

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2018.10.04	(73) Titular(es): HOVIONE FARMACIENCIA SA SETE CASAS 2674-506 LOURES	PT
(30) Prioridade(s):		
(43) Data de publicação do pedido: 2020.07.24	(72) Inventor(es): RAFAEL ANTUNES SUSANA SALDANHA ANTONIO PARREIRA SARA SEQUEIRA	PT PT PT PT
(45) Data e BPI da concessão: 2021.12.06 239/2021	(74) Mandatário:	

(54) Epígrafe: **FORMAS AMORFAS DE AGENTES QUELANTES E SEUS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A UMA NOVA FORMA AMORFA E ESTÁVEL DE AGENTES QUELANTES, PARA COMPOSIÇÕES E OUTROS USOS, BEM COMO AO PROCESSO DE PRODUÇÃO DA MESMA ESPECIALMENTE NA FORMA DE PARTÍCULAS. MAIS ESPECIFICAMENTE, ESTA INVENÇÃO REFERE-SE A UM PROCESSO DE PRODUÇÃO DE AGENTES QUELANTES ESSENCIALMENTE AMORFOS ATRAVÉS DA DISSOLUÇÃO DOS MESMOS NUM SOLVENTE ADEQUADO OU NUMA MISTURA DE SOLVENTES, OPCIONALMENTE PURIFICANDO A SOLUÇÃO E ISOLANDO AS PARTÍCULAS DE AGENTE QUELANTE AMORFO ATRAVÉS DA REMOÇÃO DE SOLVENTE, PREFERIVELMENTE POR SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO. ALÉM DISSO, AS PARTÍCULAS AMORFAS PRODUZIDAS DE ACORDO COM O PROCESSO DA PRESENTE INVENÇÃO APRESENTAM CARACTERÍSTICAS VANTAJOSAS NO QUE REFERE À CONSISTÊNCIA ENTRE LOTES E SOLUBILIDADE. ESTES AGENTES PODEM SER UTILIZADOS NA ÁREA FARMACÊUTICA PARTICULARMENTE EM NOVAS FORMULAÇÕES TENDO ESTES EXCIPIENTES NA COMPOSIÇÃO.

Resumo

Formas amorfas de agentes quelantes e seus métodos de preparação

A presente invenção refere-se a uma nova forma amorfa e estável de agentes quelantes, para composições e outros usos, bem como ao processo de produção da mesma especialmente na forma de partículas. Mais especificamente, esta invenção refere-se a um processo de produção de agentes quelantes essencialmente amorfos através da dissolução dos mesmos num solvente adequado ou numa mistura de solventes, opcionalmente purificando a solução e isolando as partículas de agente quelante amorfo através da remoção de solvente, preferivelmente por secagem por atomização. Além disso, as partículas amorfas produzidas de acordo com o processo da presente invenção apresentam características vantajosas no que refere à consistência entre lotes e solubilidade. Estes agentes podem ser utilizados na área farmacêutica particularmente em novas formulações tendo estes excipientes na composição

.

Descrição

Formas amorfas de agentes quelantes e seus métodos de preparação

Antecedentes da invenção

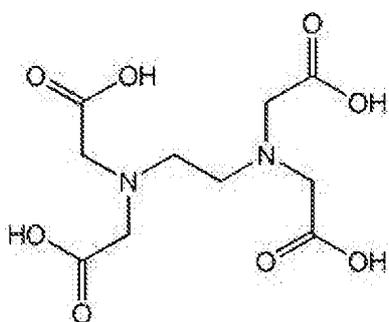
Campo da invenção

A presente invenção refere-se a uma nova forma amorfa e estável de agentes quelantes, para composições e outros usos, bem como ao processo de produção da mesma especialmente na forma de partículas. Mais especificamente, esta invenção refere-se a um processo de produção de agentes quelantes essencialmente amorfos através da dissolução dos mesmos num solvente adequado ou numa mistura de solventes, opcionalmente purificando a solução e isolando as partículas de agente quelante amorfo através da remoção de solvente, preferivelmente por secagem por atomização. Além disso, as partículas amorfas produzidas de acordo com o processo da presente invenção apresentam características vantajosas no que refere à consistência entre lotes e solubilidade. Estes agentes podem ser utilizados na área farmacêutica particularmente em novas formulações tendo estes excipientes na composição.

Descrição do estado da técnica

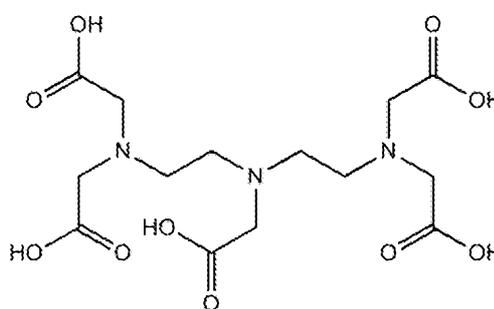
Agentes quelantes são compostos químicos com estruturas que permitem a ligação de dois ou mais dos seus átomos dadores (ou locais) a um ião metálico (Flora et al. 2015). Estas moléculas são também chamadas agentes sequestrantes. Alguns exemplos de agentes quelantes são o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), edetato de sódio (Na-EDTA), edetato di-sódio (2Na-EDTA), edetato cálcio di-sódio (2NaCa-EDTA), edetato tri-sódio (3Na-EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético / ácido pentético (DTPA), ácido dietilenotriaminopentacético cálcio tri-sódio

(3NaCaDTPA), ácido nitriloacético (NTA), ácido amino tris(metilenofosfórico) (ATMP), ácido fosfórico etilenodiamino tetrametileno (EDDS), ácido iminodisuccínico (IDS), quitosano, ácido hidroxâmico, ácido oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico, ácido fítico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido málico ou maltol. Alguns dos agentes quelantes mais utilizados são EDTA, 2Na-EDTA, 2NaCa-EDTA e DTPA. As estruturas moleculares estão apresentadas em baixo.



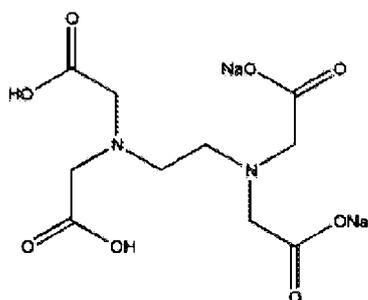
EDTA

Estrutura I



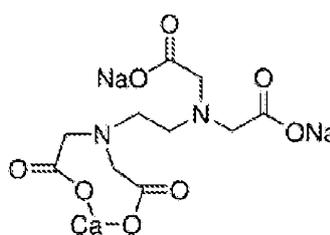
DTPA

Estrutura II



2Na-EDTA

Estrutura III



2NaCa -EDTA

Estrutura IV

Os agentes quelantes são utilizados não só em aplicações industriais e na agricultura, por exemplo em tratamento químico de águas, fertilizantes, produção de papel e tecidos, operações de limpeza e lavanderia,

prevenção/inibição do crescimento de microrganismos, descontaminação de solos, tratamento de efluentes, galvanoplastia de metal e outros tratamentos de materiais, curtimento, aditivos de cimento, fotografia, produtos alimentícios e cosméticos. Eles também são utilizados em diversas aplicações médicas como por exemplo terapia quelante para desintoxicar organismos de agentes metálicos tóxicos, convertendo-os em formas inertes, como agentes de contraste em Ressonância Magnética, como quelantes de radioisótopos e em produtos farmacêuticos como excipientes ou adjuvantes de processo.

Na indústria farmacêutica, os agentes quelantes podem ser adicionados a formulações para protegê-las da auto oxidação, estes compostos formam complexos com os iões de metais pesados que normalmente desencadeiam reacções oxidativas (Loftsson 2014) e quelam metais lixiviáveis que surgem dos componentes e materiais utilizados no fabrico, armazenamento e entrega dos fármacos (Zhou et al, 2010). As propriedades quelantes têm uma grande importância no caso dos biofarmacêuticos. Comparando com as moléculas pequenas, as proteínas possuem uma natureza mais instável devido ao elevado impacto das propriedades físico químicas na sua estrutura e conformação. Este aspecto aliado às grandes dimensões destas moléculas levam a diversas interações com lixiviáveis (como os iões metálicos), levando a um aumento do risco de degradação e perda de actividade. O quelante metálico dissódio EDTA (2Na-EDTA) tem sido extensamente utilizado em formulações parenterais. O DTPA também tem sido utilizado em diversos produtos parenterais aprovados (Zhou et al, 2010, FDA Inactive Ingredient Database)

Agentes quelantes como o EDTA e o DTPA são solúveis em água, à temperatura ambiente, apenas em pH básico (cerca de

8). Estas condições extremas podem afectar a estrutura e conformação das proteínas.

Existem diversas técnicas para a produção de formas amorfas e dispersões sólidas amorfas, nomeadamente, mas não limitado a, liofilização, co-precipitação, extrusão e secagem por atomização.

Secagem por atomização é uma técnica de fabrico bastante conhecida e que pode providenciar uma estratégia eficaz no caso de moléculas pouco solúveis em água (Singh e Mooter, 2015).

Um equipamento de secagem por atomização típico compreende uma câmara de secagem, meios de atomização (de forma a atomizar o solvente para a câmara de secagem), uma fonte de gás quente que circula na câmara de secagem para remover o solvente.

A utilização de secagem por atomização em agentes quelantes vem referida em:

U5958866 na qual uma suspensão de agente quelante e um ião sulfato metálico alcalino é seco por secagem por atomização. No entanto, neste caso é o complexo agente quelante-ião que é isolado por secagem por atomização.

US4636336 descreve um processo de fabrico para a redução de efluentes líquidos contendo um agente quelante orgânico aminado. Esta solução é colocada em contacto com uma corrente de gás a uma temperatura acima da temperatura de degradação térmica do agente quelante. O objectivo do processo é reduzir o volume de resíduos radioactivos produzidos e a temperatura do processo tem que ser superior à temperatura de degradação do agente quelante, o que

significa que terá que ser superior a 200°C (mais precisamente 250-400°C), esta temperatura é muito superior à definida na invenção proposta (entre 50 a 100°C).

WO9929656 descreve um método para produção de cristais de sal de tetrasódio de ácido etilenodiaminotetracético (4Na-EDTA) altamente puros. É produzida uma forma cristalina e os cristais podem ser recuperados por secagem por atomização, consumindo solventes orgânicos.

O artigo "Dispersões sólidas de um pró-fármaco de pentaetil ester de ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA)" descreve a incorporação de um pró-fármaco de DTPA numa matriz (dispersão sólida amorfa), por secagem por atomização. No entanto, trata-se de um pró-fármaco de DTPA e a utilização de uma matriz polimérica para o estabilizar (Yang et al., 2014).

Não há referências que descrevam uma forma estável e amorfa de agentes quelantes tais com o EDTA (e respectivos sais) ou DTPA (e respectivos sais), nem um processo para a obtenção de formas amorfas sem o uso de aditivos ou de matrizes de suporte (dispersões sólidas).

Actualmente a solução para a baixa solubilidade em água dos agentes quelantes é a formação de sais. Por exemplo o sal tetrasódio EDTA (4Na-EDTA) é altamente solúvel em água e o disódio EDTA (2Na-EDTA) é lentamente solúvel em água. Quanto maior o grau de protonação (mais grupos carboxilos substituídos), maior a solubilidade. No entanto, um grau de protonação elevado leva a um pH elevado em solução, por exemplo, o pH de 2Na-EDTA em solução está no intervalo 4 a 6, enquanto o do 4Na-EDTA está no intervalo 10 a 11. O pH é crítico para a estabilidade das proteínas e deve-se manter controlado dentro de um valor óptimo (entre 6 e 7)

(Challener, 2015). Consequentemente, é altamente necessário ter um sal menos protonado que tenha uma maior solubilidade e dissolva mais rapidamente em água, do ponto de vista de formulação de biofarmacêuticos.

Breve descrição dos desenhos

Figura 1: ilustra o sistema de secagem por atomização utilizado

Figura 2: representa uma imagem de SEM (Scanning Electronic microscopy) de partículas amorfas de DTPA após secagem por atomização

Figura 3: ilustra um difractograma de XRPD (X-ray powder diffraction) de partículas amorfas de DTPA após secagem por atomização

Figura 4: representa uma imagem de SEM (Scanning Electronic microscopy) de partículas amorfas de EDTA após secagem por atomização

Figura 5: ilustra um difractograma de XRPD (X-ray powder diffraction) de partículas amorfas de EDTA após secagem por atomização

Figura 6: representa uma imagem de SEM (Scanning Electronic microscopy) de partículas amorfas de sal de di-amónio EDTA após secagem por atomização

Figura 7: ilustra um difractograma de XRPD (X-ray powder diffraction) de partículas amorfas de sal de di-amónio EDTA após secagem por atomização

Figura 8: representa uma imagem de SEM (Scanning Electronic microscopy) de partículas amorfas de 2Na-EDTA após secagem por atomização

Figura 9: ilustra um difractograma de XRPD (X-ray powder diffraction) de partículas amorfas de 2Na-EDTA após secagem por atomização

Figura 10: represente um gráfico da taxa de dissolução do 2Na-EDTA cristalino

Figura 11: represente um gráfico da taxa de dissolução do 2Na-EDTA amorfo

Descrição detalhada da invenção

A presente invenção apresenta uma nova forma sólida amorfa de agentes quelantes, tais como o EDTA e DTPA, e o método de preparação destas formas amorfas. Surpreendentemente, foi descoberto que a forma amorfa estável dos agentes quelantes pode ser obtida por um processo simples e industrial compreendendo, por exemplo, secagem por atomização da solução de agente quelante. Utilizando a técnica de secagem por atomização nestas formas amorfas também atingimos um controlo no tamanho de partícula.

Num aspecto desta invenção, agentes quelantes amorfos produzidos são adequados para aplicações farmacêuticas para uso humano e veterinário. Num outro aspecto desta invenção, os agentes quelantes amorfos produzidos são adequados para utilização em formulações biofarmacêuticas bem como formulações farmacêuticas.

Os presentes inventores descobriram agora que uma forma amorfa estável de agentes quelantes numa forma de partículas com tamanho de partícula controlado forneceria uma solução vantajosa devido ao seu perfil de solubilidade modificado. No entanto, agentes quelantes, tais como, mas não limitados a, ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), ácido dietilenotriamina-pentaacético / ácido pentético (DTPA), ácido nitrilotriacético (NTA), amino tris (ácido metileno-fosfónico) (ATMP), etilenodiamina tetrametileno ácido fosfónico (EDTMP), ácido 1-hidroxietano 1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilenodiaminodisuccínico (EDDS), ácido iminodisuccínico (IDS) ácido hidroxâmico, ácido oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico ou

ácido fítico e sais dos mesmos, nunca foram reportados como isolados numa forma amorfa estável.

De acordo com um aspecto da presente invenção, é apresentada uma forma amorfa de agente quelante. A forma amorfa é estável, e pode ser fornecida no estado puro, sem necessidade de adição de outros componentes para aumentar a sua estabilidade.

Preferivelmente, a forma amorfa do agente quelante surge na forma de partícula.

Preferivelmente, o agente quelante compreende ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA) ou um sal deste, ou ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), ou um sal deste, apesar de termos identificado que outros agentes quelantes podem ser apresentados numa forma amorfa.

Preferivelmente, a forma amorfa é obtida por secagem por atomização, no entanto, outras técnicas poderão ser utilizadas. A invenção efectivamente prevê a produção por secagem por atomização da forma amorfa de agentes quelantes. Uma forma amorfa de ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA) ou um sal deste, ou ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), ou um sal deste, são particularmente preferidas.

O agente quelante pode compreender ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), ácido nitrilotriacético (NTA), ácido amino tris(metilenofosfónico) (ATMP), ácido etilenodiamino etrametileno fosfónico (EDTMP), 1-hidroxietano, ácido 1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilenodiaminodisuccínico (EDDS), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido hidroxâmico, ácido

oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico ou ácido fítico, ou um sal de um ou mais dos ácidos mencionados, ou uma mistura de dois ou mais ácidos acima mencionados, ou seus sais. Os inventores descobriram que estes compostos podem ser apresentados na forma amorfa. Preferivelmente são secos por atomização.

Num aspecto, a forma amorfa do agente quelante poderá estar na forma de hidrato, anidrato ou solvato.

Num outro aspecto desta invenção, a forma amorfa dos agentes quelantes mencionada nesta invenção não contém nenhum aditivo, por exemplo, não contém metais ou componentes contendo metais. Os inventores descobriram que, surpreendentemente, os agentes quelantes da presente invenção podem ser produzidos sem a adição de nenhum composto adicional ou aditivo para estabilizar a forma amorfa, e que esta se mantém estável. Esta invenção também prevê o isolamento das formas amorfas dos agentes quelantes, sem aditivos. Esta invenção também prevê o isolamento das formas amorfas, sem metais ou compostos contendo metais, como iões metálicos ou sais metálicos.

Num outro aspecto desta invenção, a forma amorfa dos agentes quelantes mencionada nesta invenção não contém uma matriz de suporte, como, por exemplo, uma matriz polimérica. Os inventores descobriram que, surpreendentemente, os agentes quelantes da presente invenção podem ser produzidos sem a adição de nenhuma matriz de suporte para estabilizar a forma amorfa, e que esta se mantém estável. Esta invenção também prevê o isolamento das formas amorfas dos agentes quelantes, sem uma matriz de suporte, como por exemplo uma matriz polimérica. Esta invenção também prevê o isolamento das

formas amorfas, sem aditivos e sem uma matriz de suporte, como por exemplo uma matriz polimérica.

Num aspecto preferido da invenção, é apresentada uma forma amorfa de um agente quelante em que o agente quelante compreende ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), edetato de sódio (Na-EDTA), edetato dissódio (2Na-EDTA), edetato dispotássio (2K-EDTA), edetato cálcio dissódio (2NaCa-EDTA), edetato trissódio (3K-EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético / ácido pentético (DTPA), pentetato pentassódio, pentetato cálcio trissódio, ou uma mistura de dois ou mais dos anteriores ácidos ou seus sais.

A invenção também fornece uma forma amorfa de um agente quelante como descrito acima, em que a solubilidade em água da forma amorfa é superior à da forma cristalina correspondente. Isto é ilustrado mais abaixo nos Exemplos e é uma vantagem particular dos agentes quelantes amorfos proporcionados pela invenção. Os agentes quelantes amorfos aqui fornecidos também, em geral, possuem uma maior taxa de dissolução em meios aquosos como a água, e esta é uma vantagem adicional.

Num aspecto adicional, a invenção apresenta um processo para preparar uma forma amorfa de um agente quelante, cujo processo compreende as etapas de:

- a) dissolução do agente quelante num solvente adequado;
- b) Purificação opcional da solução;
- c) Isolamento da forma amorfa do agente quelante;
- d) Opcionalmente, pós-secagem ou condicionamento da forma amorfa do agente quelante.

No processo da invenção, qualquer agente quelante adequado pode ser usado, mas agentes quelantes particularmente adequados incluem ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético / ácido

pentético (DTPA), ácido nitrilotriacético (NTA), amino tris (ácido metileno-fosfônico)) (ATMP), ácido etilenodiamina tetrametileno fosfônico (EDTMP), ácido 1-hidroxietano 1,1-difosfônico (HEDP), ácido etilenodiaminodissuccínico (EDDS), ácido iminodissuccínico (IDS), ácido hidroxâmico, ácido oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico ou ácido fítico, ou um sal de qualquer um ou mais dos ácidos acima, ou uma mistura de dois ou mais de qualquer um dos ácidos ou sais acima.

Num aspecto do processo, a forma amorfa de um agente quelante está na forma de um hidrato, um anidrato ou um solvato.

Tal como com os próprios compostos, no processo da invenção a forma amorfa produzida é preferencialmente isenta de aditivos ou de uma matriz de suporte, tal como uma matriz polimérica.

O processo da invenção pode, em particular, ser empregado para fornecer uma forma amorfa de um agente quelante, em que o agente quelante compreende ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), edetato de sódio (Na-EDTA), edetato dissódico (2Na-EDTA), edetato dipotássico (2K-EDTA), edetato dissódico de cálcio (2NaCa-EDTA), edetato trissódico (3Na-EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético / ácido pentético (DTPA), pentetato pentassódico, pentetato trissódico de cálcio ou uma mistura de dois ou mais de qualquer um dos ácidos ou sais acima.

A presente invenção prevê um processo de preparação de agentes quelantes amorfos compreendendo os seguintes passos:

- a) Preparação de uma solução de agente quelante num solvente adequado;
- b) Isolamento da forma amorfa do agente quelante.

A preparação da solução do agente quelante no passo a) compreende a adição do agente quelante cristalino a um solvente adequado. As formas cristalinas dos agentes quelantes podem ser facilmente obtidas, como será claro para os peritos na especialidade .

A temperatura do solvente usada para preparar uma solução do agente quelante é adequadamente de cerca de 20°C a cerca de 60°C. O agente quelante pode ser dissolvido em qualquer solvente adequado, e solventes adequados incluem quaisquer solventes que não tenham efeito adverso no composto e que podem dissolver o material de partida em uma extensão adequada. Exemplos de tais solventes incluem, mas não estão limitados a: água, solução aquosa de hidróxido de sódio, solução aquosa de amónia ou uma mistura de dois ou mais desses solventes. Alternativamente, ou além disso, o solvente pode ser um solvente orgânico e pode compreender, por exemplo, metanol, etanol, isopropanol ou acetona ou uma mistura de dois ou mais desses solventes.

Qualquer concentração de agente quelante apropriada pode ser utilizada, até o limite de solubilidade. No entanto, é preferida uma concentração de solução de cerca de 0,05% a cerca de 10% p / p, idealmente entre 0,5% e 5,0% p / p, em que "% p / p" se refere à massa do agente quelante como uma percentagem da massa da solução total. A concentração a ser empregue será geralmente limitada pela solubilidade do agente quelante no solvente.

O passo a) pode opcionalmente incluir uma etapa de purificação do composto utilizando, por exemplo, uma resina, carvão ativado, filtração ou outro método adequado.

O passo b) envolve o isolamento da forma amorfa do agente quelante da solução obtida no passo a). O isolamento da forma amorfa do agente quelante compreende a remoção do solvente por qualquer técnica conhecida, como secagem por liofilização, secagem a vácuo ou secagem por atomização, preferencialmente por secagem por atomização.

Após o passo b), opcionalmente, pode ser realizado um passo de pós-secagem ou condicionamento.

A secagem por atomização pode ser realizada usando qualquer equipamento adequado ou disponível comercialmente.

Uma variedade de métodos de atomização pode ser usada, dependendo do equipamento escolhido. Por exemplo, foi descoberto pelos inventores que um orifício da lança de atomização pneumático de 1,4 mm é adequado, embora métodos de atomização alternativos, como lanças de dois ou três fluidos, rotativos, de pressão e ultrassônicos possam ser utilizados.

O fluxo preferencial de gás de atomização em termos de litros por hora pode ser ajustado ao equipamento em uso e qualquer fluxo adequado de gás de atomização pode ser utilizado. Normalmente, para uma unidade de pequena escala, é preferível 150 a 300 mililitros por hora. Numa escala industrial, um fluxo diferente pode ser utilizado. Numa forma de realização preferida, o conjunto de lança pode ser refrigerado com um fluido adequado durante a secagem por atomização para minimizar a degradação do produto.

Qualquer temperatura de secagem adequada pode ser utilizada. Num aspecto da invenção, o intervalo de temperatura de saída pode ser de cerca de 20 ° C a cerca de 220 ° C, preferencialmente de cerca de 40 ° C a cerca de 80 ° C e mais preferencialmente de cerca de 50 ° C a cerca de 70 ° C.

Como será entendido, a temperatura de entrada pode ser ajustada para atingir a temperatura de saída desejada.

Qualquer fluxo de solução adequado pode ser usado. Para uma unidade de pequena escala, a taxa de fluxo da solução pode preferencialmente ser de cerca de 1 a cerca de 20 ml / min, mais preferencialmente 2 a 15 ml / min para o lança de 1,4 mm. Para uma escala industrial, o fluxo da solução pode ser ajustado dependendo da lança selecionada.

O caudal do gás de secagem para um secador por atomização de pequena escala pode ser de cerca de 20 kg / h a cerca de 120 kg / h, preferencialmente de cerca de 40 kg / h a cerca de 80 kg / h, mais preferencialmente cerca de 40 kg / h. O fluxo do gás de secagem para um secador por atomização maior pode, por exemplo, ser maior que cerca de 120 kg / h, de preferência de cerca de 360 kg / h a cerca de 1250 kg / h, por exemplo, cerca de 650 kg / h ou cerca de 1250 kg / h.

A temperatura de saída, fluxo de atomização, concentração da solução e fluxo da solução, entre outros parâmetros testados, podem ser combinados e ajustados para obter um composto com qualidade adequada.

Os compostos obtidos utilizando o método desta invenção são sólidos amorfos que mostram estabilidade ao longo do tempo.

Num aspecto preferido, o processo da invenção é realizado de modo que a distribuição do tamanho de partícula do agente quelante amorfo seja controlada. Usando uma técnica de secagem por atomização para evaporação do solvente, podemos ajustar o tamanho da gota e a concentração da solução para obter o tamanho de partícula desejado. O intervalo normalmente definido para este tipo de técnica de secagem é inferior a cerca de 25 μm e superior a 1 μm de distribuição média do tamanho de partícula. Por exemplo, gamas médias de distribuição de tamanho de partícula de 1-20 μm , ou 2-18 μm ou 3-15 μm podem ser utilizadas.

Num aspecto adicional, a invenção apresenta o uso de um agente quelante amorfo de acordo com a invenção aqui descrita, num processo ou composição no campo industrial, agrícola ou doméstico.

Por exemplo, o uso num processo ou composição no campo industrial, agrícola ou doméstico pode compreender: branqueamento de celulose, preservação de alimentos e bebidas, limpeza industrial, detergentes, cimento, cuidados pessoais e cosméticos, fertilizantes, tratamento de água ou remoção de e desativação de iões metálicos em têxteis. Os agentes quelantes amorfos da presente invenção podem ser utilizados de uma forma convencional no campo farmacêutico e biofarmacêutico, de maneira semelhante à que têm vindo a ser utilizados os agentes quelantes convencionais. Assim, num aspecto adicional, a invenção também fornece uma composição farmacêutica ou biofarmacêutica compreendendo:

- a) um ingrediente farmacêutico ativo (API), e
- b) um agente quelante amorfo como aqui divulgado.

Certos aspectos e modalidades específicos da presente invenção serão explicados em mais detalhes com referência aos exemplos seguintes. Os Exemplos 1, 2, 3 e 4 são

apresentados para ilustrar e ajudar no entendimento da invenção, mas não se destinam a, e não devem ser considerados, limitar seu âmbito de forma alguma. As experiências relatadas foram realizadas usando um secador de atomização avançado BUCHI modelo B-290.

Exemplo 1: Produção de DTPA amorfo por secagem por atomização

Preparação da solução de agente quelante (DTPA):

O DTPA, na proporção de massa de 0,5% (p / p), foi dissolvido em água a 40°C e agitado até se obter uma solução límpida.

Isolamento de partículas amorfas do agente quelante (DTPA):

Um secador de atomização à escala de laboratorial (Büchi, modelo B-290), equipado com uma lança de dois fluidos, foi usado para atomizar e secar a solução. Azoto co-corrente foi utilizado para promover a secagem após a atomização. A unidade de secagem por atomização foi operada no modo de ciclo aberto (isto é, sem recirculação do gás de secagem). A Figura 1 mostra esquematicamente a configuração de secagem por atomização utilizada.

Antes de alimentar a solução com a lança, a unidade de secagem por pulverização foi estabilizada com azoto para garantir temperaturas estáveis de entrada (T_{entrada}) e de saída (T_{saida}). Após a estabilização, a solução foi alimentada à lança através de uma bomba peristáltica e atomizada na ponta da lança. As gotículas foram então secas na câmara de secagem por atomização com azoto corrente. A corrente contendo as partículas secas foi direcionada para um ciclone e recolhida no fundo. Os principais parâmetros operacionais durante o processo de secagem por atomização estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1 - Resumo das condições de operação

Solução DTPA		
DTPA	2,8	g
Água	550	ml
parametros secagem por atomização		
T_entrada	97	°C
T_saida	60	°C
F_secagem (N2)	40	kg/h
Nivel rotametro	40	mm

O composto obtido utilizando o método desta invenção é um sólido amorfo com maior solubilidade e maior velocidade de dissolução (em meio aquoso) em comparação com a forma cristalina correspondente. Vários testes confirmam a sua forma amorfa, como difração de raios X em pó (XRPD) ou calorimetria de varrimento diferencial (DSC).

A aparência do material atomizado foi caracterizada através de microscopia eletrônica de varrimento (SEM). Uma imagem representativa das partículas obtidas encontra-se na figura 2.

O padrão de difração de raios X do pó de DTPA obtido por secagem por atomização de acordo com o processo aqui divulgado é apresentado na figura 3. As configurações do método XRPD aplicadas para analisar a amostra são apresentadas na tabela abaixo:

Tabela 2 Configurações

Configurações	
Movimentação da amostra:	Rotação
Tempo de rotação:	1.000 s ⁻¹
Percurso do Feixe incidente	
Modulo PreFIX:	Programa: Fenda divergente com fenda anti difração
Fenda de Soller :	0.04 rad
Máscara do feixe incidente:	15 mm
Fenda divergente	Programável
Fenda anti difração:	Fenda de 1/4°
Filtro:	Não
Atenuador de feixe:	Atual
Faca de ajuste adicional:	Não
Percurso do Feixe Divergente	
Percurso do Feixe Divergente:	Percurso 1
Modulo PreFIX:	PIXcellD-Medipix3 com PASS
Filtro	Beta-filtro grande de Nickel
Fenda de soller	Fenda de soller grande de 0.04 rad
Fenda anti difração:	Fenda anti difração: Programável
Detetor:	PIXcellD-Medipix3
Atenuador de feixe:	Atual
Fenda Recetora:	Não
Parâmetros de medição	
Eixo de Scan:	Gonio
Mode de scan:	Contínuo
Intervalo de medição	Início: 3.9915

O método e a classificação de solubilidade estão descritos na Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.), Capítulo 5.11.

Characters selection in monographs. Este método foi utilizado nos testes seguintes.

Os resultados do teste de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) apresentados na tabela 3 mostram uma maior solubilidade do DTPA amorfo quando comparado ao DTPA cristalino.

Tabela 3 - Solubilidade do DTPA de acordo com Ph. Eur., a 22°C

Volume (ml)	Grau cristalino industrial	Grau cristalino farmacêutico	Grau amorfo farmacêutico	Classificação Ph. Eur.
0.1	Não	Não	Não	Muito solúvel
1.0	Não	Não	Não	Livremente solúvel
3.0	Não	Não	Não	Solúvel
10.0	Não	Não	Não	Moderadamente solúvel
20.0	Não	Não	Não	Ligeiramente solúvel
30.0	Não	Não	SIM	Muito ligeiramente solúvel
40.0	Não	Não	--	Insolúvel
50.0	Não	Não	--	Insolúvel
60.0	Não	Não	--	Insolúvel
70.0	Não	Não	--	Insolúvel
80.0	SIM	SIM	--	Insolúvel
Massa	100 mg			--

A solubilidade foi avaliada usando o método da Farmacopeia Europeia acima referido, no qual são adicionadas quantidades crescentes de água a 100 mg de pó até à sua

completa dissolução (ou não). De acordo com este método, se 100 mg não solubilizam em 30 ml, o material é considerado insolúvel. No entanto, neste caso, foram adicionadas quantidades crescentes de água após 30 ml, a fim de identificar a solubilidade real do material.

Exemplo 2: Produção de EDTA amorfo por secagem por atomização

Preparação da solução de agente quelante (EDTA):

O EDTA, na proporção de massa de 0,05% (p / p), foi dissolvido em água a 60°C e agitado até obter uma solução límpida.

Isolamento de partículas amorfas do agente quelante (EDTA):

Um secador de atomização em escala de laboratório (Büchi, modelo B-290), equipado com uma lança de dois fluidos, foi usado para atomizar e secar a solução. Azoto co-corrente foi utilizado para promover a secagem após a atomização. A unidade de secagem por atomização foi operada no modo de ciclo aberto (isto é, sem recirculação do gás de secagem). A Figura 1 mostra esquematicamente o conjunto de secagem por pulverização usado.

Antes de alimentar a solução com a lança, a unidade de secagem por atomização foi estabilizada com azoto para garantir temperaturas estáveis de entrada (T_{entrada}) e de saída (T_{saida}). Após a estabilização, a solução foi alimentada à lança utilizando uma bomba peristáltica e atomizada na ponta da lança. As gotículas foram então secas na câmara de secagem por atomização por azoto co-corrente. A corrente contendo as partículas secas foi direcionada para um ciclone e recolhida no fundo. Os principais parâmetros operacionais durante o processo de secagem por atomização estão resumidos na tabela 4.

Tabela 4 - Resumo das principais condições de operação

Solução EDTA		
EDTA	2.3	g
Água	5000	ml
Parâmetros de secagem atomização		
T_entrada	188	°C
T_saida	80	°C
Nível rotâmetro	50	mm

O composto obtido utilizando o método desta invenção é um sólido amorfo com maior solubilidade e maior velocidade de dissolução em comparação com a forma cristalina correspondente. Vários testes confirmam a sua forma amorfa, como difração de raios X em pó (XRPD) ou calorimetria de varrimento diferencial (DSC).

A aparência do material atomizado foi caracterizada por meio de microscopia eletrônica de varrimento (SEM). Imagem que representa as partículas obtidas na figura 4.

O padrão de difração de pó para raios X do EDTA obtido por secagem por atomização de acordo com o processo aqui divulgado é apresentado na figura 5. O método usado para analisar as amostras é descrito no Exemplo 1.

O método e a classificação de solubilidade estão descritos na Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.), Capítulo 5.11.

Characters section in monographs.

Os resultados do teste de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) apresentados na tabela 5 mostram maior solubilidade do EDTA amorfo quando comparado com o EDTA cristalino.

Tabela 5 - Solubilidade do EDTA segundo Ph. Eur., a 22°C

Volume (ml)	Grau cristalino industrial	Grau amorfo farmacêutico	Classificação Ph. Eur.
0.1	Não	Não	Muito solúvel
1.0	Não	Não	Livremente solúvel
3.0	Não	Não	Solúvel
10.0	Não	Não	Moderadamente solúvel
20.0	Não	Não	Ligeiramente solúvel
50.0	Não	Não	Muito ligeiramente solúvel
100.0	Não	Não	Insolúvel
200.0	Não	Não	Insolúvel
250.0	Não	SIM	Insolúvel
300.0	Não	--	Insolúvel
500.0	Não*	--	Insolúvel

*De acordo com a bibliografia a solubilidade em água é de 1 em 500

A solubilidade foi testada (com 100 mg de pó) de acordo com o teste da Farmacopeia Europeia, conforme descrito no Exemplo 1.

Exemplo 3: Produção de EDTA diamónia amorfo por secagem por atomização

Preparação da solução de agente quelante (2NH₄-EDTA):

O EDTA, na proporção de massa de 0,5% (p / p), foi dissolvido em água com 0,4% de hidróxido de amónia a 22°C, e agitado até se obter uma solução límpida.

Isolamento de partículas amorfas do agente quelante (2NH4-EDTA):

Um secador de atomização à escala de laboratorial (Büchi, modelo B-290), equipado com uma lança de dois fluidos, foi usado para atomizar e secar a solução. Azoto co-corrente foi utilizado para promover a secagem após a atomização. A unidade de secagem por atomização foi operada no modo de ciclo aberto (isto é, sem recirculação do gás de secagem). A Figura 1 mostra esquematicamente o conjunto de secagem por atomização usado.

Antes de alimentar a solução com à lança, a unidade de secagem por atomização foi estabilizada com azoto para garantir temperaturas estáveis de entrada (T_entrada) e de saída (T_saida). Após a estabilização, a solução foi alimentada à lança através de uma bomba peristáltica e atomizada na ponta da lança. As gotículas foram então secas na câmara de secagem por atomização por azoto co-corrente. A corrente contendo as partículas secas foi direcionada para um ciclone e recolhida no fundo. Os principais parâmetros operacionais durante o processo de secagem por atomização estão resumidos na tabela 6.

Tabela 6 - Resumo das principais condições operacionais

Solução EDTA		
EDTA	2.8	g
Água	550	ml
Hidróxido de amónia (30%w/v)	2.2	ml
Parametros de secagem por atomizaçãp		
T_entrada	97	°C
T_saida	60	°C
F_secagem(N2)	40	kg/h
Nivel rotametro	40	mm

O composto obtido utilizando o método desta invenção é um sólido amorfo com maior solubilidade e maior velocidade de dissolução em comparação com a forma cristalina correspondente. Vários testes confirmam a sua forma amorfa, como difração de raios X em pó (XRPD) ou calorimetria de varrimento diferencial (DSC).

A aparência do material atomizado foi caracterizada através de microscopia eletrónica de varrimento (SEM). Imagem que representa as partículas obtidas na figura 6.

O padrão de difração de raios X para o pó de EDTA de diamónia obtido por secagem por atomização de acordo com o processo aqui divulgado é apresentado na figura 7. O método usado para analisar as amostras é descrito no Exemplo 1. O método e a classificação de solubilidade estão descritos na Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.), Capítulo 5.11.

Characters section in monographs.

Os resultados do teste de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) apresentados na tabela 7 mostram maior solubilidade do EDTA amorfo obtido quando comparado com o EDTA cristalino.

Tabela 7 - Solubilidade do EDTA segundo Ph. Eur., a 22°C

Volume (ml)	Grau reagente cristalino	Grau amorfo farmacêutico	Classificação Ph. Eur.
0.1	Não	Não	Muito solúvel
1.0	Não	Não	Livremente solúvel
3.0	Não	Não	Solúvel
10.0	Não	SIM	Moderadamente solúvel
20.0	Não	--	Ligeiramente solúvel
30.0	Não	--	Muito ligeiramente solúvel
40.0	Não	--	Insolúvel
50.0	Não	--	Insolúvel
60.0	Não	--	Insolúvel
70.0	Não	--	Insolúvel
80.0	Não	--	Insolúvel
90.0	Não	--	Insolúvel
100.0	Não	--	Insolúvel

*De acordo com a bibliografia a solubilidade é água é 1 para 500

A solubilidade foi testada (com 100 mg de pó) de acordo com o teste da Farmacopeia Europeia, conforme descrito no Exemplo 1.

Exemplo 4: Produção amorfa de 2Na-EDTA por secagem por atomização

Preparação da solução de agente quelante (2Na-EDTA):

2Na-EDTA em uma proporção de massa de 0,7% (p / p), foi dissolvido em água a 22°C e agitado até obtenção de uma solução límpida.

Isolamento de partículas amorfas do agente quelante (2Na-EDTA):

Um secador de atomização à escala laboratorial (Büchi, modelo B-290), equipado com uma lança de dois fluidos, foi usado para atomizar e secar a solução. Azoto co-corrente foi utilizado para promover a secagem após a atomização. A unidade de secagem por atomização foi operada no modo de ciclo aberto (isto é, sem recirculação do gás de secagem). A Figura 1 descreve esquematicamente a configuração de secagem por atomização usada.

Antes de alimentar a solução com a lança, a unidade de secagem por atomização foi estabilizada com azoto para garantir temperaturas estáveis de entrada (T_{entrada}) e de saída (T_{saida}). Após a estabilização, a solução foi alimentada pela lança através de uma bomba peristáltica e atomizada na ponta da lança. As gotículas foram então secas na câmara de secagem por atomização por azoto co-corrente. A corrente contendo as partículas secas foi direcionada para um ciclone e recolhida no fundo. Os principais parâmetros operacionais durante o processo de secagem por pulverização estão resumidos na tabela 8.

Tabela 8 - Resumo das principais condições operacionais

Solução 2Na-EDTA		
EDTA-2Na	2.8	g
Água	400	ml
Parâmetros de secagem por atomização		
T_entrada	101	°C
T_saida	70	°C
F_secagem (N2)	40	kg/h
Nível do rotâmetro	48	mm

O composto obtido utilizando o método desta invenção é um sólido amorfo com maior solubilidade e maior velocidade de dissolução em comparação com a forma cristalina correspondente. Vários testes confirmam sua forma amorfa, como difração de raios X em pó (XRPD) ou calorimetria de varrimento diferencial (DSC).

A aparência do material atomizado foi caracterizada por meio de microscopia eletrônica de varrimento (SEM). Imagem representativa das partículas obtidas na figura 8.

O padrão de difração de pó de raios X de 2Na-EDTA obtido por secagem por atomização de acordo com o processo aqui divulgado é apresentado na figura 9. O método utilizado para analisar as amostras é descrito no Exemplo 1.

O método e a classificação de solubilidade estão descritos na Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.), Capítulo 5.11.

Characters section in monographs.

Os resultados do teste de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) apresentados na tabela 9 mostram a solubilidade de 2Na-EDTA amorfo e 2Na-EDTA cristalino.

Tabela 9 - Solubilidade de 2Na-EDTA de acordo com Ph. Eur., a 22°C

Volume (ml)	Grau reagente cristalino	Grau farmacêutico amorfo	Classificação Ph. Eur.
0.1	Não	Não	Muito solúvel
1.0	Não	Não	Livremente solúvel
3.0	SIM	SIM	Solúvel

Como as duas formas morfológicas são solúveis, a velocidade de dissolução foi avaliada. O tempo de dissolução para dissolver 250 mg de cada forma em 5 ml de água foi avaliado e os resultados estão apresentados na tabela 10. O teste foi realizado com o equipamento Crystalline®. Este equipamento lê a transmitância de um líquido: transmitâncias de 100% significam que existe uma solução e que o pó está completamente dissolvido. O pó foi adicionado ao recipiente cheio de água (concentração de 0,5% p / p) no equipamento e o tempo para atingir uma transmitância de 100% foi medido. Os resultados das formas cristalina e amorfa são apresentados nas figuras 10 e 11, respectivamente.

Tabela 10 - Taxa de dissolução 2Na-EDTA, a 25°C

	Velocidade de dissolução
2Na-EDTA Grau reagente cristalino	3 min
2Na-EDTA Grau farmacêutico amorfo	1 min

Referências

FLORA, Govinder, MITTAL, Megha, FLORA, Swaran, Medical Countermeasures–Chelation Therapy, Handbook of Arsenic Toxicology, 2015.

LOFTSSON, Thorstein, Degradation Pathways, Drug stability for pharmaceutical scientists, 2014.

ZHOU, Shuxia, Lewis Lavinia, Singh Satish, Metal Leachables in therapeutic biologic products: Origin, Impact and Detection, 2010.

SINGH A, MOOTER Van den, Spray drying formulation of amorphous solid dispersions, 2016.

YANG, Yu-Tsai, DI Pasqua Anthony, Zhang Yong, Sued Katsihiko, Jay Michael, Solid dispersions of the penta-ethyl ester prodrug of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA): formulation design and optimization studies, 2014.

CHALLENGER, Cynthia A., Excipient selection for protein stabilization: The complex task of stabilizing proteins is made more challenging due to the limited number of approved excipients, 2015.

Reivindicações:

1. Uma forma amorfa de um agente quelante, caracterizada pelo facto do agente quelante ser seleccionado de ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), edetato de sódio (Na-EDTA), edetato dissódico (2Na-EDTA), edetato dipotássico (2K- EDTA), edetato dissódico de cálcio (2NaCa-EDTA), edetato trissódico (3Na-EDTA), edatato diamónio ((NH₄)₂-EDTA), ácido dietilenotriaminopentacético / ácido pentético (DTPA), pentetato pentassódico ou pentetato trissódico de cálcio ,ácido nitrilotriacético (NTA), amino tris (ácido metileno-fosfónico) (ATMP), etilenodiamina ácido tetrametileno fosfónico (EDTMP), ácido 1-hidroxietano 1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilenodiaminodisuccínico (EDDS), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido hidroxâmico, ácido oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico ou ácido fítico ou um sal de qualquer um ou mais dos ácidos acima, ou uma mistura de dois ou mais de qualquer um dos ácidos ou respectivos sais.
2. Forma amorfa, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo facto de que a forma amorfa está na forma de hidrato, anidrato ou solvato.
3. Forma amorfa, de acordo com as reivindicações 1 ou 2 , caracterizada pelo facto de que a forma amorfa estar isenta de aditivos ou de uma matriz de suporte.
4. Forma amorfa de um agente quelante, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizada pelo

facto de apresentar um valor de solubilidade em água de acordo com o teste de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Europeia superior ao da forma cristalina correspondente.

5. Processo para preparar uma forma amorfa de um agente quelante de acordo com a reivindicação 1 a 4, caracterizado por compreender as etapas de:
 - a) dissolução do agente quelante num solvente adequado;
 - b) Purificação opcional da solução;
 - c) Isolamento da forma amorfa do agente quelante por remoção de solvente;
 - d) Opcionalmente, pós-secagem ou condicionamento da forma amorfa do agente quelante.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo facto do agente quelante ser seleccionado de ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), ácido etilenodiaminotetracético / ácido edético (EDTA), edetato de sódio (Na-EDTA), edetato dissódico (2Na-EDTA), edetato dipotássico (2K-EDTA), edetato dissódico de cálcio (2NaCa-EDTA), edetato trissódico (3Na-EDTA), edetato diamónio ((NH₄)₂-EDTA) ácido dietilenotriaminopentacético / ácido pentético (DTPA), pentetato pentassódico ou pentetato trissódico de cálcio, ácido nitrilotriacético (NTA), amino tris (ácido metilenofosfónico) (ATMP), etilenodiamina ácido tetrametileno fosfónico (EDTMP), ácido 1-hidroxietano 1,1-difosfónico (HEDP), ácido etilenodiaminodisuccínico (EDDS), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido hidroxâmico, ácido oxálico, ácido galactárico, ácido metafosfórico ou ácido fítico ou um sal de qualquer um ou mais dos ácidos acima, ou uma mistura de dois ou mais de qualquer um dos ácidos ou respectivos sais.

7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 ou 6, caracterizado pelo facto de na etapa b) a solução ser purificada usando uma ou mais resinas, carvão ativado ou por filtração.
8. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7, caracterizado pelo facto de na etapa a) o solvente ser: água, uma solução aquosa de hidróxido de sódio, uma solução aquosa de hidróxido de amónia ou uma mistura de dois ou mais destes solventes.
9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo facto de um solvente orgânico poder ser adicionado, opcionalmente, em que o solvente adicional é um álcool ou acetona.
10. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 9, caracterizado pelo facto de na etapa c) ser utilizada uma técnica de remoção de solvente, como liofilização, secagem a vácuo ou secagem por atomização.
11. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 10, caracterizado pelo facto de ser realizada uma etapa d) de pós-secagem ou condicionamento.
12. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 11, caracterizado pelo facto da distribuição do tamanho de partícula do agente quelante amorfo ser controlada.
13. Composição farmacêutica ou biofarmacêutica, caracterizada pelo facto de compreender:
 - a) um ingrediente farmacêutico ativo, e

b) um agente quelante amorfo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5.

14. Uso de um agente quelante amorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado por ser utilizado num processo ou composição nos campos industrial, agrícola doméstico ou em aplicações médicas.
15. Uso de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo facto do campo compreender: branqueamento de polpa, preservação de alimentos e bebidas, limpeza industrial, detergentes, cimento, cuidados pessoais e cosméticos, fertilizantes, tratamento de água, remoção desativação de iões metálicos em têxteis.
16. Uso de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato da aplicação médica incluir terapia quelante para desintoxicar organismos de agentes metálicos tóxicos, agentes de contraste em Ressonância Magnética, como quelantes de radioisótopos e produtos farmacêuticos como excipientes ou adjuvantes de processo.

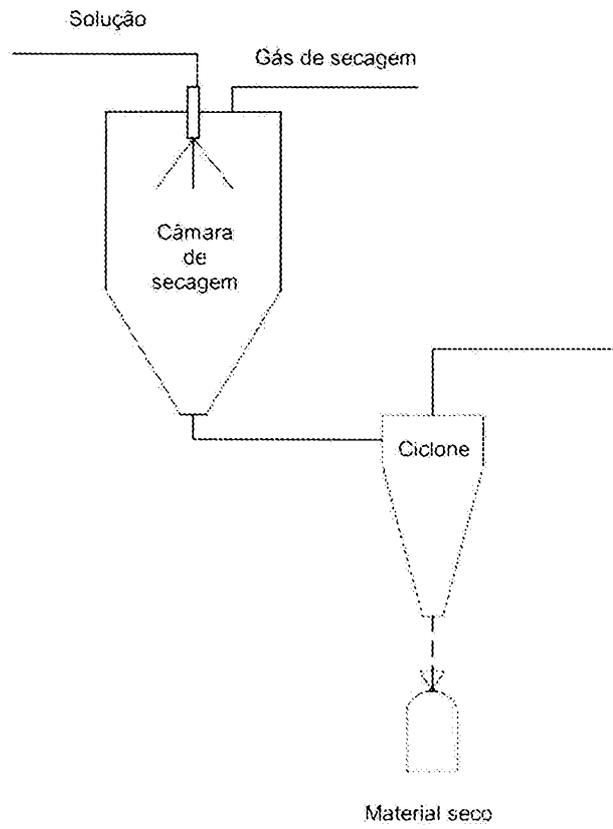


Figura 1

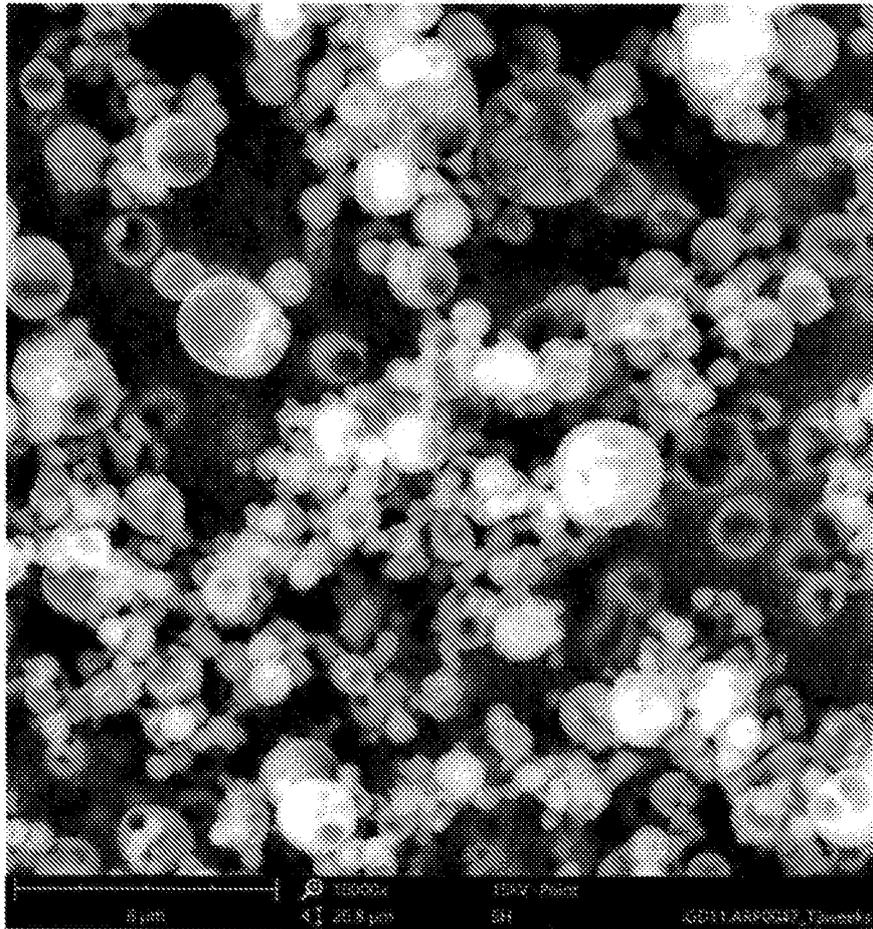


Figura 2

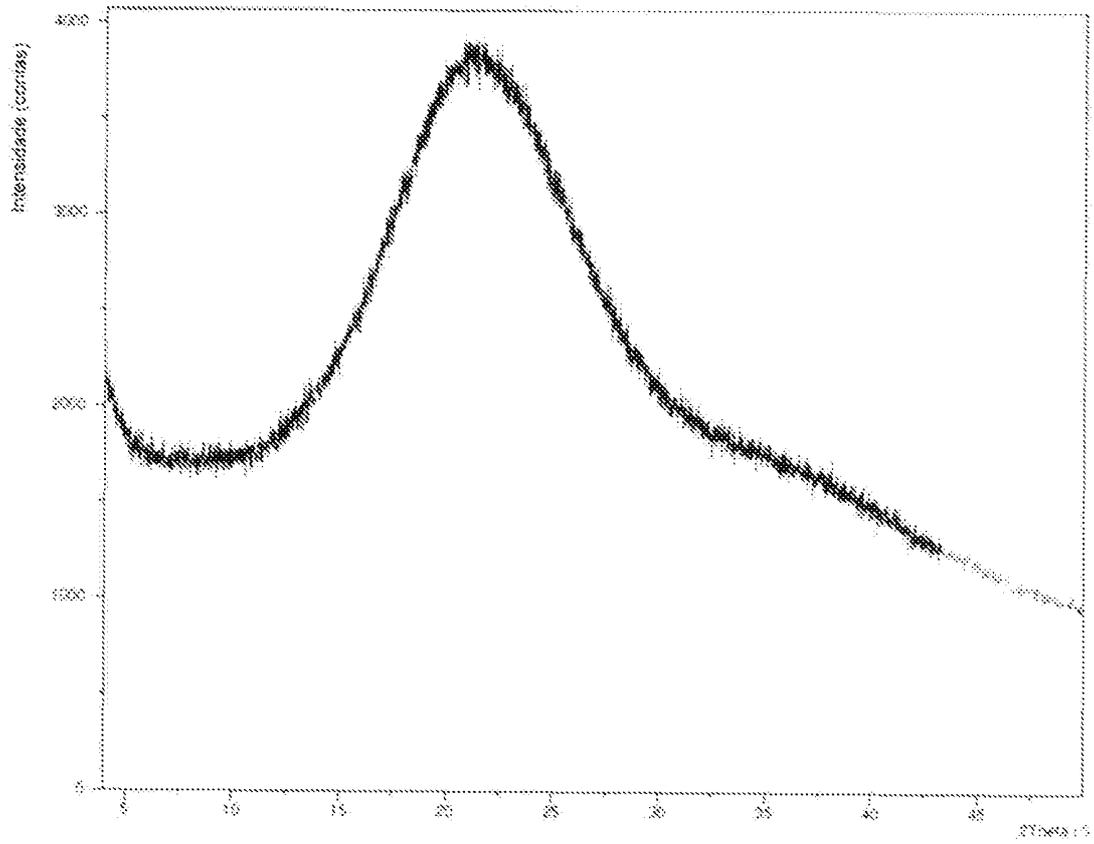


Figura 3

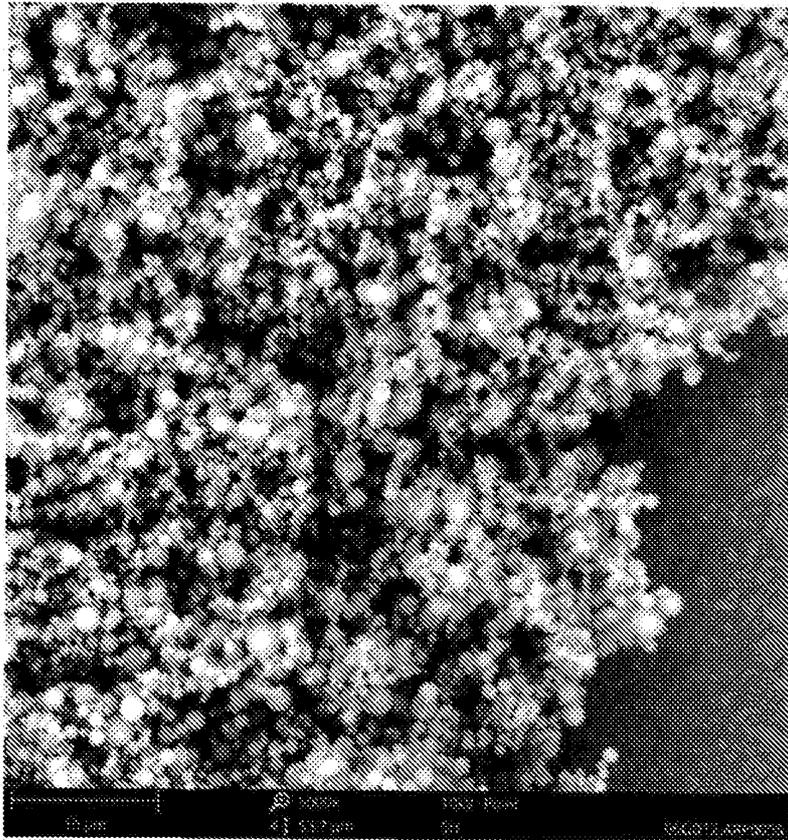


Figura 4

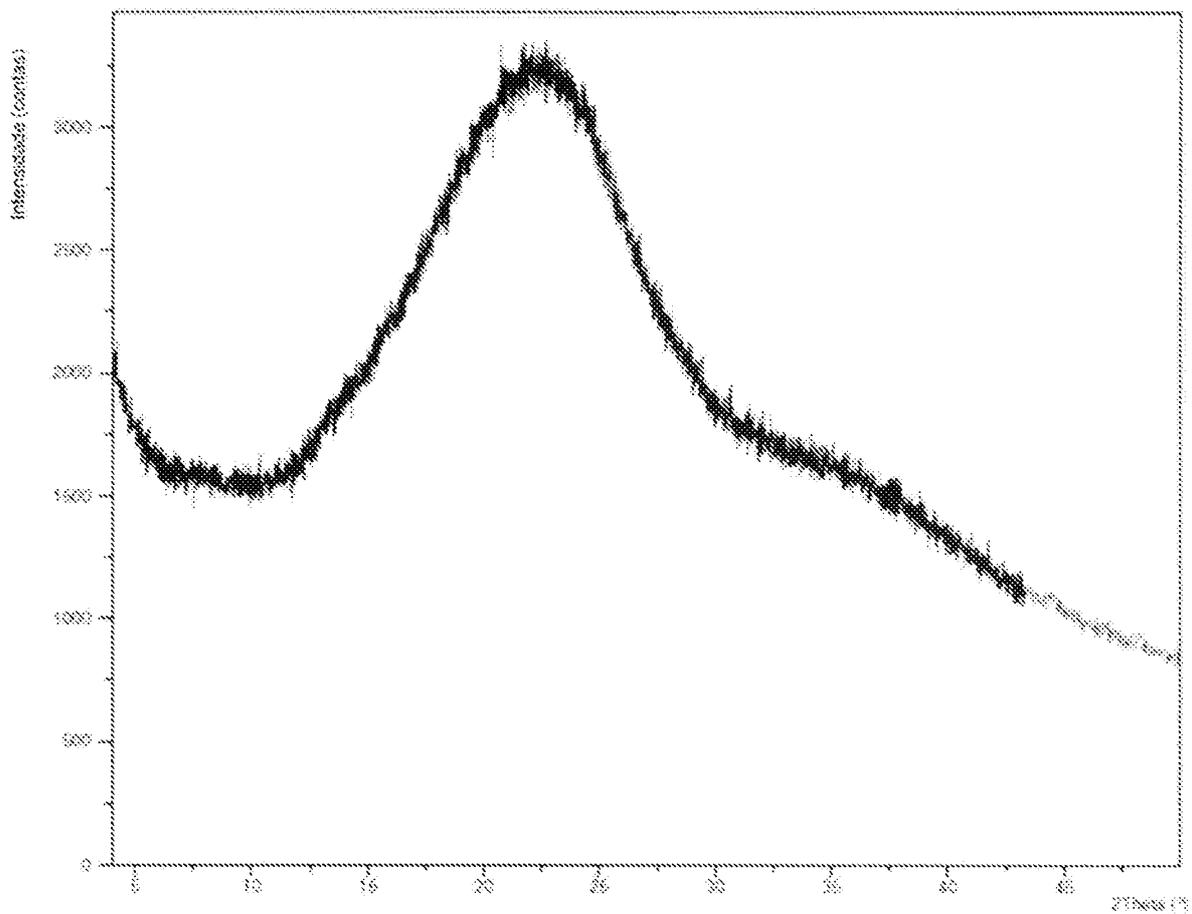


Figura 5

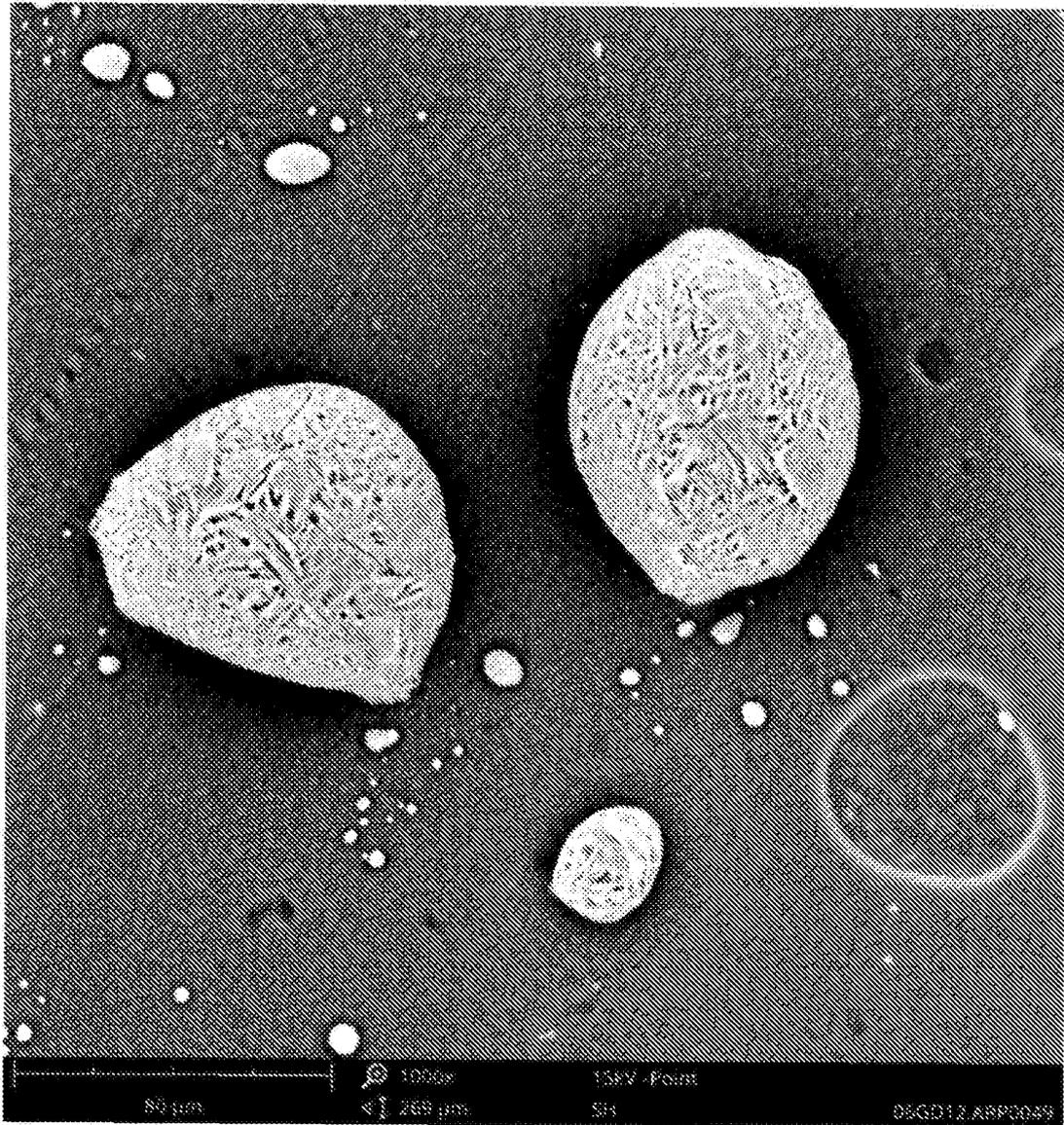


Figura 6

7/11

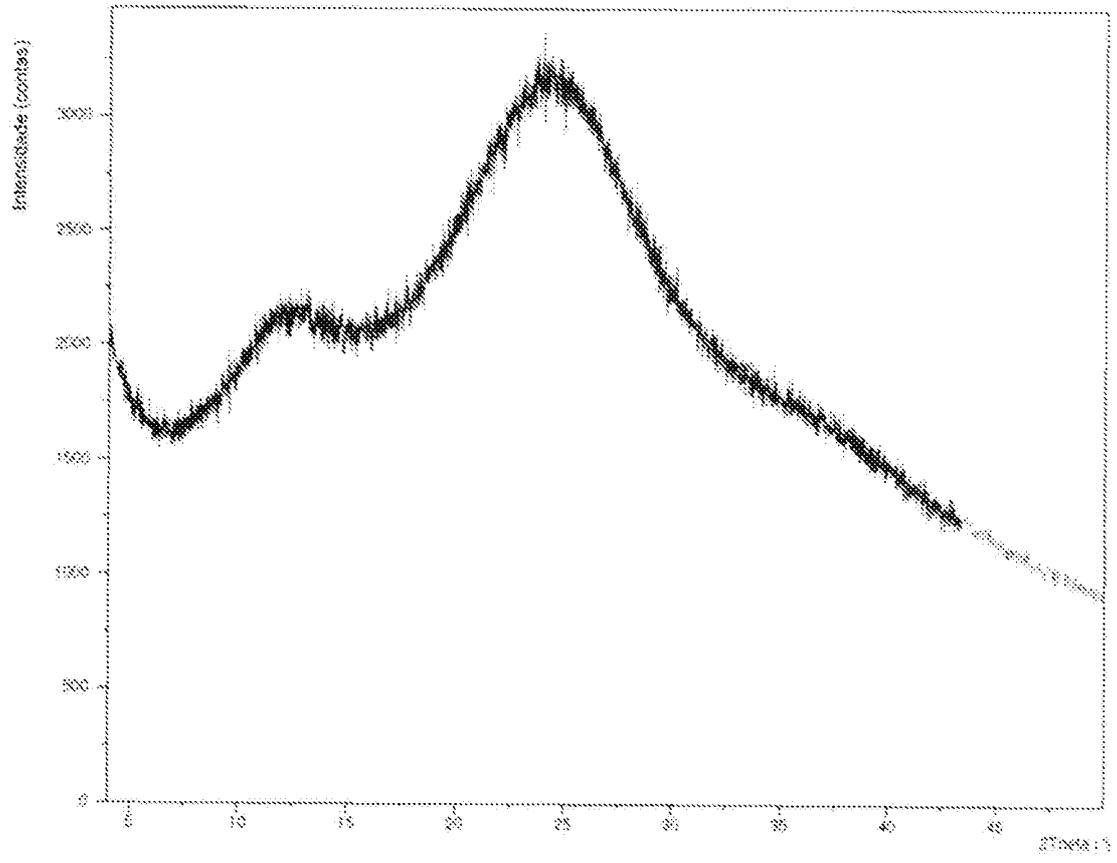


Figura 7

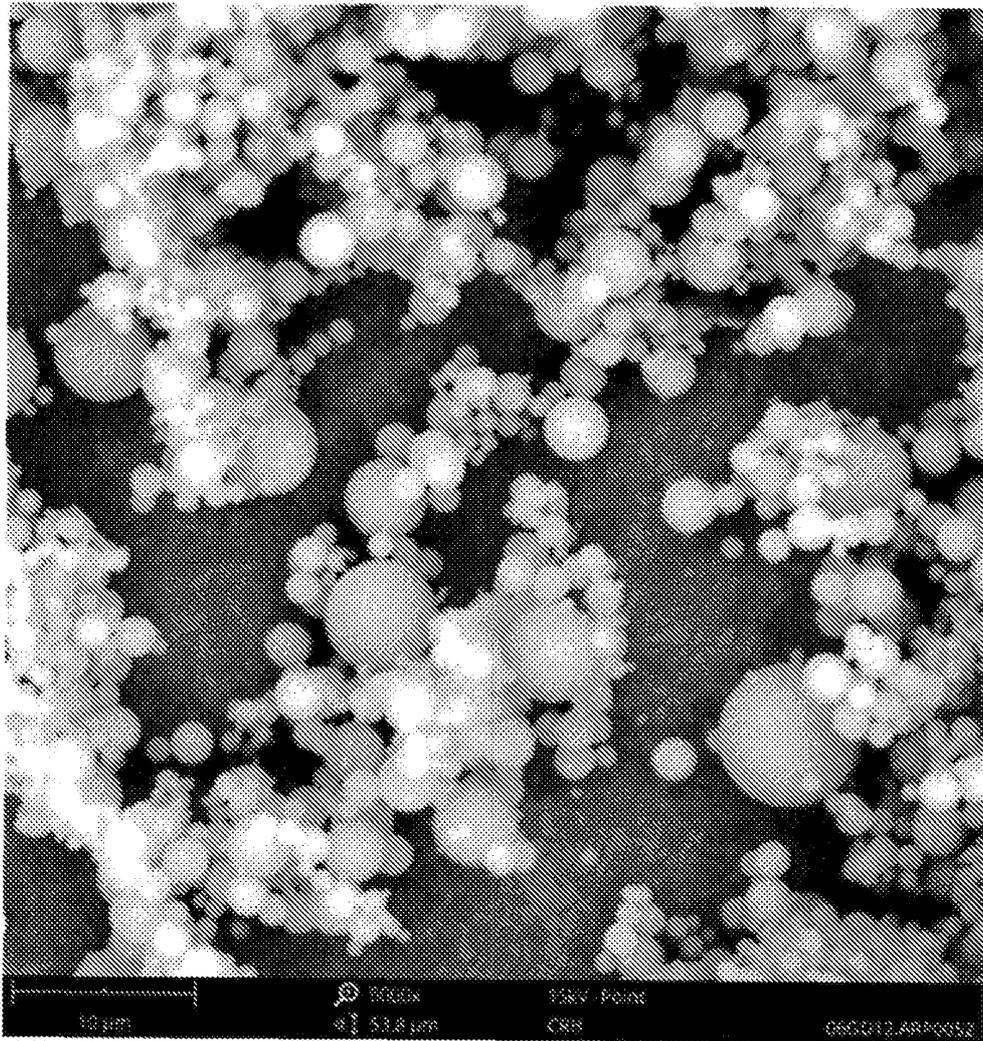


Figura 8

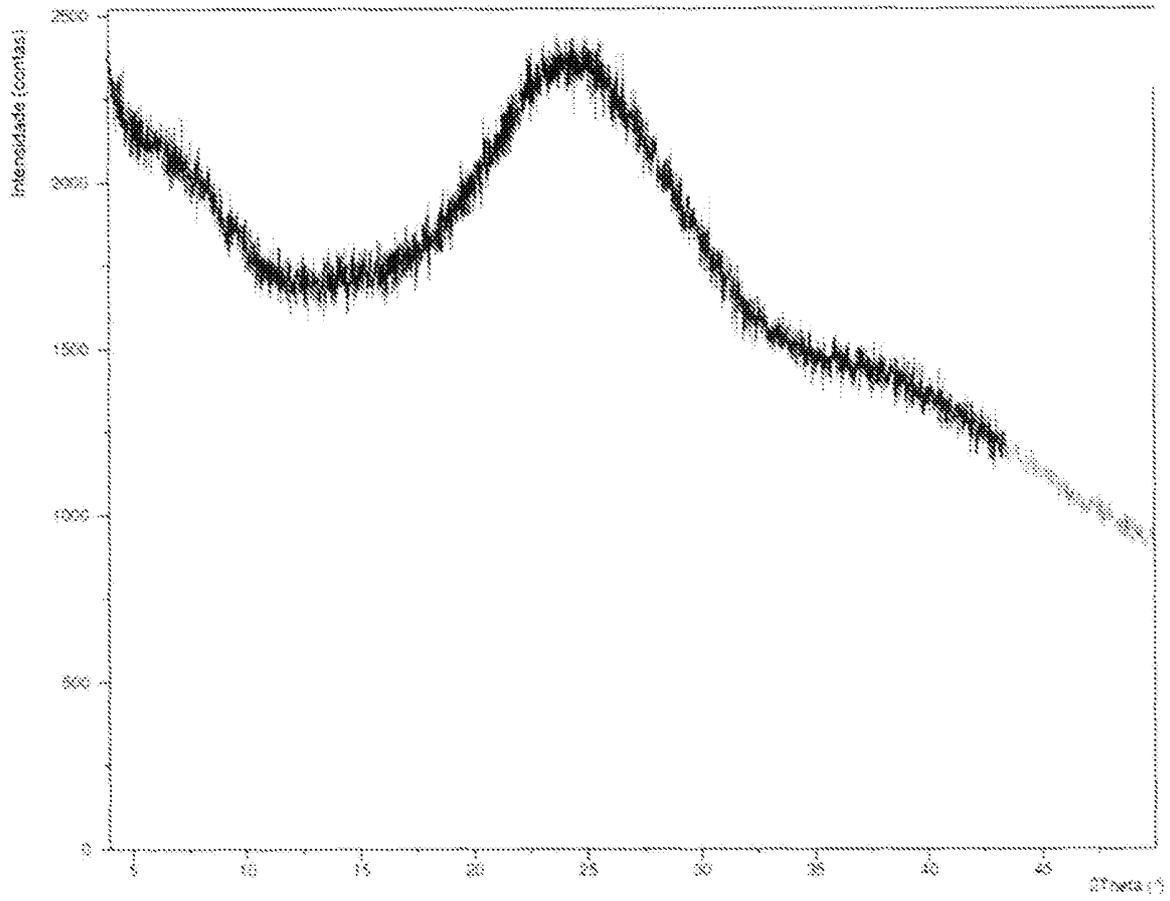


Figura 9

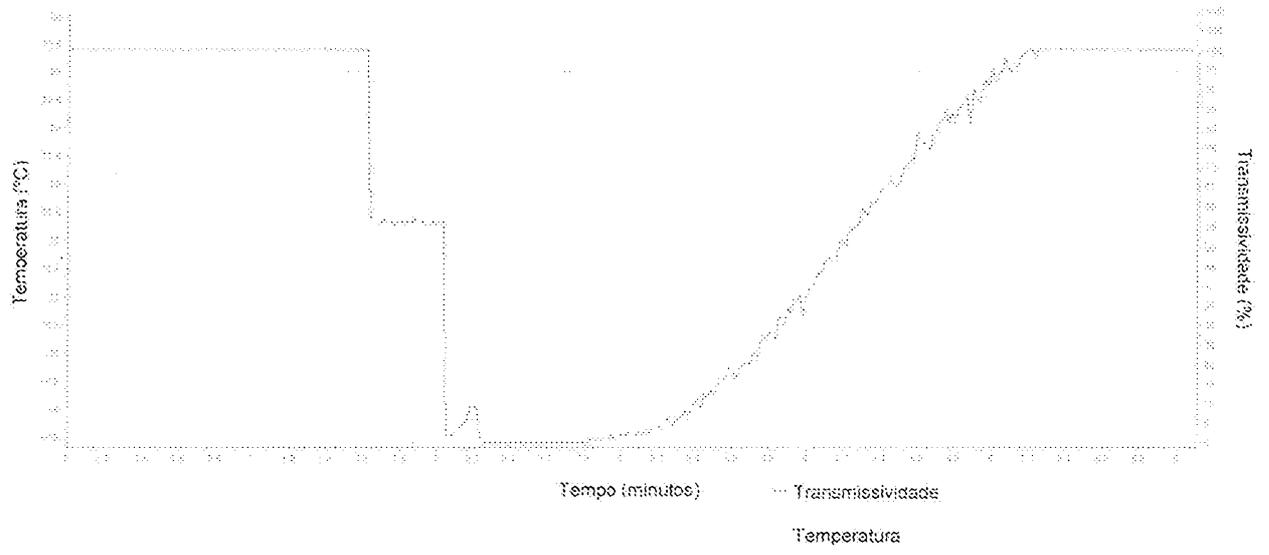


Figura 10

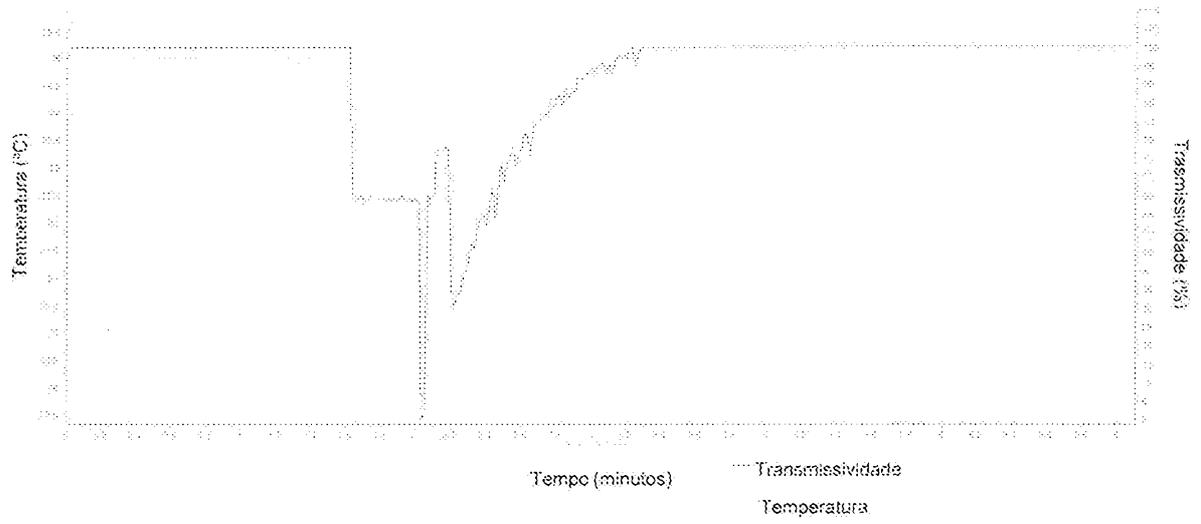


Figura 11