 1, ou seja, as pequenas variações não interferem no método.

Tabela 24 - Valores obtidos na robustez do método para soluções de dapsona e placebo 2, na concentração de 5 µg/mL, por espectrofotometria UV.

Solvente Marca A	Teor (%)						Solvente Marca B	
	Estabilidade 6 h	Estabilidade 24 h	US 3'	US 7'	Etanol 45 %	Etanol 55 %		
101,5	99,1	98,0	100,4	100,0	99,2	101,1	100,3	
100,2	99,1	97,3	98,9	99,8	99,2	100,7	99,5	
99,8	101,4	97,3	99,6	99,6	100,5	99,4	100,2	
DPR%	0,88	1,33	0,41	0,75	0,42	0,75	0,88	0,44

Fonte: da autora.

Tabela 25 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona e placebo 2, por espectrofotometria UV.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	12,589375	7	1,798482143	2,921392313	0,078087673	3,500463855
Dentro dos grupos	4,925	8	0,615625			
Total	17,514375	15				

OBS: gl = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; MQ = Quadrado médio.

Fonte: da autora.

Como o valor de F é menor que F crítico, (Tabela 25) significa que as variâncias são iguais, então, o método é robusto, nas condições testadas para quantificação de dapsona na presença dos excipientes do placebo 2, ou seja, as pequenas variações não interferem no método.

5.3 ANÁLISE DE QUALIDADE DAS FORMULAÇÕES

5.3.1 Peso Médio

A análise de peso médio foi executada de acordo com a legislação e encontra-se dentro da especificação de 90-110%, para variação de conteúdo, para as cápsulas com peso inferior a 300 mg (F. BRAS., 2010). Os valores aceitos de desvio padrão relativo são inferiores a 4%, onde não mais que duas cápsulas estejam fora do intervalo de variação de conteúdo. Os

resultados do teste de peso médio estão apresentados na Tabela 26, onde é observado que 3 formulações apresentaram resultados de DPR não satisfatórios. Essas três formulações foram analisadas quanto a teor e uniformidade de doses unitárias, porém elas foram excluídas das que poderiam ser propostas para padronização.

Tabela 26 – Valores obtidos de peso médio das formulações de dapsona 50 e 100 mg.

Formulação	Valor Médio (mg)	DPR(%)	Proporção do Fármaco (%)
1	165,9	2,97	30,1
2	169,1	3,13	59,1
3	163,4	3,65	30,6
4	168,4	3,20	59,4
5	165,3	3,80	30,2
6	170,5	3,60	58,6
7	167,6	3,86	29,8
8	168,8	3,11	59,2
9	118,5	3,82	42,2
10	143,8	3,25	69,5
11	117,6	5,03	42,5
12	140,2	4,65	71,3
13	117,4	6,35	42,6
14	141,0	3,11	70,9
15	119,6	3,94	41,8
16	139,6	2,57	71,6

Fonte: da autora.

5.3.2 Teste de Desintegração

O teste de desintegração foi realizado com as cápsulas manipuladas, de acordo com os critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. Todas as formulações atenderam às especificações estabelecidas, em que as cápsulas foram completamente desintegradas ao final de 45 minutos. A desintegração das cápsulas das formulações ocorreu de 1 a 2 minutos.

5.3.3 Doseamento e Uniformidade de Doses Unitárias

As análises do teor das formulações manipuladas foram executadas, de acordo com o método validado. Os resultados estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 – Valores de teor obtidos para as formulações de dapsona 50 e 100 mg, por espectrofotometria em 291nm.

Formulações	Teor (%)	Desvio Padrão	Desvio Padrão Relativo (%)
1	97,6	0,8405	0,86
2	93,1	0,1941	0,21
3	94,8	0,9830	1,04
4	97,3	0,7159	0,74
5	93,3	0,7999	0,86
6	93,0	0,7990	0,86
7	93,9	0,7556	0,80
8	92,6	0,6239	0,67
9	95,7	1,0898	1,14
10	94,5	0,8210	0,87
11	93,5	0,0533	0,06
12	95,5	0,5356	0,56
13	92,5	0,0772	0,08
14	96,7	0,7614	0,79
15	96,3	0,6551	0,68
16	93,6	0,4351	0,46

Fonte: da autora.

Todas as formulações apresentaram teor de acordo com a farmacopeia americana de 2017, entre 92,5 a 107,5% (UNITED, 2017), intervalo este utilizado para análise da forma farmacêutica comprimido.

Para as análises de uniformidade de doses unitárias foi utilizado o método de variação de peso, de acordo com a Farmacopeia Brasileira e calculou-se o valor de aceitação. Foram analisadas 10 cápsulas de cada lote de cada formulação. Os resultados estão apresentados na Tabela 28. Foi observado que algumas formulações apresentaram VA maior que 15, as quais foram excluídas das formulações que poderiam ser propostas para padronização. Esses valores de aceitação foram utilizados na análise estatística, para avaliar quais foram as melhores formulações propostas.

Tabela 28 – Valores de aceitação obtidos na determinação da uniformidade de doses unitárias para formulações de dapsona nas doses de 50 mg e 100 mg.

Formulação	Teor (%)	Valor de Aceitação Lote 01	Valor de Aceitação Lote 02
1	97,6	7,34	7,25
2	93,1	14,20	10,30
3	94,8	9,08	12,07
4	97,3	9,83	7,67
5	93,3	12,16	14,10
6	93,0	15,79	8,45
7	93,9	13,71	13,37
8	92,6	9,96	13,72
9	95,7	14,70	7,81
10	94,5	12,39	14,60
11	93,5	19,05	12,84
12	95,5	11,39	15,85
13	92,5	17,47	20,49
14	96,7	10,10	13,34
15	96,3	13,81	12,24
16	93,6	14,90	13,77

Fonte: da autora.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de aceitação calculados na uniformidade de doses unitárias foram utilizados para o cálculo das respostas do teste e assim, calcular através das equações 6,7 e 8 a variância padrão (sp^2) 0,0242 e variância estimada dos efeitos (0,00302), além do erro do experimento (0,117) Todos os resultados estão apresentados na Tabela 29. Quando valores de estimativa de contraste maiores, em módulo, do que o erro estimado, são obtidos, significa que esses valores influenciam na resposta analítica. Além disso, estimativas de contraste positivas indicam que o aumento nos seus níveis produz o aumento na resposta analítica e estimativas de contraste negativas indicam que a resposta analítica tende a diminuir com o aumento nos seus níveis.

Tabela 29 - Valores de aceitação (VA) obtidos nos ensaios de variação de peso realizados em dois lotes e respostas calculadas.

Ensaio	VA Lote 01	VA Lote 02	Resposta 1 (%)	Resposta 2 (%)	Média das respostas	Variância
1	7,34	7,25	0,511	0,517	0,514	1,80E-05
2	14,2	10,3	0,053	0,313	0,183	3,38E-02
3	9,08	12,07	0,395	0,195	0,295	1,99E-02
4	9,83	7,67	0,345	0,489	0,417	1,04E-02
5	12,16	14,1	0,189	0,060	0,125	8,36E-03
6	15,79	8,45	0,000	0,437	0,218	9,53E-02
7	13,71	13,37	0,086	0,109	0,097	2,57E-04
8	9,96	13,72	0,336	0,085	0,211	3,14E-02
9	14,7	7,81	0,020	0,479	0,250	1,05E-01
10	12,39	14,6	0,174	0,027	0,100	1,09E-02
11	19,05	12,84	0,000	0,144	0,072	1,04E-02
12	11,39	15,85	0,241	0,000	0,120	2,90E-02
13	17,47	20,49	0,000	0,000	0,000	0,00E+00
14	10,1	13,34	0,327	0,111	0,219	2,33E-02
15	13,81	12,24	0,079	0,184	0,132	5,48E-03
16	14,9	13,77	0,007	0,082	0,044	2,84E-03

Fonte: da autora.

$$Sp^2 = 2,42E-02$$

$$V \text{ estimativa de contrastes} = 3,02E-03$$

$$S \text{ estimativa de contrastes} = 0,054967857$$

$$\text{Erro} = 0,117$$

A análise das variáveis em estudo foi calculada por meio da média de cada nível (Tabela 30), onde os efeitos são referentes à subtração do menor nível pelo maior. O efeito calculado foi analisado através do erro estimado (0,117), observando que a variável diluente se apresentou maior (em módulo) do que o erro. Assim, pode-se concluir que o valor -0,140 significa que o nível (-) que, no caso, é diluente lactose, seria melhor do que diluente celulose. Porém, foram escolhidas formulações preparadas com os dois tipos de diluente, pois o efeito foi observado devido à falta de experiência do manipulador das cápsulas. Chegou-se a esta conclusão porque o teor de todas as formulações está dentro do especificado pela farmacopeia americana, mesmo que a uniformidade não possua valor de aceitação dentro do esperado para todas as formulações.

Tabela 30 - Efeitos calculados referentes aos níveis de cada variável.

Variáveis	Nível (+)	Nível (-)	Efeitos
Dose	0,1891	0,1855	0,0036
Aerosil	0,1735	0,2011	-0,0276
Lauril	0,1310	0,2439	-0,1130
Diluyente	0,1171	0,2575	-0,1403
Tempo	0,1828	0,1917	-0,0089

Fonte: da autora.

Dessa forma, para escolha das melhores formulações foi levado em consideração às formulações que passaram em todos os testes anteriores (peso médio, doseamento e uniformidade de doses unitárias por variação de peso). O critério de escolha das formulações foi as que obtiveram valores de teor satisfatórios e que possuíam valor de aceitação dos dois lotes menor que 15. Foram propostas três formulações de cada dose, conforme demonstrado nas Tabelas 31 e 32.

Tabela 31 - Formulações propostas para dapsona na dose de 50 mg.

Formulações	Dióxido silício Coloidal (%)	Lauril Sulfato de Sódio (%)	Lactose (%)	Celulose (%)	Tempo de mistura (minutos)
1	0,1	1,0	98,9	-	5
9	0,1	1,0	-	98,9	2
15	0,5	2,0	-	97,5	2

Fonte: da autora.

Tabela 32 - Formulações propostas para dapsona na dose de 100 mg.

Formulações	Dióxido silício Coloidal (%)	Lauril Sulfato de Sódio (%)	Lactose (%)	Celulose (%)	Tempo de mistura (minutos)
4	0,5	1,0	98,5	-	5
10	0,1	1,0	-	98,9	5
14	0,1	2,0	-	97,9	2

Fonte: da autora.

5.5 VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

Para definição dos parâmetros do perfil de dissolução para dapsona, primeiramente foram testados os aparatos (pá e cesta) a 50 rpm, e posteriormente a 100 rpm. Observou-se que o aparato cesta e a rotação de 50 rpm apresentaram melhor desempenho para o ensaio pois forneceu um perfil discriminatório com maior liberação do fármaco.

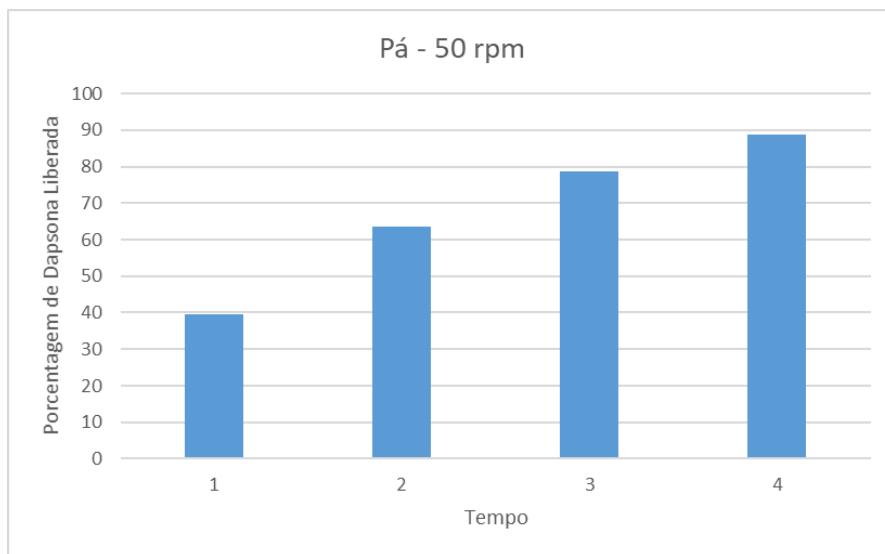


Figura 5 - Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg cápsulas utilizando aparato pá e rotação 50 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).

Fonte: da autora.

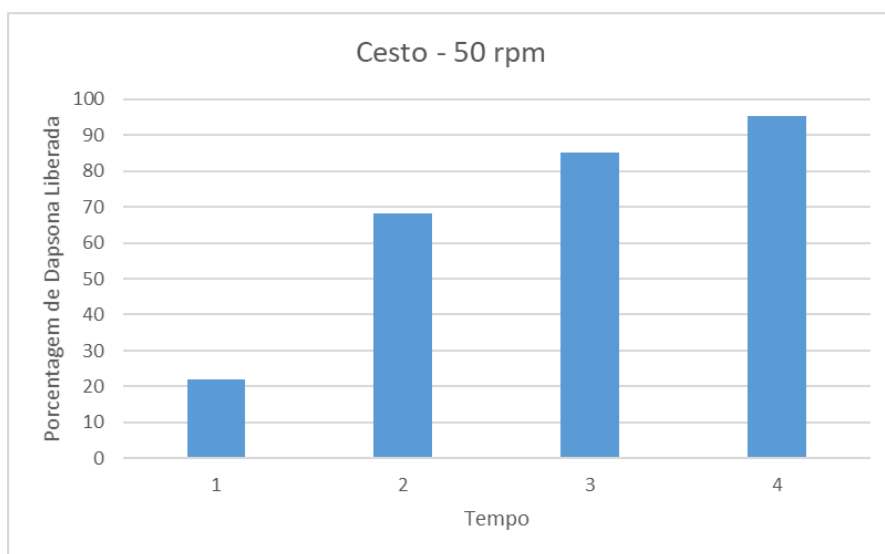


Figura 6 - Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg cápsulas utilizando aparato cesta e rotação 50 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).

Fonte: da autora.

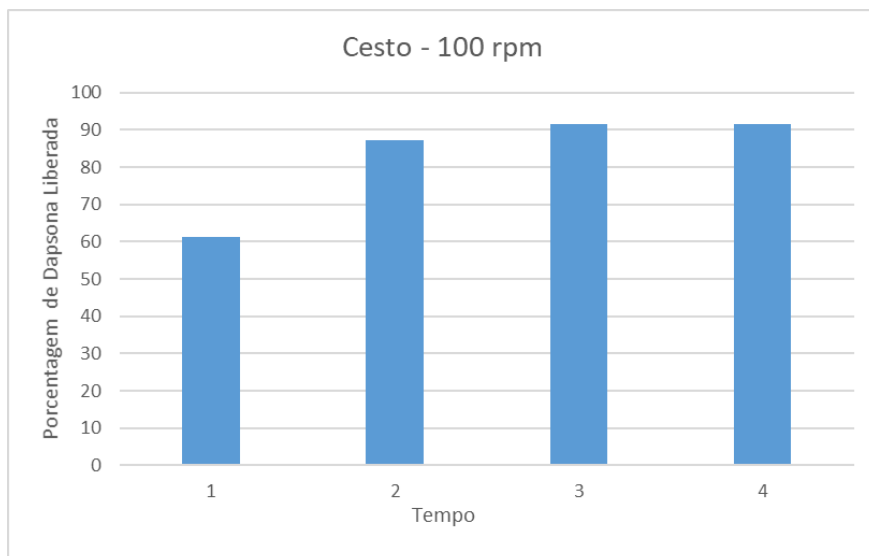


Figura 7 - Gráfico do perfil de dissolução de dapsona 100 mg cápsulas utilizando aparato cesta e rotação 100 rpm. Tempos de coleta 1 (5 min), 2 (15min), 3 (30 min) e 4 (60 min).

Fonte: da autora.

5.5.1 Seletividade

O solvente utilizado para quantificação do fármaco foi ácido clorídrico 2%, utilizado como meio de dissolução e o pico de máxima absorção ocorreu no comprimento de onda de 290 nm, que foi utilizado para as análises posteriores.

A Figura 8 demonstra a seletividade do método espectrofotométrico para quantificação de dapsona frente os excipientes testados. Observa-se não haver interferência significativa dos excipientes no pico máximo absorção da dapsona que foi em 290 nm.

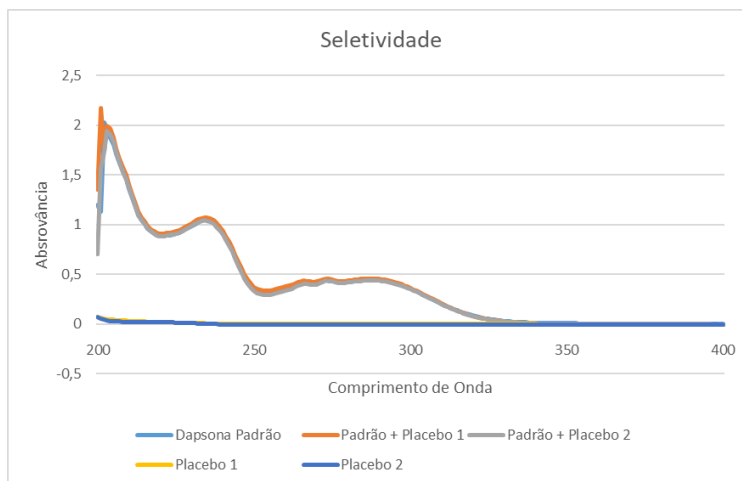


Figura 8 - Varredura espectral de solução de dapsona SQR, na concentração de 20 µg/mL, utilizando HCl 2% como solvente, placebo mais padrão e excipientes.

Fonte: da autora.

5.5.2 Linearidade

Para o estudo de linearidade, evidenciou-se que existe boa correlação linear entre o fator independente (concentração da SQR) e os fatores dependentes (absorvância das concentrações de dapsona) através da equação $y = 0,0206x + 0,0407$, e com coeficiente de determinação (0,9946) foi possível averiguar o grau de explicação do modelo (BRASIL, 2017). A curva analítica foi plotada de acordo com os valores das absorvâncias em função das concentrações. Determinou-se a equação da reta e o coeficiente de correlação pelo método dos mínimos quadrados, bem como o desvio padrão relativo (DPR) para cada ponto da curva, os resultados estão apresentados na Tabela 33 e Figura 9, respectivamente.

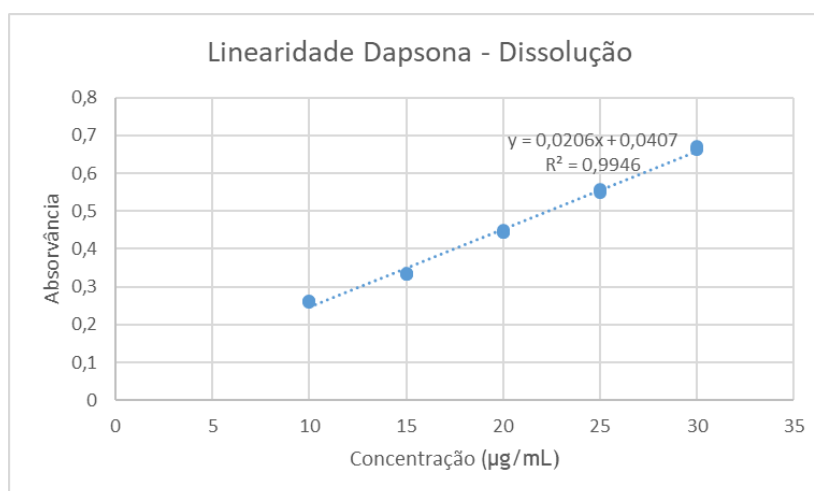


Figura 9 - Representação gráfica da curva analítica do ensaio de linearidade do método para quantificação de dapsona por espectrofotometria UV.

Fonte: da autora.

Tabela 33 - Valores de absorvâncias obtidos na construção da curva analítica para dapsona com as respectivas médias e desvios padrão relativos (DPR%) por espectrofotometria no UV.

Concentração (µg/mL)	Absorvância	Média das absorvâncias	DPR (%)
10	0,26195	0,261323	0,23
10	0,26074		
10	0,26128		
15	0,33595	0,334157	0,54
15	0,33232		
15	0,3342		
20	0,45053	0,446523	0,78
20	0,44489		
20	0,44415		
25	0,55475	0,554303	0,71
25	0,558		
25	0,55016		
30	0,66336	0,665963	0,58
30	0,67038		
30	0,66415		

Fonte: da autora.

Coefficiente de correlação (r): 0,9973

Faixa de avaliação: 10,0 a 30,0 µg/mL

Sensibilidade (inclinação): 0,0206

Interseção: 0,0407

Equação da reta: $y = 0,0206x - 0,0407$

Coefficiente de Determinação (R^2): 0,9946

Os valores de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade foram determinados e expressos na Tabela 34.

Tabela 34 - Valores de variâncias de acordo com as concentrações utilizadas na linearidade.

Concentrações (µg/mL)	Variâncias
10,0	3,67433E-07
15,0	3,29563E-06
20,0	1,21769E-05
25,0	1,55160E-05
30,0	1,47862E-05
	Soma: 4,61423E-05

Fonte: da autora.

Tabela 35 - Valores obtidos no Teste de Cochran, ao nível de 5 % de significância, aplicado aos dados ponderados do ensaio de linearidade para dapsona por espectrofotometria.

C crítico	C calculado
0,684	0,336

Fonte: da autora.

A qualidade do ajuste da curva de calibração e a sua linearidade também devem ser avaliadas por meio da inspeção visual do gráfico de resíduos gerados pela regressão. A avaliação da igualdade das variâncias foi realizada utilizando o método de Cochran (Brasil, 2017), conforme Tabela 35, onde $C_{cal} < C_{crítico}$, e com essa condição aceita a hipótese nula, ou seja, as variâncias são iguais.

O teste F na análise de variância tem o objetivo de testar a significância da estimativa do coeficiente associado à variável independente x (concentração); se F calculado for maior ou igual a F de significação, conclui-se que o modelo é adequado (Tabela 36). O valor de F calculado $>$ F tabelado, rejeita a hipótese nula, ou seja, a reta de regressão explica satisfatoriamente a relação entre concentração e sinal.

O coeficiente de determinação (R^2) é determinado com o objetivo de averiguar o grau de adequação do modelo (BRASIL, 2017).

Os resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados do ensaio de linearidade estão apresentados na Tabela 37 e Figura 10. Os pontos no gráfico de resíduos deverão estar aleatoriamente distribuídos ao redor do eixo x, não apresentando nenhum comportamento ou tendência funcional (Brasil, 2017).

Tabela 36 - Resultados obtidos pela análise de variância.

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	0,279327467	0,279327	2327,032	4,1223E-15
Resíduo	12	0,001440431	0,00012		
Total	13	0,280767898			

F tabelado: 4,28

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	0,034274444	0,009417708	3,639361	0,003392
10	0,020844889	0,000432114	48,23932	4,12E-15
<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>	<i>Inferior 95,0%</i>	<i>Superior 95,0%</i>	
0,013755021	0,054793868	0,013755021	0,054793868	
0,019903393	0,021786385	0,019903393	0,021786385	

Fonte: da autora.

Tabela 37 - Valores correspondentes a análise de resíduos.

Observação	Y Previsto (a)	Resíduos
1	0,242723333	-0,01922667
2	0,242723333	0,018016667
3	0,242723333	0,018556667
4	0,346947778	-0,01099778
5	0,346947778	-0,01462778
6	0,346947778	-0,01274778
7	0,451172222	-0,00064222
8	0,451172222	-0,00628222
9	0,451172222	-0,00702222
10	0,555396667	-0,00064667
11	0,555396667	0,002603333
12	0,555396667	-0,00523667
13	0,659621111	0,003738889
14	0,659621111	0,010758889
15	0,659621111	0,004528889

Fonte: da autora.

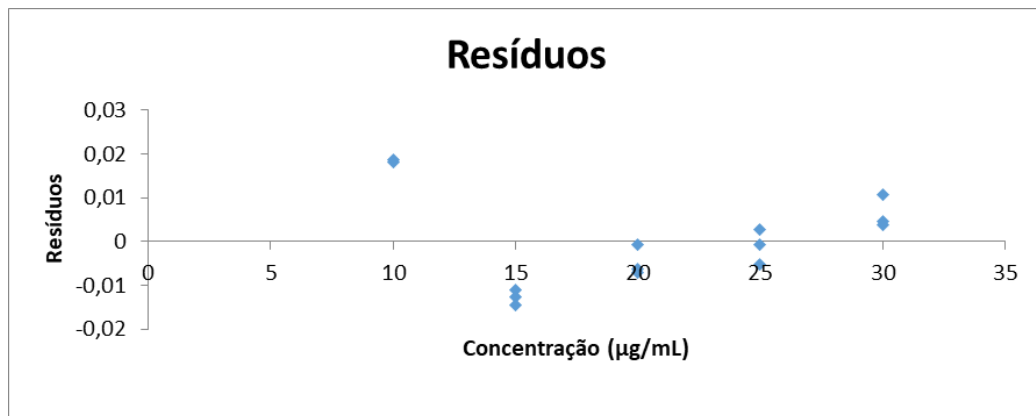


Figura 10 - Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.

Fonte: da autora.

Pelos parâmetros apresentados é possível observar que a linearidade do método obtida na faixa de concentração de 10 a 30 $\mu\text{g/mL}$, apresenta coeficiente de correlação de 0,9973, com desvio padrão relativo médio menor que 2 %, demonstrando haver boa correlação linear entre o fator independente (concentração do padrão) e o fator dependente (absorvância das concentrações de dapsona).

5.5.3 Precisão

A precisão do método foi demonstrada pelos valores de desvios padrão relativos inferiores a 5,0% (BRASIL, 2017). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 38 e 39.

Tabela 38 - Valores obtidos no ensaio de precisão por repetitividade para dapsona com placebo 1 por espectrofotometria UV.

Concentração (%)	Absorvâncias	DPR (%)
50	0,220	0,71
	0,223	
	0,223	
100	0,461	1,84
	0,454	
	0,445	
150	0,666	1,71
	0,653	
	0,644	

Fonte: da autora.

Tabela 39 - Valores obtidos no ensaio de precisão por repetitividade para dapsona com placebo 2 por espectrofotometria UV.

Concentração (%)	Absorvâncias	DPR (%)
50	0,234	1,76
	0,226	
	0,228	
100	0,446	1,40
	0,447	
	0,436	
150	0,659	0,38
	0,655	
	0,659	

Fonte: da autora.

5.5.4 Exatidão

O cálculo da percentagem de recuperação foi realizado por meio da razão da concentração experimental pela concentração teórica das soluções e os resultados estão expressos nas Tabelas 40 e 41 para placebo 1 e placebo 2, respectivamente.

Tabela 40 - Valores obtidos no ensaio de exatidão para dapsona adicionado de placebo 1 e Desvio Padrão Relativo (DPR%) por espectrofotometria UV.

Concentração (%)	Absorvâncias	Média das Absorvâncias	Recuperação Média (%)
50	0,220	0,229	98,6
	0,223		
	0,223		
100	0,461	0,453	101,7
	0,454		
	0,445		
150	0,666	0,655	99,5
	0,653		
	0,644		

Fonte: da autora.

Tabela 41 - Valores obtidos no ensaio de exatidão para dapsona adicionado de placebo 2 e Desvio Padrão Relativo (DPR %) por espectrofotometria UV.

Concentração (%)	Absorvâncias	Média das Absorvâncias	Recuperação Média (%)
50	0,234	0,229	101,94
	0,226		
	0,228		
100	0,446	0,443	99,39
	0,447		
	0,436		
150	0,659	0,658	100,0
	0,655		
	0,659		

Fonte: da autora.

Segundo a legislação vigente (BRASIL, 2017), os resultados obtidos de recuperação entre 98% e 102%, são bons resultados para exatidão. As cápsulas que contêm dapsona nas

doses de 50 e 100 mg, obedeceram aos limites de recuperação e desvio padrão relativo citados anteriormente.

5.5.5 Robustez

Para avaliar a robustez do ensaio de dissolução para a dapsona foram considerados os parâmetros: rotação (50 e 100 rpm) e aparato (cesta e pá). Os resultados de robustez estão apresentados nas Tabelas 42 e 43, respectivamente.

Tabela 42 - Valores obtidos no teste de robustez para dapsona com placebo 1 aplicado ao ensaio de dissolução.

Condições normais do método	Aparato pá	Rotação 100 rpm
96,66887	81,9755	82,62136
96,28685	87,13188	87,43024
93,88114	87,98133	86,03321

Fonte: da autora.

Tabela 43 - Valores obtidos no teste de robustez dapsona com placebo 2 aplicado ao ensaio de dissolução.

Condições normais do método	Aparato pá	Rotação 100rpm
96,07919	90,45948	99,80694
91,7955	95,9107	96,38808
96,41074	89,28007	96,4302

Fonte: da autora.

O teste de análise de variâncias (ANOVA) evidenciou um F calculado de 16,07 para as soluções adicionadas de placebo 1 e 3,78 para as soluções adicionadas de placebo 2 com o F crítico de 5,14. O F calculado para placebo 1 foi maior que o F crítico, ou seja, as variâncias são estatisticamente diferentes, então, é necessário o teste de Tukey que analisa quais são os parâmetros diferentes comparados com as condições normais de análise. Já o F calculado para placebo 2 foi menor que o F crítico, ou seja, a análise de variância demonstrou que as condições são estatisticamente iguais, sendo o método robusto, considerando $\alpha = 5\%$, conforme demonstrado nas Tabelas abaixo.

Tabela 44 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona com placebo 1, por espectrofotometria.

Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F	Valor-P	F crítico
Entre grupos	203,5844667	2	101,7922	16,07029	0,003893	5,143253
Dentro dos grupos	38,00513333	6	6,334189			
Total	241,5896	8				

OBS: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; MQ = Quadrado médio.

Fonte: da autora.

Através do teste de Tukey, observa-se que as condições são estatisticamente diferentes, ou seja, o método não é robusto para as alterações de rotação e aparato para o placebo 1.

Tabela 45 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez para dapsona com placebo 2, por espectrofotometria.

Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F	Valor-P	F crítico
Entre grupos	56,81029	2	28,40514	3,779134	0,086664	5,14325
Dentro dos grupos	45,09787	6	7,516311			
Total	101,9082	8				

OBS: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; MQ = Quadrado médio.

Fonte: da autora.

5.6 PERFIS DE DISSOLUÇÃO

As condições estabelecidas para avaliação do perfil de dissolução de dapsona foram:

- m) Rotação 50 rpm;
- n) Aparato cesta;
- o) Temperatura do banho de 37,5 °C;
- p) Meio de dissolução: ácido clorídrico 2%;
- q) Volume de 1000 mL de meio de dissolução por cuba;
- r) Tempos de coleta em 5, 10, 15, 20, 30, 60 minutos;
- s) Volume de coleta e reposição de 5 mL.

As três melhores formulações de 100 mg desenvolvidas foram submetidas ao ensaio de dissolução após o desenvolvimento da validação analítica.

As formulações foram escolhidas de acordo com o doseamento e uniformidade de doses unitárias, sendo as formulações 4, 10 e 14 (Tabela 7)

Os valores médios de dapsona dissolvida (%) e os valores de DPR (%) de cada formulação são mostrados na Tabela 46.

Tabela 46 - Valores médios obtidos no perfil de dissolução e respectivos DPR (%) das formulações testadas.

% de dapsona dissolvida/ DPR						
Tempos de coleta	5 min.	10min.	15min.	20min	30min.	60min.
Formulação 4:	47,70	76,74	86,56	90,72	93,98	95,63
DPR (Formulação 4)	22,50	10,37	5,23	3,87	4,67	4,18
Formulação 10:	30,62	58,91	72,87	80,04	85,96	91,70
DPR (Formulação 10)	10,34	12,84	9,66	8,71	6,48	4,26
Formulação 14:	26,73	55,76	73,28	75,54	86,20	101,69
DPR (Formulação 14)	30,41	5,77	7,99	9,89	11,42	2,59

Fonte: da autora.

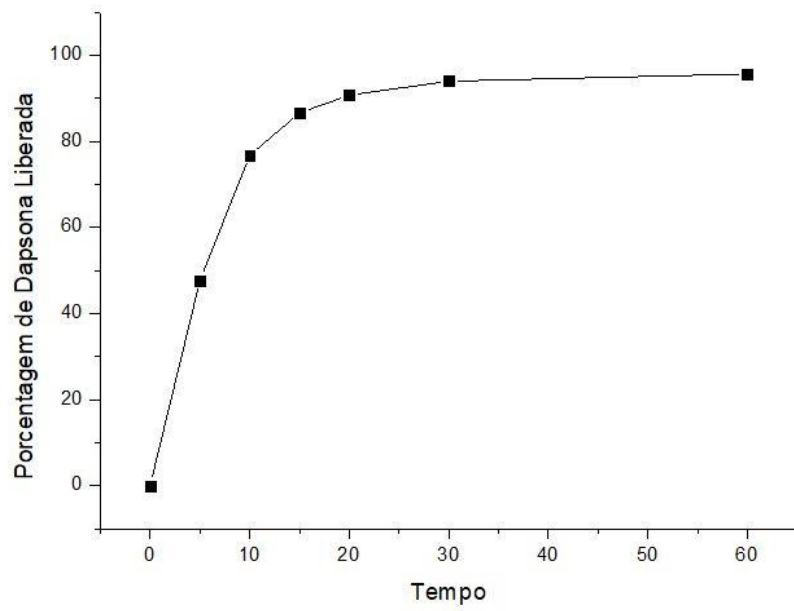


Figura 11 - Perfil de dissolução da formulação 4, (meio de dissolução ácido clorídrico 2%, volume de 1000 mL, temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, aparato cesta e rotação de 50 rpm) com quantificação por espectrofotometria UV a 290 nm.

Fonte: da autora.

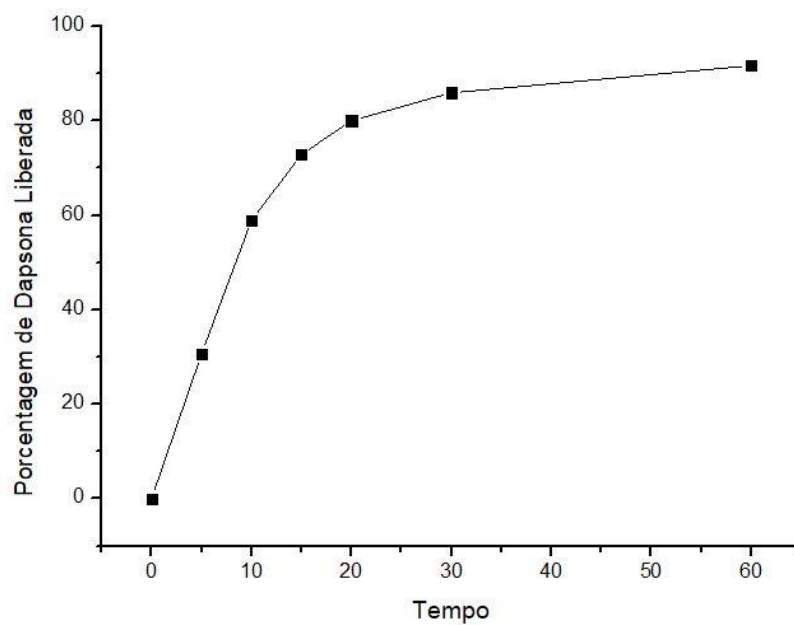


Figura 12 - Perfil de dissolução da formulação 10 (mesmas condições da figura 11)

Fonte: da autora.

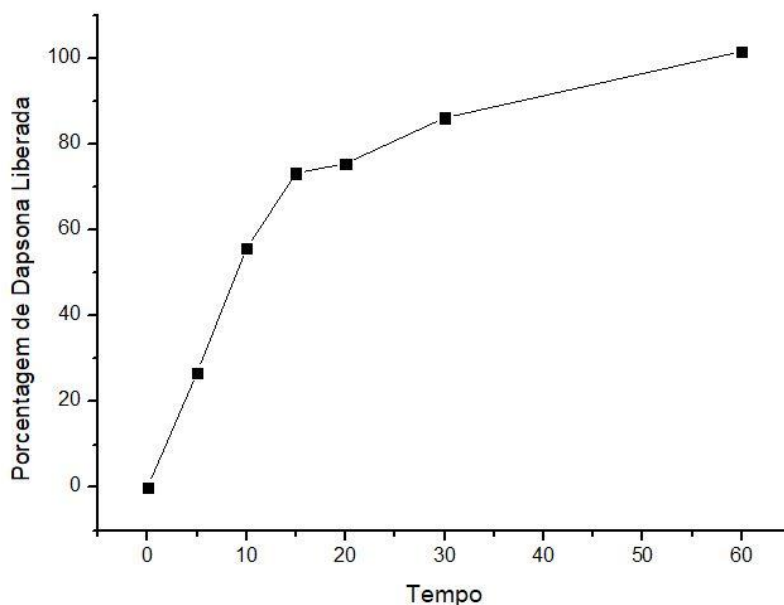


Figura 13 - Perfil de dissolução da formulação 14 (mesmas condições da figura 11)

Fonte: da autora.

Segundo Brasil (2010), a comparação de perfis de dissolução se torna útil quando se deseja conhecer o comportamento de dois medicamentos ou duas formulações. Para tal, avalia-se a curva como um todo, empregando-se o Método Modelo Independente Simples que utiliza o cálculo de F1 (fator de diferença) e F2 (fator de semelhança) que corresponde a uma medida de semelhança entre as percentagens dissolvidas de ambos os perfis. Porém, quando a formulação for comprovadamente de liberação imediata com dissolução muito rápida, o fator F2 perde seu poder discriminativo e o desvio padrão relativo no ponto de 15 minutos não pode exceder 10 % (BRASIL, 2010).

Conforme mostram as Figuras 11, 12 e 13, a maioria das cápsulas testadas apresentou liberação do fármaco em mais de 85% no tempo de 30 minutos, configurando assim, uma forma farmacêutica de liberação imediata. Dessa forma, a comparação dos perfis obtidos será feita através do cálculo da eficiência da dissolução de cada formulação, estabelecendo Q de 80 % + 5%, no tempo de 30 minutos ($Q_{30} = 85\%$). Para cada perfil médio foi calculado a eficiência da dissolução e observado o valor de Q_{30} , conforme demonstrado na Tabela 47.

Tabela 47 - Valores obtidos na determinação da eficiência de dissolução e Q_{30} das formulações testadas.

Formulação	ED (%)	Q_{30} (%)
4	84,2	93,98
10	75,1	85,96
14	76,6	86,20

Fonte: da autora.

As três formulações apresentaram eficiência de dissolução com valores de Q em 30 minutos acima de 85%, podendo ser sugeridas como opções de formulações para dapsona na forma farmacêutica cápsula.

Para dapsona na dosagem de 50 mg, as formulações apresentaram bom desempenho no doseamento e algumas não apresentaram bom desempenho na uniformidade de doses unitárias. Sendo assim, os critérios para escolha das três melhores formulações foram às formulações que obtiveram melhor teor e valor de aceitação (VA) dos dois lotes menor que 15, ou seja, as formulações 1, 9 e 15 (Tabela 7). Assim, as formulações sugeridas para manipulação de dapsona na forma farmacêutica cápsula estão demonstradas na Tabela 48.

Tabela 48 - Formulações padronizadas para dapsona nas doses de 50 mg e 100 mg.

Formulações	Dióxido silício Coloidal (%)	Lauril Sulfato de Sódio (%)	Lactose (%)	Celulose (%)	Tempo de mistura (minutos)
Dose de 50 mg					
1	0,1	1,0	98,9	-	5
9	0,1	1,0	-	98,9	2
15	0,5	2,0	-	97,5	2
Dose de 100 mg					
4	0,5	1,0	98,5	-	5
10	0,1	1,0	-	98,9	5
14	0,1	2,0	-	97,9	2

Fonte: da autora.

5.7 OBTENÇÃO DE DIFERENTES FORMAS SÓLIDAS DE DAPSONA

Após recristalização as amostras codificadas DDS1, DDS2, DDS4, DDS6, DDS7, DDS8, DDS9, DDS10, DDS11, DDS12 foram submetidas a análise por difração de Raios-X e apresentaram padrão de difração semelhante ao IFA (dapsona). As tentativas de recristalização DDS 3 e DDS 5 apresentaram picos que, de acordo com a literatura, correspondem à forma hidratada, porém com contaminação de IFA. Por isso, com o objetivo de purificação, nova tentativa de recristaliação foi realizada otimizando as condições do ensaio da seguinte forma DDS3.2: 250 mg de IFA em 3 mL de acetonitrila e DDS5.2: 250 mg de IFA em 3mL de acetona.

As soluções foram mantidas em congelador convencional, temperatura de -4°C até secagem dos solventes. Os resultados das análises de DRXP dos cristais DDS3.2 e DSS5.2 estão demonstrados na figura 14.

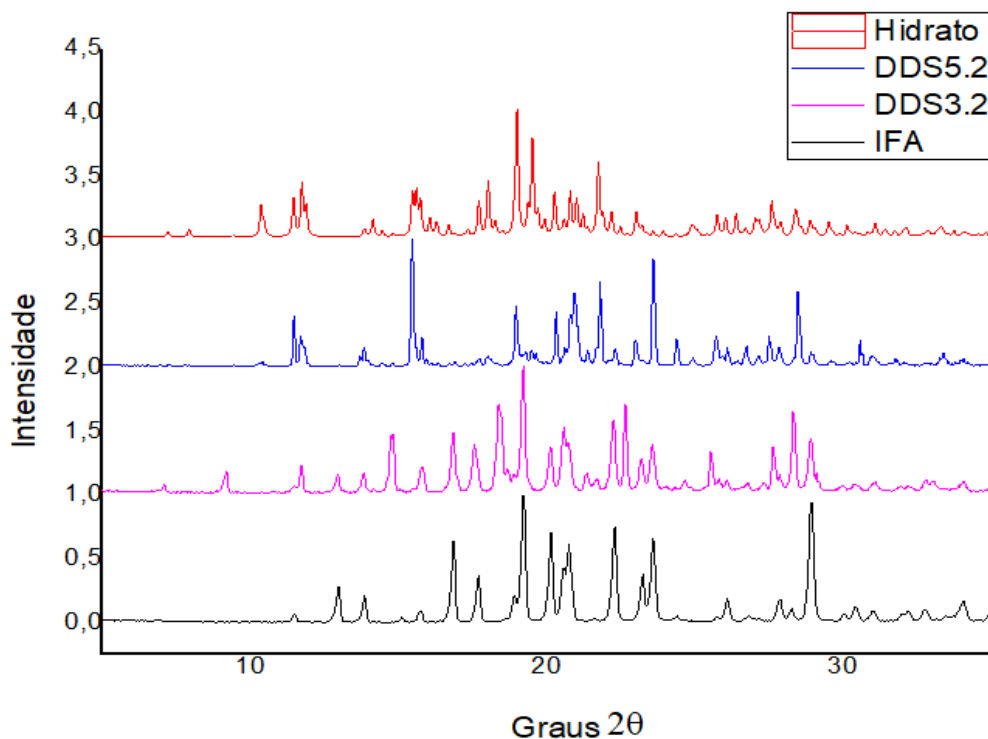


Figura 14 - Comparativos dos difratogramas do hidrato e matéria prima com as tentativas DDS3.2 e DDS5.2.

Fonte: da autora.

Com essas informações apresentadas pela cristalografia sugere-se que DDS5.2 corresponde a forma hidratada da dapsona, pois possui picos correspondentes ao descrito na literatura.

5.8 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMAS CRISTALINAS

5.8.1 Análise do IFA (dapsona) por difração de Raios-X por pó (DRXP)

O difratograma experimental do IFA (dapsona) foi comparado com os padrões de difração por pó das formas II, III e hidrato, simulados através do CSD. Os resultados estão apresentados na figura 15 e tabela 49.

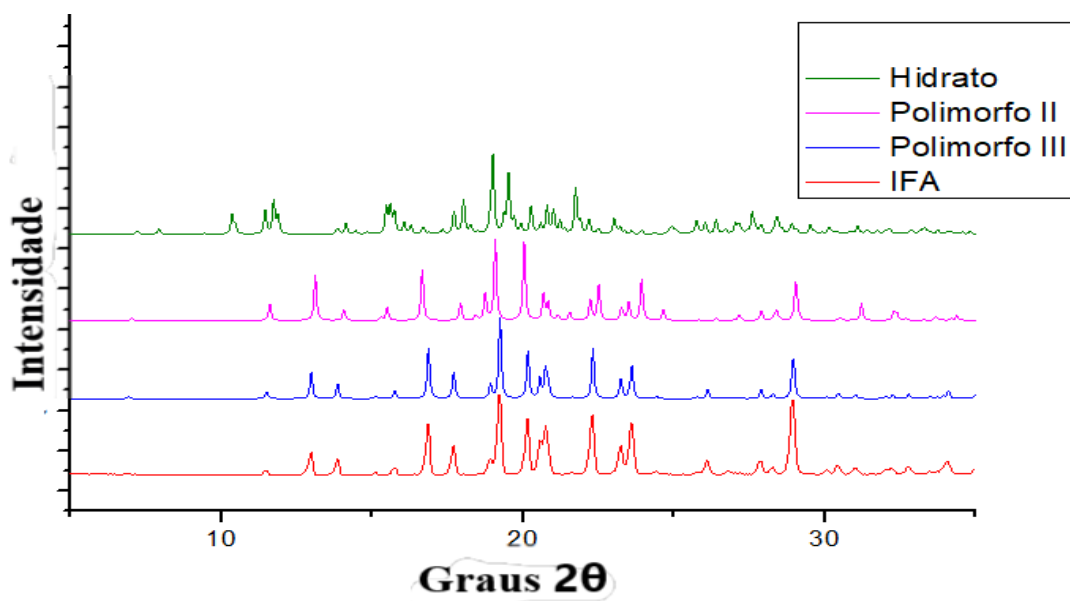


Figura 15 - Simulação dos padrões de difração das formas cristalinas de dapsona, hidrato e PXRD experimental do IFA utilizado nesse estudo.

Fonte: da autora.

Diante da análise comparativa dos difratogramas e com o auxílio da tabela com os picos de intensidade, foi possível verificar que o IFA de dapsona possui a forma cristalina III conforme relatado por Kuhnert-Brandstätter e Moser (1979).

Tabela 49 - Valores correspondentes aos picos de difração de raio-X (posições em 2θ) das formas cristalinas de dapsona e do hidrato em comparação com IFA e DAP H.

Forma II	Forma III	IFA	Hidrato	DDS 5.2
7,01	6,92	-		6,94*
-	-	-	7,2	7,25
-	-	-	7,92	7,91
-	-	-	9,41	9,43
-	-	-	10,35	10,33
11,61	11,5	11,5	11,45	11,46
-	-	-	11,74	11,7
-	-	-	11,87	11,82
13,12	12,98	13	-	-
-	-	-	-	13,7
	13,86	13,85	13,86	13,84
14,05	-	-	14,13	13,98
-	-	-	14,44	14,43
-	-	-	14,82	14,79
15,3	15,11	15,1	-	-
15,5	-	-	15,47	15,46
-	-	-	15,59	15,59
				15,8
-	15,76	15,75	15,74	

Forma II	Forma III	IFA	Hidrato	DDS 5.2
-	-	-	16,06	15,94
-	-	-	16,29	16,33
16,66	-	-	16,69	16,72
-	16,86	16,85	16,89	16,89
-	-	-	17,21	17,22
-	-	-	17,34	17,47
-	17,7	17,69	17,71	17,72
17,92	-	-	-	-
	-	-	18,02	18,03
	-	-	18,26	18,32
18,44	18,57	18,6	18,5	18,54
18,74	-	-	-	-
19,08	18,92	18,9	19	18,95
-	19,21	19,2	-	19,19*
-	-	-	19,37	19,29
-	-	-	19,52	19,48
	-	-	19,69	19,64
20,04	-	-	19,94	
	20,16	20,14	20,27	20,31
20,68	20,56	20,55	20,58	20,61
20,83	20,74	20,75	20,8	20,79
	-	-	21,01	20,93
21,16	-	-	21,23	21,24
	-	-	21,38	21,38
21,55	21,62	21,6	-	21,68*
-	-	-	21,74	21,8
-	-	-	21,9	-
-	-	-	22,19	22,09
22,23	22,32	22,29	-	22,3
22,52	-	-	22,5	22,52
-	-	-	23,02	22,98
23,27	23,24	23,24	23,22	23,2
-	-	-	23,36	-
23,5	23,6	23,59	23,59	23,59
23,93	-	-	23,94	-
	24,42	24,39	24,37	24,38
24,65	-	-	-	-
-	-	-	24,92	24,94
-	-	-	25,06	25,01
-	25,77	25,74	25,75	25,72
-	26,13	26,1	26,04	26,1
26,4	-	-	26,4	26,45
-	26,79	26,79	26,71	26,76
-	-	-	27,05	27,08
27,17	-	-	27,17	27,16
-	-	-	27,6	27,5
27,91	27,89	27,89	27,9	27,84

Forma II	Forma III	IFA	Hidrato	DDS 5.2
28,42	28,28	28,28	28,41	28,36
-	-	-	28,59	28,47
29,04	28,96	28,94	28,9	28,91
-	-	-	29,07	28,99
-	-	-	29,53	29,56
-	-	-	29,66	29,7
-	-	-	29,9	-
-	30,06	30,05	30,14	30,21
30,52	30,45	30,42	30,42	30,44
-	-	-	30,57	30,58
-	-	30,79	30,83	30,66
-	31,03	31,02	31,08	30,92
31,22	-	-	-	-
-	-	-	31,41	31,59
-	-	-	31,76	31,77
-	-	-	-	31,85
-	32,02	32,03	-	-
-	32,25	32,21	32,15	32,05
32,3	-	-	-	-
32,39	-	-	-	-
-	-	32,59	-	-
32,68	32,8	32,76	32,89	32,79
-	-	33,15	33,24	33,28
33,28	-	-	33,33	33,4
33,67	33,51	33,49	33,56	-
-	33,75	33,74	33,75	33,79
-	33,96	33,91	-	-
34,19	34,11	34,02	34,13	33,98
-	34,1	34,09	34,57	34,08
34,38	-	-	-	-
-	34,67	34,6	-	-
-	-	34,94	34,82	-

Fonte: da autora.

Os picos destacados com asteriscos (*) 6,94; 19,19 e 21,68 possuem intensidade relativamente baixa e indicam contaminação da forma III (IFA) no hidrato obtido.

5.8.2 Análise do IFA e hidrato por espectrofotometria na região do infravermelho

A espectrofotometria de absorção na região do infravermelho permitiu a obtenção de espectros cuja estrutura se fundamenta nos modos vibracionais das moléculas. Estes espectros fornecem informações sobre a estrutura e conformação molecular do sólido.

Assim, foi possível comprovar a estrutura da dapsona pelas bandas características de alguns grupos químicos da molécula descritos na tabela 52. O espectro de absorção no infravermelho da dapsona está apresentado na figura 16.

Tabela 50 – Principais picos referentes aos modos vibracionais da dapsona obtido por espectrofotometria por infravermelho.

Vibração	Número de Onda	Intensidade
Estiramento N-H de amina aromática	Entre 3494 - 3289	Média
Harmônica de aromático	Entre 2000 – 1800	Baixa
Estiramento C=C aromático	1591 e 1627	Forte
Estiramento O=S=O	1272 e 1138	-
Dobramento C-H de aromático orto e para substiuído	824 e 724	Fortes

Fonte: da autora.

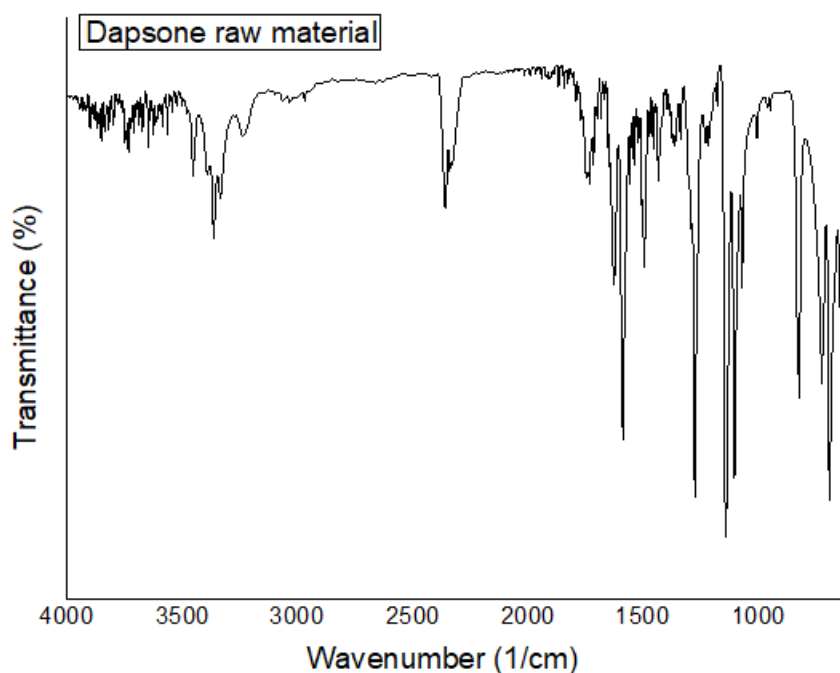


Figura 16 - Espectros de absorção no infravermelho para dapsona.

Fonte: da autora.

A figura 17 compara os espectros de absorção no infravermelho de dapona e do seu hidrato, na qual podemos observar bandas características dos principais grupos químicos, que são semelhantes.

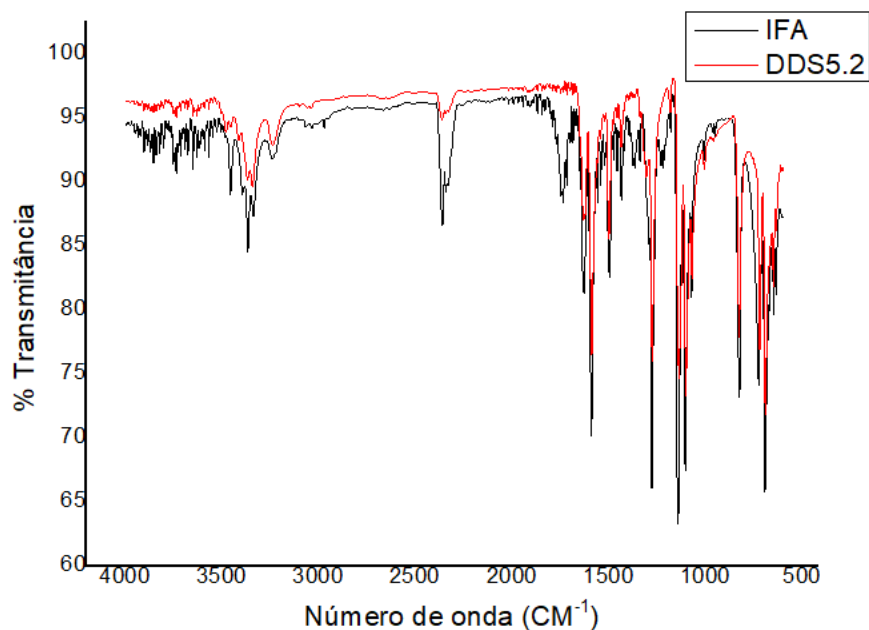


Figura 17 - Espectros de absorção no infravermelho de dapsona e DDS5.2.

Fonte: da autora.

5.8.3 Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O resultado do estudo por análise térmica para dapsona (forma III) e de seu hidrato (forma IV) estão demonstrados nas curvas DSC, conforme figura 18.

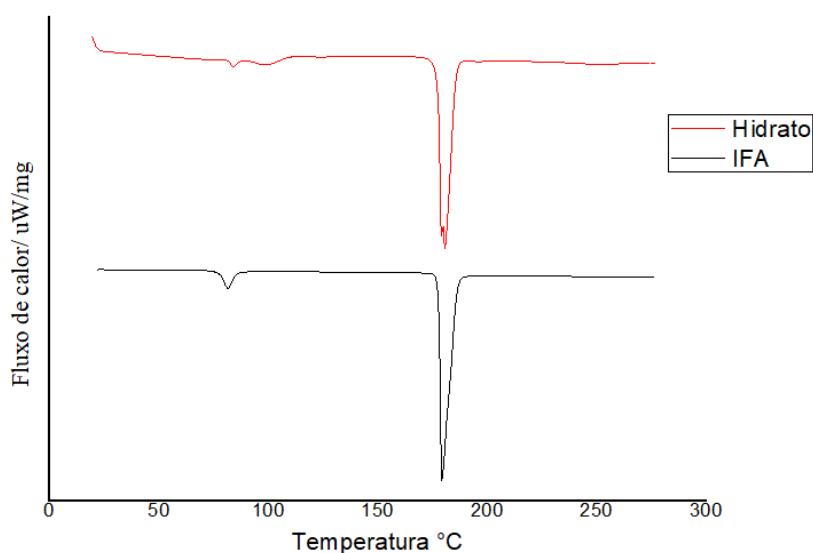


Figura 18 - Curvas DSC obtidas para hidrato e IFA. Velocidade de varredura de 10°C/min, 20-280°C, sob atmosfera de nitrogênio a 50mL/min.

Fonte: da autora.

A curva DSC de dapsona apresentou uma fusão em 81,55 °C, que indica a transformação da forma III para a forma II, sendo este então o ponto de fusão da forma III. Depois disso observa-se uma segunda fusão em 179,04 °C, que indica a fusão endotérmica inicial da forma II.

A curva de DSC para o hidrato também apresentou um evento endotérmico em 83,79°C, que pode indicar o ponto de fusão da forma III, e em 180,74 °C o ponto de fusão da forma II ainda presente na amostra.

5.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE

5.9.1 Seletividade

Após análise dos cromatogramas das soluções de dapsona e das tentativas de degradação, só foi possível observar o produto de degradação na hidrólise II, que se refere a amostra preparada em HCl 0,01M e leitura imediata. A seletividade está ilustrada na figura 8, comprovada pela alta resolução entre a dapsona e o seu produto de degradação formado. O tempo de retenção da dapsona foi de 4,57 min e o do produto de degradação foi de 7,93 min. E o tempo morto foi de 1,44 min.

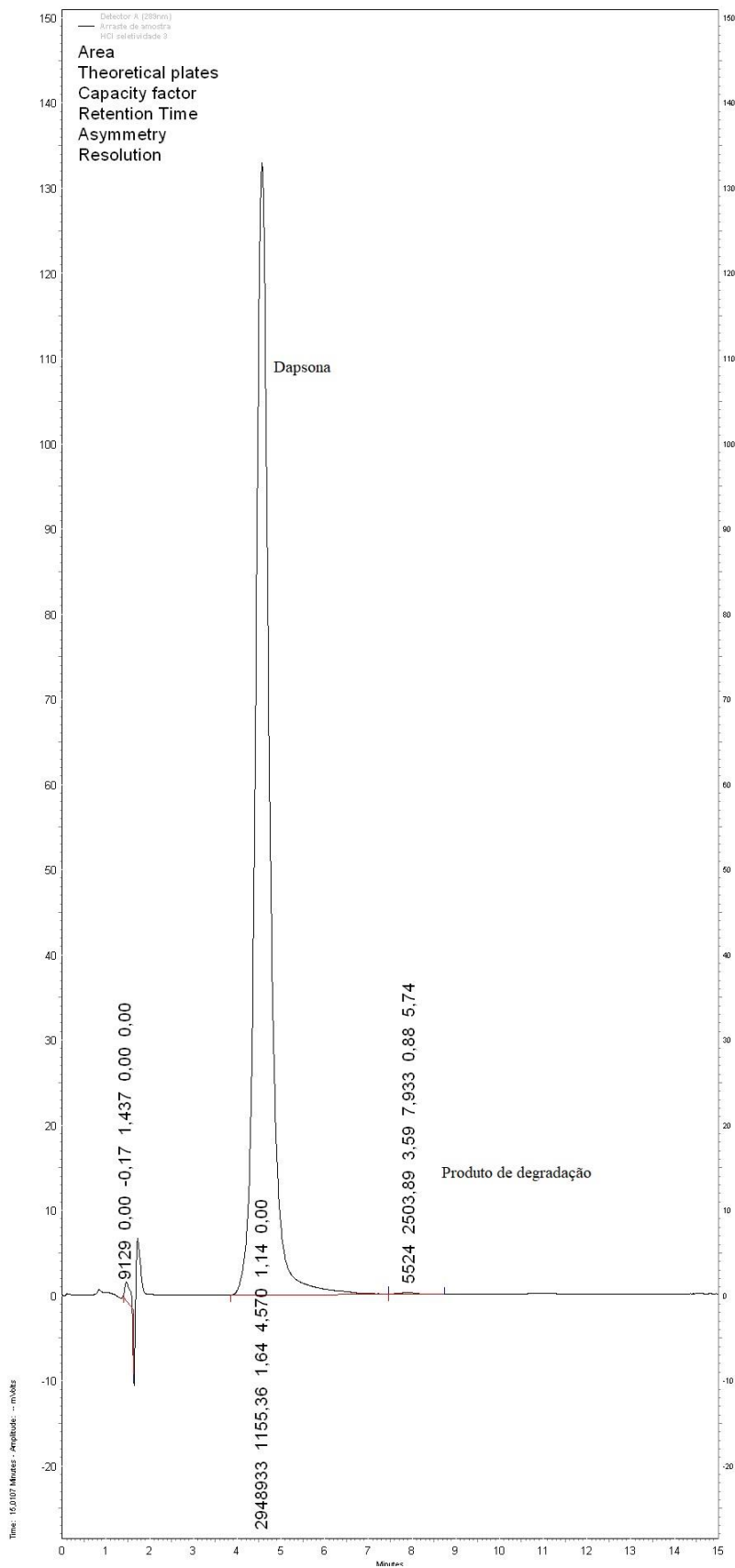


Figura 19 - Cromatograma da solução de dapsona 30 µg/mL em HCl 0,1M.

Fonte: da autora.

5.9.2 Linearidade

Para o estudo de linearidade, evidenciou-se que existe boa correlação linear no método através da equação $y = 78777x - 22909$. O coeficiente de determinação (0,9996) e coeficiente de correlação de Pearson (0,9998), maior que 0,990, conforme ilustrado na figura 20.

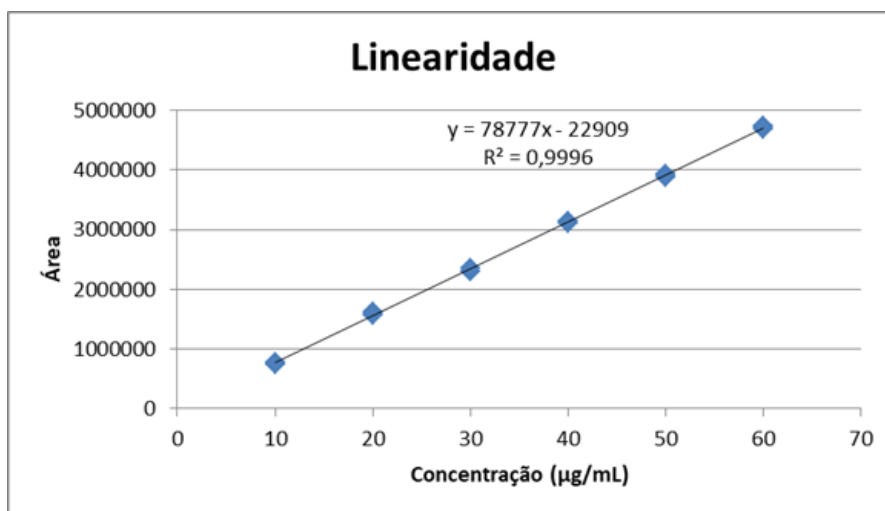


Figura 20 - Representação gráfica da curva analítica do ensaio de linearidade, para quantificação de dapsona por CLAE.

Fonte: da autora.

Os resultados para a análise de variância através do método de Cochran e Anova foram satisfatórios. A plotagem dos resíduos também foi satisfatória, pois não apresentou nenhum comportamento ou tendência funcional, como pode ser observado na figura 21.

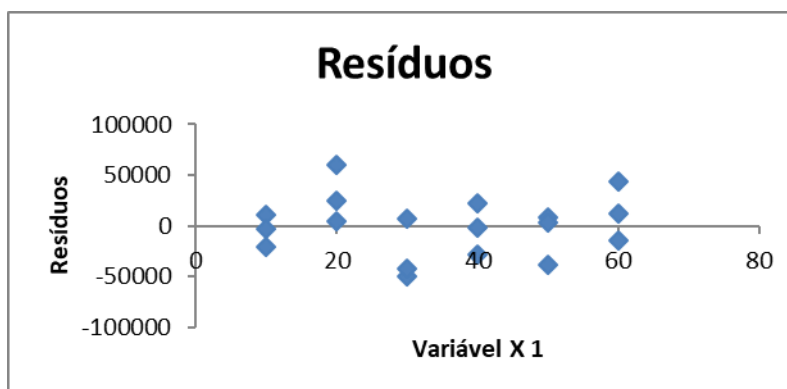


Figura 21 - Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados ponderados do ensaio de linearidade.

Fonte: da autora.

5.9.3 Precisão

A precisão do método foi demonstrada pela obtenção de valores de desvio padrão relativo inferiores a 5% tanto ao nível de repetitividade quanto precisão intermediária. Os resultados dos ensaios estão apresentados na tabela 51.

Tabela 51 - Valores obtidos nos ensaios de precisão para dapsona.

Analista	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPR (%)
1	20	0,78
	30	0,68
	40	0,81
2	20	3,73
	30	0,77
	40	1,20

Fonte: da autora.

5.9.4 Exatidão

Após o tratamento dos dados do ensaio de exatidão foram obtidos valores de recuperações entre 99,50% e 102,64%. Os resultados estão dentro dos parâmetros pré-estabelecidos para a validação comprovando a exatidão do método proposto e presentes na Tabela 52.

Tabela 52 - Valores obtidos nos ensaios de exatidão para dapsona.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação média (%)
20	100,96
30	99,50
40	102,64

Fonte: da autora.

5.9.5 Robustez

O teste de análise de variância demonstrou que as condições não apresentam o mesmo resultado de teor, com isso foi necessária a aplicação do teste de Tukey para saber qual parâmetro altera o resultado do método. As condições normais são: Fluxo 1,0 mL, Temperatura 25° C e coluna da marca Waters®.

Estatisticamente, considerando $\alpha = 5\%$, o método não é robusto quando se utiliza o fluxo de 0,8 mL/min e 1,2 mL/min, ou seja, as análises deverão utilizar o fluxo de 1 mL/min. Para as outras variações o método mostrou-se robusto.

Tabela 53 - Valores de recuperação de dapsona obtidos no ensaio de robustez.

Condições Normais (%)	Teor (%)			
	Fluxo 0,87 mL (%)	Temperatura 27° C (%)	Fluxo 1,2 mL (%)	Coluna Phenomenex® (%)
99,8	115,71	93,21	78,23	97,44
100,91	123,85	100,71	83,60	97,68
99,92	124,04	100,33	83,68	97,37

Fonte: da autora.

5.10 ESTUDO DE SOLUBILIDADE

O estudo de solubilidade foi realizado sob condições específicas e a quantificação foi realizada por CLAE para quantificação das amostras.

De acordo com a análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% seguido do teste Tukey, os valores de concentração das amostras de dapsona IFA e seu hidrato nos pHs 4,5; 6,8 e água foram estatisticamente iguais nos tempos de 12, 24, 48h. Entretanto no pH 2,0 os valores de concentração mostraram-se estatisticamente diferentes ao nível de significância de 0,05 tanto para dapsona IFA quanto para o seu hidrato nos tempos de 12h e 48h. A diferença nesse pH se deve ao comportamento básico do fármaco.

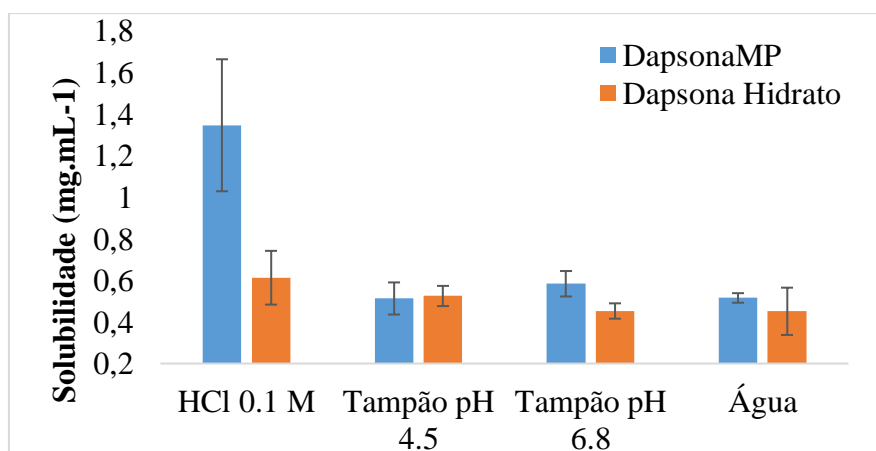


Figura 22 - Representação gráfica dos dados de solubilidade para dapsona IFA e hidrato, por CLAE.

Fonte: da autora.

A análise visual mostrou que houve maior solubilidade para o IFA em relação ao hidrato a 37°C. A análise de variância ao nível de significância de 0,05 mostrou que foi possível confirmar que a forma III foi estatisticamente mais solúvel em HCl, tampão acetato, tampão fosfato e água em relação ao hidrato a 37°C após 24 horas (tempo necessário para atingir o equilíbrio).

Pode-se concluir através desse estudo de solubilidade que a matéria prima que contém hidrato pode prejudicar a biodisponibilidade do fármaco, já que ele é menos solúvel que a forma III, que é a forma comercializada.

6 CONCLUSÕES

As formulações para dapsona 50 e 100 mg, na forma farmacêutica cápsulas, foram desenvolvidas a partir de estudos de seletividade analítica entre fármaco e excipientes e por meio de planejamento fatorial de misturas, onde os efeitos referentes aos níveis de cada variável foram calculados.

O método analítico para determinação de teor e uniformidade de doses unitárias por variação de peso foi validado para a forma farmacêutica cápsula, nas dosagens de 50 e 100 mg, e atendeu aos parâmetros de validação apresentando seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez e limites de quantificação e detecção.

As formulações manipuladas foram avaliadas quanto ao peso médio e desintegração, atendendo aos requisitos para cápsulas até 300mg e obtiveram valores de teor de acordo com as especificações da farmacopeia americana entre 92,5 a 107,5% (UNITED, 2017), parâmetro de especificação para forma a farmacêutica comprimido que foi utilizado neste estudo.

O ensaio de dissolução foi validado e as condições estabelecidas foram meio de dissolução ácido clorídrico 2%, volume da cuba de 1000 mL, temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, aparato cesta e rotação de 50 rpm, com quantificação por espectrofotometria UV a 290 nm.

Os perfis de dissolução das formulações 4, 10 e 14 propostas para dapsona 100 mg (Tabela 7) mostraram boa eficiência de dissolução, com valores de Q em 30 minutos acima de 85%, podendo ser sugeridas como opções de formulações.

Para dapsona na dosagem de 50 mg, os critérios de escolha foram, o teor satisfatório e o valor de aceitação (VA) dos dois lotes menor que 15, sendo as formulações 1, 9 e 15 (Tabela 7) as sugeridas.

As amostras de dapsona (IFA) recristalizadas, utilizando diversos solventes, apresentaram padrão de difração com predominância da forma III que é a forma comercializada. A forma hidratada (forma IV) foi obtida a partir de novos processos de recristalização e apresentou picos que, de acordo com a literatura, correspondem à forma hidratada, porém com contaminação da forma III.

As formas cristalinas obtidas foram caracterizadas por técnicas instrumentais como difração de raios X, análise térmica e infravermelho confirmando as formas relatadas na literatura para dapsona.

A validação analítica para quantificação do fármaco no estudo de solubilidade mostrou seletividade, linearidade, precisão e exatidão.

A solubilidade das amostras recristalizadas realizada nas diversas condições de pH mostrou que houve maior solubilidade para dapsona forma III em relação ao hidrato (forma IV) e, pela análise de variância ao nível de significância de 0,05, foi possível confirmar que a forma III se mostrou mais solúvel em HCl, tampão acetato, tampão fosfato e água em relação ao hidrato no tempo necessário para atingir o equilíbrio.

Assim, os resultados apresentados neste estudo mostraram a importância do polimorfismo numa forma sólida menos solúvel, podendo acarretar alterações nas propriedades físico-químicas do fármaco e na sua biodisponibilidade.

7 REFERÊNCIAS

ABEELE, V. D. J. et al. Gastrointestinal behavior of weakly acidic BCS Class II drugs in man—case study of diclofenac potassium. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, Issue 2, p. 687 – 696, Jan. 2016.

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, Mar. 1995.

ANDRICOPULO, A. D. **Métodos em química medicinal**. 2019. Disponível em: <http://www.gradadm.ifsc.usp.br/dados/20122/FFI0763-1/Modulo_20_1.pdf>. Acesso em 20 fev. 2019.

ÂNGELO, M. L. **Análise químico-farmacêutica de rosuvastatina cálcica comprimido e cápsula**. 2016. 170f. Tese (Doutorado Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JUNIOR, L.V. **Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. 9. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2011.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2005.

BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubilty advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Cryst. Growth Des.**, v.11, p. 2662- 2679, 2011.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 608 p.

BARBIN, D. **Planejamento e análise estatística de experimentos agrônômicos**. 2. ed. Londrina: Editora Mecenaz, 2013. 214p.

BAUM, S. et al. Efficacy of Dapsone in the Treatment of Pemphigus Vulgaris: A Single-Center Case Study. **Dermatology**, v. 232, n. 5, p. 578 – 585, oct. 2016.

BENETTI, V.M. **Comparação entre dois métodos manuais de obtenção de cápsulas rígidas de gelatina**. 2010. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26836/000758697.pdf?sequence=1>> Acesso em: 06 maio 2017.

BERGSTRÖM, C. A. S. et al. Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 224–231, june 2014.

BERTOLLO, G. M. **O processo magistral em farmácias do estado do Espírito Santo**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

BONFILIO, R. et al. Multivariate Development and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for the Determination of Glimepride in Tablets. **Journal of AOAC International**. v. 96, n. 5, p. 960-967, 2013.

BRANDÃO, A. L. A. **Revista Racine**: Influência do polimorfismo na farmacocinética do setor magistral. v. 91. 2006.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166/2017, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Brasília, 2017.

BRASIL. Resolução RE nº 901, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "**Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI)**". Diário Oficial da União, Brasília, de 02 de jun. de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Subsídios à discussão sobre a proposta de regulamentação para farmácias magistrais. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.39, n.4, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO - RDC Nº 87, DE 21 DE NOVEMBRO DE 2008. **Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias**. Diário Oficial da União, Brasília, nº 228, Seção 1, p. 58-59 de 24 de novembro de 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO - RDC Nº 31, DE 11 DE AGOSTO DE 2010. **Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo**. Diário Oficial da União, Brasília, nº 154, Seção 1, p. 36-38 de 12 de agosto de 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº37, de 3 de agosto de 2011. “**Dispõe sobre o guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências**”. Diário Oficial da União, Brasília, 2 de agosto de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº. 67, de 8 de outubro de 2007. **Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humanos em Farmácias**. Diário Oficial da União, Brasília, 9 de outubro 2007.

BRITISH PHARMACOPEIA. British Pharmacopoeia Commission. London: The Stationery Office, 2017. v. 1, v. 3.

BRITAIN, H.G. Polymorphism and Solvatomorphism. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 99, n. 9, 2010.

BRITTES, J.M.; MOREIRA, A.C. Estudo de diferentes processos de mistura de pós-usados para o preparo de cápsulas em farmácias magistrais. **Rev. Contexto & Saúde**, v. 5, n. 10, p. 47-53, jan./jun. 2006.

CHAVES, L. L. et al. Rational and precise development of amorphous polymeric systems with dapsona by response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 662 – 671, aug. 2015.

CULEN, M. et al. Designing a dynamic dissolution method: a review of instrumental options and corresponding physiology of stomach and small intestine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 9, p. 2995-3017, sept. 2013.

DUCONSEILLE, A. et al. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 360-376, jan. 2015.

DUQUE, M. D. et al. Optimization of primaquine diphosphate tablet formulation for controlled drug release using the mixture experimental design. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 18, n. 5, p. 1247-1254, sept./oct. 2013.

DUTRA, V. C. **Manipulação de cápsulas**. Rio de Janeiro: REDETEC, 2012.

DRUGBANK. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00250>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2019.

EMA. Quality Guidelines. ICH Topic Q6A: **Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances (including Decision Trees)**, 2006. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002823.pdf. Acesso em: 12 julho 2018.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. 6. ed. Strasbourg: EDQM, vol 2, 2008.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. v. 1.

FARMACOPEIA PORTUGUESA. 7. ed. Lisboa: INFARMED – Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento, 2002. v. 1.

FERREIRA, A.O. **O guia prático de farmácia magistral**, São Paulo: Pharmabooks, 3. ed, 2008.

FERREIRA, A. O. **Desenvolvimento magistral de cápsulas gelatinosas duras de liberação entérica**, Rio de Janeiro: Ed. UFRJ/FF, 2006.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Guidance for industry: ANDAs: **pharmaceutical solid polymorphism - chemistry, manufacturing and controls information**. Rockville, 2017.

FUJIOKA, Y. et al. Evaluation of in vivo dissolution behavior and GI transit of griseofulvin, a BCS class II drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 352, Issues 1–2, p. 36-43, mar. 2008.

GALRÃO L. et al. Eficácia da dapsona em dois casos de dermatomiosite amiopática. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, n. 2, p. 181-182, mar. 2006.

GAO, Y. et al. Dissolution Kinetics of a BCS Class II Active Pharmaceutical Ingredient. **Organic Process Research & Development**, v. 22, n. 3, p. 328 – 336, feb. 2018.

GASPAROTTO, F. S., **Fatores relacionados à síntese de matérias-primas que podem alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

GNIADO, K. et al. The influence of co-formers on the dissolution rates of co-amorphous sulfamerazine/excipient systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 504, n. 1 – 2, p. 20 – 26, mar. 2016.

GOMES, T. A. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 239-249, 2015.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

GREBOGI, I. H. et al. Binary and ternary inclusion complexes of dapsona in cyclodextrins and polymers: Preparation, characterization and evaluation. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 73, p. 467 -474, 2012.

HILFIKER, R. **Polymorphism in the pharmaceutical industry**. Weinheim: WILEY-VHS, 2006.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**, DOQ-CGCRE-008 de fevereiro de 2010, 2010. Revisão.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH) **Validation of Analytical procedures: Text and Methodology**, Geneva, 2005.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, ISO/IEC 17025, 1999.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KUHNERT-BRANDSTÄTTER, M., MOSER, I. Zur Polymorphie von dapsonundethambutol dihydrochlorid. **Microchimica Acta**, v. 71, n. 1, p. 125-136, 1979.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário terapêutico Guanabara** 21. ed.. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2014/2015.

LEE, K. H. et al. Dapsone as a potential treatment option for Henoch-Schönlein Purpura (HSP). **Medical Hypotheses**, v. 108, p. 42 – 45, july. 2017.

LEMMER, H. **Thermal kinetics and crystal structure of dapsone polymorphs and solvates**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade de North-West, Potchefstroom, África do Sul, 2012a.

LEMMER, H. et al. Solvatomorphism of the Antibacterial Dapsone: X-ray Structures and Thermal Desolvation Kinetics. **Crystal Growth & Design**, v. 12, n. 3, p. 1683-1692, feb. 2012b.

LINDENBERG, M.; KOPP, S; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 265-278, apr. 2004.

MACHADO, T.C. et al. Influência de excipientes na manipulação de cápsulas de furosemida. **Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 27-39, 2012.

MACHADO S. et al. Chromatographic method for the simultaneous quantification of dapsone and clofazimine in nanoformulations. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 17, p. 3382–3388, sept. 2018.

MARTINELLO, T. et al. Optimization of poorly compactable drug tablets manufactured by direct compression using the mixture experimental design. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 322, Issues 1-2, p. 87-95, sept. 2006.

MEHTA, M. U. et al. Impact of the US FDA “Biopharmaceutics Classification System” (BCS) Guidance on Global Drug Development. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, p. 4334 – 4338, oct. 2017.

NWOKEOJI et al. Accurate Quantification of Nucleic Acids Using Hypochromicity Measurements in Conjunction with UV Spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, 89, p. 13567–13574, nov. 2017.

OLIVEIRA, F.R. et al. Clinical Applications and Methemoglobinemia Induced by Dapsone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1770-1779, oct. 2014.

O’NEIL, M. J. **The index merck. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. 15 ed. Cambridge: RSCPublishing, 2013.

PALUDETTI, L.A. “**Quero ser cápsula**”. 2010. Disponível em: <<http://www.crfms.org.br/noticias/877/artigo-quero-ser-capsula>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

PATEL, P. et al. Drug-Excipient compatibility studies: First step for dosage form development. **The Pharma Innovation Journal**, v. 4, n. 5, p. 14-20, 2015.

PETRY, R.D. et al. Influência de adjuvantes e técnica de enchimento sobre as características farmacêuticas de cápsulas de gelatina dura contendo teofilina. **Caderno de Farmácia**, Porto Alegre, v. 14, n. 1/2, p. 13-19, 1998. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/19355>>. Acesso em 06 de maio de 2017.

PINHEIRO, G. M. **Determinação e avaliação de indicadores da qualidade em farmácia magistral: preparação de cápsulas gelatinosas duras**. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008a.

PINHEIRO, G. M. et al. Indicadores para controle de processo na manipulação de cápsulas em farmácia. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 1, p. 28-31, 2008b.

PIRES JS, Ue APF, FURLANI WJ, SOUZA PK, Rotta O. Dapsona como alternativa no tratamento de urticária crônica não responsiva a anti-histamínicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 5, p. 413-418, set./out. 2008.

PRISTA, L.N., ALVES, A.C., MORGADO, R.M.R. **Tecnologia farmacêutica**. 6. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.1. 2002.

SACCONE, C.D. et al. Statistical Properties of the Dissolution Test of USP. **Dissolution Technologies**, v. 11, n. 3, p. 25-28, aug. 2004.

SAGO, J.; HALL, R. P. Dapsone. **Dermatologic Therapy**, v. 15, Issue 4, p. 340–351, 2002.

SALAMA, N.N.E.A. et al. Validated TLC and HPLC Stability-Indicating Methods for the Quantitative Determination of Dapsone. **Journal of Planar Chromatography**. V. 25, p. 65-71, 2012.

SANTOS, L., GUTERRES, S. S., BERGOLD, A. M. Preparação e Avaliação de Cápsulas Gastroresistentes de Diclofenaco de Sódio. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 355-61, 2007.

SILVA, J. A. **Dissolução de comprimidos: estudos comparativos de apresentações genéricas contendo diazepam**. 2013. 53f. (Trabalho de Conclusão de Curso) - Pós-Graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas- Instituto de tecnologias de fármacos-Farmanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2013.

SILVA, R.F.; PIMENTA, P.S.; FUTURO, D.O. **Utilização de ferramentas de análise e controle de processo no desenvolvimento e produção de cápsulas em farmácias de manipulação**. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 28., 2008, Rio de Janeiro, **Anais...** Rio de Janeiro: ABEPRO, 2008.

STICHERLING, M. et al. An open, multicentre, randomized clinical study in patients with bullous pemphigoid comparing methylprednisolone and azathioprine with methylprednisolone and dapsone. **British Journal of Dermatology**, v. 177, p. 1299 – 1305, oct. 2017.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 40. ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2017.

WOHLRAB, J.; MICHAEL, J. Dapsone for topical use in extemporaneous preparations. **Journal of the German Society of Dermatology**, v. 16, p. 34 – 40, jan. 2018.

WOZEL, G.; BLASUM, C. Dapsone in dermatology and beyond. **Archives of Dermatological Research**, v. 306, n. 2, p. 103-124, mar. 2014

WU, C. Y.; BENET, L. Z. Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 1, p. 11-23, jan. 2005.

YANG, N. et al. Protective effect of dapsone on cognitive impairment induced by propofol involves hippocampal autophagy. **Neuroscience Letters**, v. 649, p. 85-92, may 2017.

8 APÊNDICES

Apêndice A

Proposta de Formulação

Dapsona 50 mg

FORMA FARMACÊUTICA
Cápsula.

Excipiente 1

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Lactose Monohidratada	98,9 %

Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Celulose Microcristalina	98,9 %

Excipiente 3

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	2,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,5 %
Celulose microcristalina	97,5 %

FÓRMULA 1

Componentes	Quantidade
Dapsona	50,0 mg
Excipiente 1	127,0 mg
Tempo de mistura	5 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.

FÓRMULA 2

Componentes	Quantidade
Dapsona	50,0 mg
Excipiente 2	73,7 mg
Tempo de mistura	2 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.

FÓRMULA 3

Componentes	Quantidade
Dapsona	50,0 mg
Excipiente 3	73,7 mg
Tempo de mistura	2 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.

ORIENTAÇÕES DE PREPARO

Realizar pesagem individual dos componentes da fórmula a ser manipulada em balança. Homogeneizar por progressão geométrica em gral e pistilo os componentes em pó. Tamisar a mistura final em tamis número 125 (115 µm) e encapsular em cápsula número 4.

*Nota:

*Densidade do fármaco: 0,879 g/mL (compactado).

*Densidade do placebo com lactose: 0,907 g/mL (compactado).

*Densidade do placebo com celulose: 0,526 g/mL (compactado).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar em recipiente opaco adicionado de cápsula de sílica, fechado, ao abrigo da luz e da umidade e à temperatura ambiente.

ADVERTÊNCIAS

Suspender o uso se houver mudança de aspecto ou odor. Manter fora do alcance de crianças.

INDICAÇÕES

Para tratamento de hanseníase e outras doenças dermatológicas.

MODO DE USAR

Uso interno.

A critério médico.

Apêndice B
Proposta de Formulação

Dapsona 100 mg

FORMA FARMACÊUTICA
Cápsula.

Excipiente 1

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,5 %
Lactose Monohidratada	98,5 %

Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Celulose Microcristalina	98,9 %

Excipiente 3

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	2,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Celulose microcristalina	97,9 %

FÓRMULA 1

Componentes	Quantidade
Dapsona	100,0 mg
Excipiente 1	81,7 mg
Tempo de mistura	5 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.

FÓRMULA 2

Componentes	Quantidade
Dapsona	100,0 mg
Excipiente 2	47,4 mg
Tempo de mistura	5 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.,

FÓRMULA 3

Componentes	Quantidade
Dapsona	100,0 mg
Excipiente 3	47,4 mg
Tempo de mistura	2 minutos

*Quantidade por cápsula número 4.

ORIENTAÇÕES DE PREPARO

Realizar pesagem individual dos componentes da fórmula a ser manipulada em balança. Homogeneizar por progressão geométrica em gral e pistilo os componentes em pó. Tamisar a mistura final em tamis número 125 (115 µm) e encapsular em cápsula número 4.

***Nota:**

*Densidade do fármaco: 0,879 g/mL (compactado).

*Densidade do placebo com lactose: 0,907 g/mL (compactado).

*Densidade do placebo com celulose: 0,526 g/mL (compactado).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar em recipiente opaco adicionado de cápsula de sílica, fechado, ao abrigo da luz e da umidade e à temperatura ambiente.

ADVERTÊNCIAS

Suspender o uso se houver mudança de aspecto ou odor. Manter fora do alcance de crianças.

INDICAÇÕES

Para tratamento de hanseníase e outras doenças dermatológicas.

MODO DE USAR

Uso interno.

A critério médico.

Apêndice C

Proposta de monografia analítica

DAPSONA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 92,5 % e, no máximo, 107,5 % da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*, utilizando como solvente etanol (50%) e água (50%).

Solução (1): Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 5 mg de dapsona e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 5 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 5 µg/mL.

Solução (2): Pesar 5 mg de dapsona padrão e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 5 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 5 µg/mL.

Procedimento: Efetuar a varredura espectral na faixa de 200 a 400 nm. O espectro de absorção obtido com a *solução (1)* deve ser semelhante ao obtido com a *solução (2)*, apresentando máximo de absorvância em 291 nm.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6).

Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: ácido clorídrico 2% (1000 mL)

Aparelhagem: cesta, 50 rpm

Tempo: 30 minutos

Procedimento:

Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14). Imediatamente após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Diluir o filtrado para concentração de 20 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando ácido clorídrico 2% como solvente. Efetuar a leitura das absorvâncias das soluções

padrão e amostra a 290 nm. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

Tolerância: não menos que 85% ($Q=85\%$) da quantidade declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ se dissolvem em 30 minutos.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14), utilizando como solvente etanol (50%) e água.

Solução (1): Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 5 mg de dapsona e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 5 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar.

Diluir o filtrado para a concentração final de 5 $\mu\text{g/mL}$.

Solução (2): Pesar 5 mg de dapsona padrão e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar cerca de 80 mL de solvente, levar ao ultrassom por 5 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar. Diluir o filtrado para a concentração final de 5 $\mu\text{g/mL}$.

Procedimento: Efetuar a leitura das absorvâncias das soluções padrão e amostra a 291 nm. Calcular a quantidade de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.