

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO PROFISSIONAL EM
QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA PROJETAR,
ANALISAR E CONTROLAR O PROCESSO DE
FABRICAÇÃO EM TEMPO REAL DE UM PRODUTO
FARMACÊUTICO EMPREGANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS E INFRAVERMELHO**

Simone Mayumi Kondo*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA PROFISSIONAL EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA TECNOLÓGICA.

Orientador: Edenir Rodrigues Pereira Filho

*** Vínculo Empregatício: Libbs Farmacêutica Ltda.**

São Carlos - SP
2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Simone Mayumi Kondo, realizada em 13/06/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho (UFSCar)

Profa. Dra. Julia Martins (Libbs Farmacêutica)

Prof. Dr. Renato de Carvalho (Cornell)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Dedico esse trabalho...

*Aos meus pais por todo o apoio, atenção, carinho e compreensão que foram
imprescindíveis para a conclusão deste trabalho.*

Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente de forma infinita e imensurável o apoio, carinho e compreensão dos meus pais, Tomiko e José, que foi essencial para a condução e conclusão deste trabalho. Eles são a base da minha vida e responsáveis por quem me tornei ao longo do tempo.

A minha irmã Patricia, ao meu cunhado Rodrigo e aos meus afilhados Rafael e Lara por entenderem mais esta etapa da minha vida.

Ao meu professor e orientador Edenir, pela orientação, ensinamentos, cuidados e discussões dos resultados para execução e conclusão deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Química pelos ensinamentos.

Aos Programas de Pós-Graduação em Química – PPGQ e Pós-Graduação Profissional em Química (PPGPQ) e Universidade Federal de São Carlos – UFSCar por todo o apoio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos meus colegas de trabalho Julia, Rodrigo, Samia e Tiago pela torcida e constantes aprendizados.

Aos meus gestores Lucas e Romero pelo incentivo e apoio, pois foram essenciais para o início e finalização deste trabalho.

A empresa Libbs Farmacêutica Ltda. que permitiu a condução deste projeto.

*“Na vida, não vale tanto o que temos, nem tanto importa o que somos.
Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e, acima de tudo, importa o que
fazemos de nós!”*

Chico Xavier

LISTA DE ABREVIATURAS

Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

B2B: *Business to business* (vendas feitas para a empresa)

B2C: *Business to consumer* (vendas feitas para o consumidor)

EUA: Estados Unidos da América

FT-NIR Analyser: *Fourier-Transform Near-Infrared Spectroscopy*

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography* (cromatografia líquida de alta eficiência)

Libbs: Laboratório Industrial Brasileiro de Biologia e Síntese

m/m: Relação massa/massa

NIR: *Near-infrared spectroscopy* (espectroscopia no infravermelho próximo)

NYHA: *New York Heart Association*

PAT: *Process Analytical Technology* (tecnologia analítica de processo)

PLS: *Partial least squares* (mínimos quadrados parciais)

QbD: *Quality by design* (qualidade baseada no projeto)

R²: Coeficiente de determinação

RAE: *Relative absolute error* (erro relativo absoluto)

RMN: Ressonância magnética nuclear

RMSEC: *Root mean squares error of calibration* (raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração)

RMSECV: *Root mean square error of cross – validation* (raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada)

RMSEP: *Root mean squares error of prediction* (raiz quadrada do erro médio quadrático de predição)

S/R: Razão sinal/ruído

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Regiões espectrais no infravermelho.....	4
TABELA 4.1 – Comparativo dos resultados obtidos da camada A do pellet utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.	23
TABELA 4.2 – Comparativo dos resultados obtidos da camada C do pellet utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.	24
TABELA 4.3 – Comparativo dos resultados obtidos da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos) utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.....	26
TABELA 4.4 – Comparativo dos resultados obtidos da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos) utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.....	28

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Camadas do pellet.....	12
FIGURA 3.1 – Amostra para análise por NIR.....	19
FIGURA 4.1 – Espectro da amostra por NIR obtidas nas amostras das camadas A, B e C.....	21
FIGURA 4.2 – Dados da calibração da camada A do pellet.....	22
FIGURA 4.3 – Dados da validação da camada A do pellet.....	22
FIGURA 4.4 – Dados da calibração da camada C do pellet.....	23
FIGURA 4.5 – Dados da validação da camada C do pellet.....	24
FIGURA 4.6 – Dados da calibração da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos).....	25
FIGURA 4.7 – Dados da validação da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos).....	25
FIGURA 4.8 – Dados da calibração da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos).....	27
FIGURA 4.9 – Dados da validação da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos).....	27

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PARA PROJETAR, ANALISAR E CONTROLAR O PROCESSO DE FABRICAÇÃO EM TEMPO REAL DE UM PRODUTO FARMACÊUTICO EMPREGANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS E INFRAVERMELHO. A inovação e melhorias contínuas nos processos de fabricação com o intuito de produzir medicamentos de alta qualidade em um curto intervalo de tempo, tem sido um grande desafio nas indústrias farmacêuticas. Neste cenário, a utilização da PAT será um mecanismo para projetar, analisar e controlar os processos de fabricação de produtos farmacêuticos por meio da determinação de parâmetros de processos críticos que afetam os atributos de qualidade. Todo esse processo ocorre de maneira *online* ou com o uso de ferramentas que permitam maior celeridade. Desta forma, o objetivo deste projeto de mestrado profissional é desenvolver um método que será utilizado para controlar o processo de fabricação de um medicamento utilizando ferramentas para aquisição e análise de dados multivariados. O alvo do projeto será um medicamento de forma farmacêutica sólida oral, contendo pellets com um ativo em uma cápsula. Os pellets deste produto possuem camadas de ativo e revestimento. No desenvolvimento deste projeto foram avaliados dados relacionados às camadas que revestem os pellets, que foi identificada como uma etapa crítica do processo. Foram avaliados dados da fase de desenvolvimento e do produto aprovado para comercialização, com o intuito de controlar o processo e fazer ajustes, quando necessário, baseado na análise dos dados, e detectar erros ou desvios, e corrigi-los durante a sua fabricação. Os dados foram obtidos com o método de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) ferramenta de análise que permite grande agilidade durante o processo.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A METHOD TO DESIGN, ANALYZE AND CONTROL THE REAL-TIME MANUFACTURING PROCESS OF A PHARMACEUTICAL PRODUCT USING CHEMOMETRIC AND INFRARED TOOLS. Innovation and continuous improvements in manufacturing processes to produce high quality drugs in a short period of time has been a great challenge in the pharmaceutical industries. The use of Process Analytical Technology (PAT) will be a mechanism for designing, analyzing, and controlling pharmaceutical manufacturing processes by determining critical process parameters that affect quality attributes. This whole process takes place online or with the use of tools that allow greater speed. Thus, the objective of this professional master's project is to develop a method that will be used to control the manufacturing process of a drug using tools for acquisition and analysis of multivariate data. The target of the project will be a pharmaceutically solid oral drug containing pellets with an active in a capsule. The pellets of this product have layers of active and coating. In the development of this project were evaluated data related to the layers that line the pellets, which was identified as a critical stage of the process. Data from the development phase and the product approved for commercialization were evaluated in order to control the process and make adjustments, when necessary, based on data analysis, and detect errors or deviations, and correct them during their manufacture. The data was obtained with the Near-infrared spectroscopy (NIR) method, an analysis tool that allows great agility during the process.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	INFORMAÇÕES GERAIS	1
1.2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.2.1.	Espectroscopia NIR	3
1.2.2.	Pré-tratamento dos dados e ferramentas quimiométricas	5
1.2.3.	Análise do medicamento.....	11
2.	OBJETIVO	17
3.	PROCEDIMENTOS E MATERIAIS	18
3.1.	DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS DO MÉTODO	18
3.2.	PREPARO DAS AMOSTRAS	18
3.3.	DESCRIÇÃO DO TESTE	19
3.4.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA AS CAMADAS A E C (DOSEAMENTO DO ATIVO) DO PELLETT.....	20
3.5.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A CAMADA B (DISSOLUÇÃO DO ATIVO) DO PELLETT.....	20
4.	RESULTADOS	21
4.1.	CAMADA A DO PELLETT.....	21
4.2.	CAMADA C DO PELLETT.....	23
4.3.	CAMADA B DO PELLETT.....	25
4.3.1.	Camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos)	25
4.3.2.	Camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos)	26
5.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	29
6.	IMPACTO PARA A EMPRESA	31
7.	CONCLUSÃO	32
8.	REFERÊNCIAS.....	33

1. INTRODUÇÃO

1.1. INFORMAÇÕES GERAIS

O Brasil se destaca no panorama mundial farmacêutico, oscilando atualmente entre a 8ª e 10ª posição. O mercado farmacêutico norte-americano é o maior do mundo, e por isso, foi usado como referência para a elaboração deste *ranking*. A classificação de um país é definida de acordo com o percentual de seu faturamento comparado ao dos Estados Unidos. Por exemplo, o mercado farmacêutico brasileiro representou em 2022, 6% do faturamento dos EUA. Nesse ritmo de crescimento, estima-se que o país alcance a 6ª posição em 2026 [1].

As indústrias farmacêuticas são responsáveis pelo desenvolvimento e comercialização dos medicamentos. Todo medicamento que será lançado no mercado passa por diversas etapas de pesquisa e testes até ser aprovado pelo órgão competente do país de origem do fabricante. No Brasil, esse órgão é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

A Anvisa, criada pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro 1999, é uma autarquia sob regime especial, que tem por finalidade institucional promover a proteção da saúde da população. Essa proteção é realizada por intermédio do controle sanitário da produção e consumo de produtos, serviços, dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos, fronteiras e recintos alfandegários [2].

O processo de regulamentação de um medicamento é longo, rigoroso e de custo elevado para a indústria farmacêutica. Ele deve cumprir diversas etapas, desde as que antecedem seu uso por seres humanos até o acompanhamento após o lançamento do medicamento, que comprovem que o produto não provocará reações prejudiciais à vida das pessoas.

A Libbs Farmacêutica Ltda. é uma empresa 100% brasileira, com capital privado, e mais de 60 anos no mercado nacional. Ocupa o 9º lugar no *ranking* de varejo farmacêutico nacional e 13º lugar entre os laboratórios mais prescritos pelos médicos. Possui mais de 3.000 colaboradores, 90 produtos e 200 apresentações. Seu parque fabril possui as unidades Galênica, Fármacos e Biotec. Na unidade Galênica são produzidos medicamentos comercializados nos modelos de negócio B2B,

medicamentos comercializados por outra empresa, e B2C que tem como público-alvo o consumidor final. Na unidade Fármacos são sintetizados os insumos farmacêuticos ativos utilizados na produção dos medicamentos, e na unidade Biotec são produzidos os medicamentos biológicos. Atualmente, 10% do faturamento anual da empresa é investido na área de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação [3].

Durante a produção dos medicamentos nas indústrias farmacêuticas, ocorre o controle em processo, que são verificações realizadas durante a produção para monitorar e, se necessário, ajustar o processo e assim garantir que o produto esteja em conformidade com a especificação desejada [4]. A especificação serve como base para avaliação da qualidade. A faixa de variação aceitável para uma característica de um produto é definida de forma a garantir a qualidade com que ele realiza a função para a qual foi projetado. O controle em processo tem como objetivo reduzir retrabalho, detectar desvios durante o processo de fabricação do medicamento, e assim, obter um produto final com a qualidade desejada [5].

O Controle de Qualidade é responsável pela amostragem, especificações e testes, bem como na organização, documentação e procedimentos de liberação que asseguram que os testes necessários e relevantes sejam realizados, que os materiais não sejam liberados para uso, nem produtos liberados para comercialização ou fornecimento, até que sua qualidade tenha sido considerada satisfatória [4]. Isso garante a qualidade, segurança e eficácia do medicamento para o paciente.

Neste cenário, o conceito “qualidade baseada no projeto” (QbD) propõe uma abordagem sistemática, fundamentada no conhecimento científico e no gerenciamento do risco associado ao processo de fabricação. O QbD tem sido extensamente utilizado no desenvolvimento de produtos farmacêuticos. E uma das formas de obter mais vantagens do QbD é alinhá-lo com a Tecnologia Analítica de Processo (PAT) [6], [7], [8], [9].

A PAT é definida como um sistema para projetar, analisar e controlar a produção por meio de medições pontuais de atributos cruciais para a qualidade e o desempenho dos processos e das matérias-primas e em processamento, com o objetivo de assegurar a qualidade do produto final. A importância da PAT tem aumentado significativamente nas indústrias farmacêuticas [6], [10], [11], [12].

Um dos desafios encontrados nas análises para liberação em controle em processo é o aumento da frequência de amostragem permitindo que o setor de produção do medicamento não permaneça estagnado aguardando os resultados para que o processo seja continuado e finalizado.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica aborda um panorama dos temas que motivaram o desenvolvimento desse trabalho, como a técnica por espectroscopia NIR, as principais ferramentas avaliadas para tratamentos e processamentos dos dados espectrais e obtenção da informação analítica, e da análise do medicamento utilizado nesse projeto.

1.2.1. Espectroscopia NIR

A região espectral do infravermelho compreende radiação com números de ondas no intervalo de aproximadamente 12.800 a 10 cm^{-1} ou comprimentos de onda de $0,78$ a $1.000\ \mu\text{m}$. Do ponto de vista tanto da aplicação como da instrumentação, o espectro infravermelho é convenientemente dividido em radiação no infravermelho próximo, médio e distante [13], [14], [15], [16].

As técnicas e aplicação de métodos baseados nessas três regiões espectrais diferem consideravelmente. Medidas na região do infravermelho próximo são feitas com fotômetros e espectrofotômetros com projetos e componentes semelhantes aos instrumentos para espectroscopia no ultravioleta/visível. As aplicações mais importantes dessa região espectral ocorrem na análise quantitativa de materiais industriais e agrícolas e no controle de processos.

Até o início dos anos 1980, a maioria dos instrumentos para a região do infravermelho médio era do tipo dispersivo, baseada em redes de difração. Com o avanço tecnológico, no entanto, houve uma mudança drástica nesses instrumentos, de modo que agora a maior parte deles são do tipo de transformada de Fourier. Fotômetros baseados em filtros de interferência também encontram uso para medidas de composições de gases e contaminantes atmosféricos [13].

O desenvolvimento de espectrômetros com transformada de Fourier aumentou a quantidade e a diversidade de aplicações da radiação no infravermelho médio. Esse crescimento é decorrente do aumento de uma ordem de magnitude ou mais nas relações sinal-ruído e limites de detecção que podem ser obtidos com instrumentos interferométricos. Antes desses instrumentos, a região do infravermelho era usada principalmente para análise orgânica qualitativa e determinação de estrutura baseada em espectros de absorção. Atualmente, no entanto, a espectroscopia no infravermelho médio está começando a ser usada também para análise quantitativa de amostras complexas por espectroscopia tanto de absorção quanto de emissão [13], [14].

No passado, a região espectral do infravermelho distante, embora potencialmente muito útil, teve seu uso limitado devido a dificuldades experimentais. As poucas fontes desse tipo de radiação são notoriamente fracas e são ainda mais atenuadas pela necessidade do uso de filtros de seleção de ordem que precisam ser usados para evitar que radiações de ordens superiores das redes atinjam o detector. Os espectrômetros com transformada de Fourier, com transmitâncias muito maiores, aliviam grande parte desse problema e tornam essa região muito mais acessível às questões da química analítica [13], [14].

A TABELA 1.1 demonstra a regiões espectrais no infravermelho.

TABELA 1.1 – Regiões espectrais no infravermelho.

Regiões	Intervalo de comprimento de ondas (μm)	Região de número de onda (cm^{-1})	Região de frequência (Hz)
Próximo	0,78 a 2,5	12.800 a 4.000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Médio	2,5 a 50	400 a 200	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
Distante	50 a 1.000	200 a 10	$6,0 \times 10^{12}$ a $3,0 \times 10^{11}$

A região espectral do infravermelho próximo estende-se desde o limite superior de comprimento de onda da região visível em cerca de 770 nm até 2.500 nm (13.000 a 4.000 cm^{-1}). As bandas de absorção nessa região são harmônicas ou combinações de bandas de estiramento fundamentais que ocorrem na região de 3.000

a 1.700 cm^{-1} . As ligações envolvidas são normalmente C–H, N–H e O–H. Como as bandas são harmônicas ou combinações, suas absorvidades molares são pequenas e os limites de detecção estão na ordem de 0,1% [13], [17].

A instrumentação para a região do infravermelho próximo é semelhante à usada para a espectroscopia de absorção ultravioleta/visível. Lâmpadas de tungstênio/halogênio com janelas de quartzo servem como fontes. As células de medidas de absorção são normalmente de quartzo ou sílica fundida, transparentes até 3.000 nm. Os caminhos ópticos variam de 0,1 a 10 cm. Os detectores são, em geral, fotocondutores de sulfeto de chumbo. Ainda há instrumentos de feixe duplo, rede de difração e arranjo de diodos ou com transformada de Fourier.

Para compreender a origem de um espectro NIR, poder interpretá-lo e tê-lo com uma ferramenta importante para o desenvolvimento de um método analítico, é necessário estar familiarizado com os fundamentos da espectroscopia vibracional. O espectro NIR se origina da energia de radiação transferida à energia mecânica associada aos movimentos dos átomos mantidos juntos por ligações químicas em uma molécula [14].

A NIR é útil para análises quantitativas de compostos contendo grupos funcionais constituídos de hidrogênio ligado a carbono, nitrogênio e oxigênio. Tais compostos podem frequentemente ser determinados com exatidão e precisão equivalentes à espectroscopia ultravioleta/visível.

As várias qualidades da tecnologia NIR a tornaram atraente como uma alternativa ao método tradicional de técnicas analíticas para produtos farmacêuticos: análise direta e não-invasiva, pois as amostras podem ser analisadas como estão, exigindo pouco ou nenhuma preparação prévia; análises de matrizes complexas são realizadas rapidamente; não utiliza solventes de alto custo e perigosos. Esses atributos tornam a técnica adequada e viável na rotina de aplicações de laboratório e controle em processo [14], [17], [18], [19].

1.2.2. Pré-tratamento dos dados e ferramentas quimiométricas

Os espectros de NIR são geralmente complexos e possuem uma ampla sobreposição das bandas. Além disso, as propriedades químicas, físicas e estruturais

de todas as espécies presentes na amostra influenciam o espectro medido. A Quimiometria é utilizada para evidenciar informações que se encontram correlacionadas com uma certa propriedade de uma grande quantidade de dados [15], [20].

A Quimiometria é uma área da química que utiliza conhecimentos de matemática e estatística para a identificação de informações relevantes de um problema em estudo. É uma das vertentes da Quimiometria é a calibração multivariada [21]. Na análise NIR, a parte relevante dos dados multivariados dos espectros é extraída sem perder informação importante, eliminando-se aquelas indesejadas (interferências ou ruído) [15].

A utilização de pré-tratamentos, em que os dados experimentais são preparados para análise, tem como objetivo remover fontes de variação indesejáveis que não serão eliminadas naturalmente durante a análise. Dentre elas, há os de transformação que é aplicado nas amostras, e o pré-processamento que é aplicado nas variáveis [22], [23], [24], [25].

1.2.2.1. Transformação – Derivada

A primeira derivada é uma transformação matemática que auxilia a correção do deslocamento da linha de base ocasionada por um problema instrumental ou de amostragem [25].

Como a primeira derivada de uma constante é zero, após a correção o espectro resultante estará deslocado para o zero de absorvância. Caso o espectro apresente uma inclinação da linha de base à medida que decresce o número de onda, essa variação sistemática também pode ser corrigida tomando-se a segunda derivada.

Lembrando que a derivada de uma função em um ponto qualquer da curva é a inclinação da reta tangente à curva naquele ponto, a derivada de um pico terá, então, dois pontos: um positivo, relativo ao lado esquerdo, e outro negativo, relativo ao lado direito do pico. Os máximos, positivo e negativo da derivada, correspondem aos pontos de inflexão do pico original. No ponto de intensidade

máxima, a inclinação da reta tangente é nula e, portanto, a derivada é igual a zero [25].

O uso de derivadas, em geral, é o método que se mostra mais apropriado para correções de linha de base dos espectros. Seu cálculo não envolve o uso subjetivo das funções paralelas e nem introduz grande quantidade de variância nos dados. A única desvantagem é a diminuição indesejável na razão sinal/ruído (S/R), mas se ela for alta, isso não constituirá um problema. Caso contrário, com uma S/R baixa, o uso das derivadas pode ser inconveniente e, nesse caso, é mais aconselhável fazer o ajuste de curvas.

Além da remoção de variações sistemáticas na linha de base, o uso de derivadas pode ser muito útil como uma forma de melhorar a resolução de picos parcialmente sobrepostos e, além disso, para estimar com segurança a posição dos picos. O ponto onde a primeira derivada cruza a linha de base e a segunda derivada tem um máximo negativo indica a posição de um pico.

1.2.2.2. Pré-processamento dos dados – Centragem dos dados na média

Para centrar os dados na média, primeiro calcula-se o valor médio de cada coluna da matriz de dados e, a seguir, esse valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna, conforme descrito na Equação 1 [25].

Equação 1:

$$x_{ij (cm)} = x_{ij} - \bar{x}_j$$

Onde:

$$\bar{x}_j = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I x_{ij} \text{ é a média da } j\text{-ésima coluna dos dados.}$$

O resultado desse pré-processamento é apenas uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles e, conseqüentemente, a estrutura dos dados é totalmente preservada.

1.2.2.3. Ferramentas quimiométricas – Métodos de regressão multivariada (Calibração e Validação)

A calibração multivariada tem como objetivo principal a utilização simultânea de várias variáveis. Esse tipo de calibração tem como principais vantagens o fato de permitir determinações simultâneas de mais de um analito de interesse, permitir determinações mesmo na presença de interferentes, e apresentar uma diminuição do erro estimado no modelo, devido ao fato de ser um método que utiliza múltiplas variáveis.

O processo geral de calibração consiste em duas etapas:

- Modelagem: estabelece uma relação matemática entre **X** e **Y** no conjunto de calibração, como por exemplo, uma relação entre o sinal medido e a propriedade que se deseja quantificar da amostra;
- Validação: assegura que o modelo reflete o comportamento do analito e é robusto.

Tendo em vista a obtenção de um modelo matemático que melhor descreve a predição de uma propriedade, os cálculos para os conjuntos de calibração e validação ajudam a definir se o modelo obtido é robusto. Nesse contexto, a avaliação dos modelos é feita pelo coeficiente de determinação (R^2), raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração (RMSEC), raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (RMSEP) e erro relativo absoluto (RAE). Sendo que para um modelo ser considerado satisfatório, os valores de R^2 devem ser próximos de 1, enquanto os valores de RMSEC e RMSEP devem ser os menores possíveis.

O RMSEC descreve o grau de concordância entre a concentração real e a estimada pelo modelo nas amostras do conjunto de calibração. É comum que esse parâmetro apresente valores baixos, indicando que a capacidade preditiva do conjunto de calibração é boa. No entanto, para certificar essa afirmação, existem duas maneiras de validar o modelo proposto. Uma é utilizar a validação cruzada empregando por exemplo, o método *leave one out*, onde uma amostra do conjunto de

calibração é deixada de fora durante o cálculo do modelo e posteriormente essa amostra é predita pelo modelo calculado. O RMSECV é a métrica de erro utilizada para avaliar a validação cruzada. Já a outra, é utilizar um conjunto de amostra externo ao conjunto de calibração e avaliar o valor obtido por RMSEP, esse procedimento é denominado validação externa. O valor RMSEP analogamente ao RMSEC, também descreve a concordância entre a concentração real e a prevista pelo modelo, só que para o conjunto de validação.

A equação 2 demonstra o cálculo do RMSEC [25].

Equação 2:

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I_c} (y_i - \hat{y}_i)^2}{I_c}}$$

A equação 3 demonstra o cálculo do RMSEP [25].

Equação 3:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I_p} (y_i - \hat{y}_i)^2}{I_p}}$$

Onde y_i e \hat{y}_i representam as concentrações reais ou de referência e as predições de uma amostra i ; já I_c e I_p representam os números totais de amostras dos conjuntos de calibração e validação, respectivamente.

A equação 4 demonstra o cálculo do RMSECV [25].

Equação 4:

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I_{vc}} (y_i - \hat{y}_i)^2}{I_{vc}}}$$

Onde, y_i e \hat{y}_i correspondem aos valores de referência e previstos pelo modelo, respectivamente e l_{vc} é o número de amostras da validação cruzada.

1.2.2.4. Ferramentas quimiométricas – PLS

O método de Regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) é uma técnica de análise de dados multivariados utilizada para relacionar uma ou mais variáveis resposta (\mathbf{Y}) com diversas variáveis independentes (\mathbf{X}), baseada no uso de fatores.

O tratamento estatístico de blocos de variáveis foi introduzido no início da década de 1960 como uma alternativa à correlação canônica tradicional. Nos anos 1970, Herman Wold usou essa abordagem na área de economia e a denominou PLS. A versão quimiométrica do método foi desenvolvida por seu filho Svante, poucos anos depois, para modelar dados com variáveis altamente correlacionadas em substituição ao método de quadrados mínimos. A versão original do método consistia em obter uma sequência de modelos parciais ajustados por quadrados mínimos a dois blocos de matrizes (\mathbf{X} e \mathbf{Y}) [25].

A motivação do método é aproximar o espaço das medidas originais por um de dimensão reduzida, com alguma restrição na decomposição da matriz \mathbf{X} direcionando-a para uma solução cujo alvo é a propriedade de interesse. Os fatores, designados como variáveis latentes, são definidos de modo a manter um compromisso entre a explicação da variância em \mathbf{X} e a previsão da variável dependente, \mathbf{y} .

O modelo PLS é construído em uma única etapa, na qual as informações da matriz \mathbf{X} e da propriedade de interesse são consideradas durante a decomposição e a compressão dos dados, o que é justificável, se os valores da propriedade de interesse forem confiáveis.

Para o método PLS, cada variável latente, que correlaciona \mathbf{X} e a propriedade de interesse \mathbf{y} , é obtida maximizando a covariância entre os escores \mathbf{t} , das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} . Com essa definição dos fatores, otimiza-se a decomposição na direção da previsão da propriedade \mathbf{y} . Ainda, pode-se considerar que termo “parcial” se deve ao fato de que a solução de quadrados mínimos não se aplica a qualquer

conjunto de pesos L , mas somente àqueles que satisfazem à restrição indicada anteriormente (de maximizar covariância entre t e y).

O PLS permite identificar fatores (combinações lineares das variáveis X) que melhor modelam as variáveis dependentes Y . Além disso, admite, com eficiência, trabalhar com conjuntos de dados onde haja variáveis altamente correlacionadas e que apresentam ruído aleatório considerável.

Este método é também uma técnica de decomposição espectral, mas usa a informação analítica nesse processo, ou seja, realiza em simultâneo a compressão dos dados e a sua regressão contra os valores analíticos. Assim, os espectros onde os constituintes estão mais concentrados, têm maior peso na calibração.

Uma vantagem deste método é a possibilidade de diagnosticar de forma fácil a presença de *outliers*. Estes podem ser identificados pela observação dos resíduos, através da observação das amostras com valores de resíduos superiores aos da média do conjunto de calibração.

1.2.3. Análise do medicamento

A hipertensão arterial, conhecida como pressão alta, é uma doença crônica que ocorre quando a pressão sanguínea nas artérias é persistentemente elevada. A doença se caracteriza por valores das pressões máxima e mínima iguais a ou maiores que 140/90 mmHg (ou 14 por 9). O número de óbitos por hipertensão arterial vem crescendo a cada ano no Brasil. Em 2015, foram registradas 47.288 mortes. Em 2019, o número saltou para 53.022. A hipertensão arterial é uma doença silenciosa e sem sintomas que, justamente por isso, se torna bastante perigosa [26].

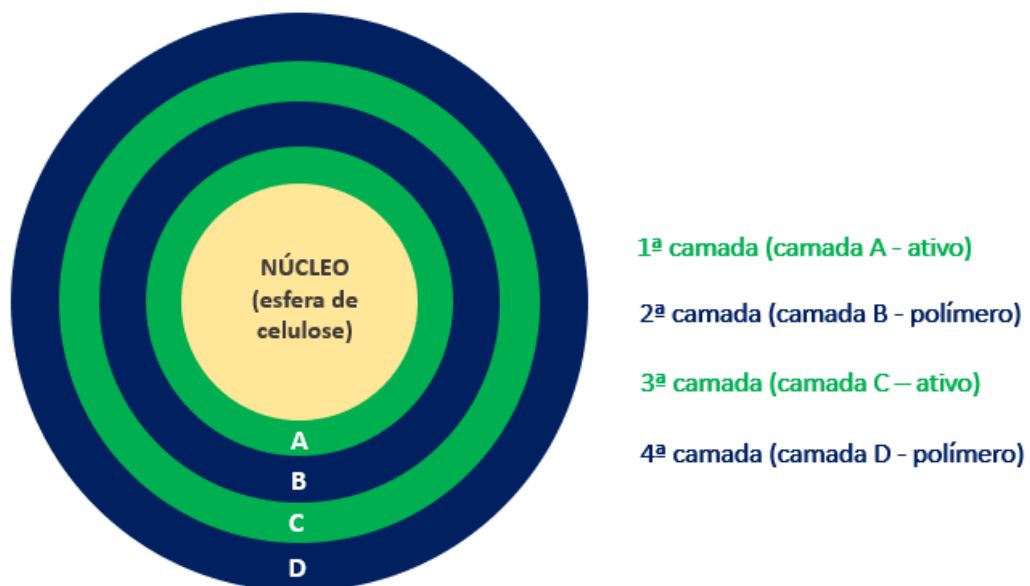
A Libbs Farmacêutica Ltda. desenvolveu um medicamento novo, com nova forma farmacêutica e de liberação prolongada para a hipertensão arterial e adjuvante na terapia da insuficiência cardíaca.

Este produto tem como indicação terapêutica a redução do parâmetro da pressão arterial, que pode levar à morbidade e risco de mortalidade de origem cardiovascular e coronária (incluindo morte súbita). Além disso, atua na minimização da angina do peito. O novo medicamento é também um adjuvante na terapia da

insuficiência cardíaca crônica sintomática, leve a grave, permitindo um aumento da sobrevida, redução da hospitalização, melhorias da função ventricular esquerda, da classe funcional da *New York Heart Association* (NYHA) e da qualidade de vida. Por fim, o medicamento atua também nas alterações do ritmo cardíaco, incluindo especialmente taquicardia supraventricular; tratamento de manutenção após infarto do miocárdio; alterações cardíacas funcionais com palpitações; e profilaxia da enxaqueca [27].

Trata-se de um medicamento sólido de liberação prolongada, administrado por via oral, contendo pellets com um ativo dentro de uma cápsula. Cada pellet é formado por um núcleo de material inerte revestido por quatro camadas, com aplicação do ativo das camadas A e C, e de polímero sintético inerte nas camadas B e D, responsável pela modulação da liberação do fármaco a fim de obter um medicamento com liberação prolongada do ativo (FIGURA 1.1).

FIGURA 1.1 – Camadas do pellet.



Para o controle em processo do pellet é utilizado a técnica analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), comumente utilizada por apresentar alta sensibilidade e reprodutibilidade nos resultados, e ampla aplicabilidade a substâncias de grande interesse para a indústria [13], [28].

Durante o processo de fabricação, são realizados testes para quantificação do ativo nas camadas dos pellets. Como nas camadas A e C há a aplicação do ativo, é realizado o teste de dosagem a fim de quantificar a porcentagem do ativo contida nessas camadas durante a produção dos pellets. E como na camada B há a aplicação do polímero, é realizado o teste de dissolução para avaliar a porcentagem liberada do ativo nesta camada.

No entanto, devido ao alto custo da técnica por conta do equipamento e dos materiais utilizados nas análises, como fase estacionária e reagentes, e do longo intervalo de tempo de análise tanto cromatográfica quanto da preparação das amostras, foi verificada a necessidade de desenvolver um método analítico alternativo para controlar o processo de fabricação das camadas A, B e C dos pellets ao longo da produção do medicamento.

Nesse sentido, avalia-se a utilização de técnicas de análise direta, como raios-X, métodos nucleares, termoanálises ou métodos espectroscópicos. As vantagens da determinação direta são rapidez, redução de uso de reagentes, baixo custo e simplificação no preparo da amostra, redução no tempo de preparo da amostra, pois requer mínimo ou nenhum preparo das mesmas antes das análises. Desta forma, permite a diminuição da possibilidade de erros causados pela manipulação, e diminuição de contaminação [29].

A importância de técnicas diretas no controle em processo na fabricação de medicamentos e no controle de qualidade é ressaltada pela obtenção de resultados mais rápidos devido a redução do tempo de análise e do preparo das amostras, redução dos custos e aquisição de dados precisos e confiáveis.

Atualmente, existe uma série de procedimentos de controle analítico e de fabricação de novos materiais focados nos parâmetros de qualidade de um produto alvo, conhecido também como a PAT. Esse conceito vem sendo utilizado há algumas décadas, no qual analisadores de processos como espectroscopia de infravermelho (NIR) e ressonância magnética nuclear (RMN) são usados para otimizar a produtividade e a qualidade de produtos. Os dados gerados por essas técnicas instrumentais analíticas são modelados por ferramentas matemáticas, como PLS [30].

Assim, devido a essas inovações de instrumentos analíticos e a capacidade de modelar os dados gerados desses métodos de detecção, a PAT tem

sido cada vez mais adotado pela indústria farmacêutica para auxiliar a melhoria e modernização da fabricação de novos medicamentos [31].

De acordo com o guia *Development and Submission of Near Infrared Analytical Procedures*, a NIR, uma técnica que permite medições de transmissão e refletância, baseia-se nas propriedades ópticas da amostra e aplicação, utiliza a quimiometria e envolve algumas etapas, como:

1. Construção de um modelo de calibração;
2. Apresentação das amostras;
3. Desenvolvimento de métodos quimiométricos;
4. Validação de biblioteca interna de validação;
5. Validação interna de modelo de calibração quantitativa:
 - i. Validação cruzada usando a calibração;
 - ii. Validação usando um conjunto de validação interna.
6. Desenvolvimento de modelos de taxa de variação.

Dessa forma, para o desenvolvimento de um método alternativo nas análises de controle em processo durante a fabricação dos pellets foi eleita a técnica de análise direta por espectroscopia na região do infravermelho próximo (*FT-NIR Analyser*).

A espectroscopia na região do NIR é uma técnica de análise rápida, simples, com custo relativamente baixo do equipamento, redução considerável do custo operacional, que pode ser realizada em tempo real. É uma técnica não destrutiva, requerendo mínimo ou nenhum preparo das amostras antes das análises, diminuindo dessa forma, erros causados pela manipulação e contaminação das amostras. Não utiliza reagentes químicos, e por isso, pode ser considerado uma técnica sustentável de análise seguindo os princípios da química verde. Além de ser uma técnica com aquisição de dados exatos, precisos e confiáveis [32], [33], [34], [35]. Assim, todas essas características torna a metodologia desenvolvida por NIR mais vantajosa em relação a outras técnicas analíticas, devido a redução do custo operacional, com economia de materiais e financeiro.

Os espectros de NIR são geralmente complexos e possuem uma ampla sobreposição das bandas. Além disso, as propriedades químicas, físicas e estruturais

de todas as espécies presentes na amostra influenciam o espectro medido. A Quimiometria é utilizada para evidenciar informações que se encontram correlacionadas com uma certa propriedade de uma grande quantidade de dados [15], [20].

A Quimiometria é uma área da química que utiliza conhecimentos de matemática e estatística para a identificação de informações relevantes de um problema em estudo. É uma das vertentes da Quimiometria é a calibração multivariada [21]. Na análise NIR, a parte relevante dos dados multivariados dos espectros é extraída sem perder informação importante, eliminando-se a indesejada (interferências ou ruído) [15].

Com os dados obtidos pela espectroscopia NIR associado a métodos multivariados de análise, é possível quantificar o ativo nas camadas dos pellets durante o seu processo de fabricação. Uma vez que o espectro NIR possui bandas largas e sobrepostas, a Quimiometria torna-se uma ferramenta valiosa para extrair as informações contidas nos espectros NIR, permitindo a identificação e a quantificação de diversos parâmetros em diferentes matrizes. Além disso, a própria Quimiometria se beneficia do tipo e da elevada quantidade de informação espectral gerada para o desenvolvimento de novos métodos empregando espectroscopia NIR [34].

A utilização de um modelo e pré-tratamentos, em que os dados experimentais são preparados para análise, tem como objetivo remover fontes de variação indesejáveis que não serão eliminadas naturalmente durante a análise. Dentre elas há os de transformação que é aplicado nas amostras, e o pré-processamento que é aplicado nas variáveis [22], [23], [24], [25].

Na realidade, a quantificação de parâmetros analíticos empregando espectroscopia NIR sem a separação prévia do analito da matriz, na maioria dos casos apenas é possível empregando métodos de calibração multivariada, uma vez que dificilmente um sinal específico (livre de interferência da matriz) é observado para o analito na região do NIR. A possibilidade de quantificar o analito sem a necessidade de separá-lo da matriz é uma grande vantagem da espectroscopia NIR em relação às técnicas de separação, como a HPLC, uma vez que o desenvolvimento de métodos analíticos exige pouco ou nenhum tratamento da amostra, minimizando a geração de resíduos. Além disso, o tempo de preparo da amostra normalmente é muito inferior

em relação aos métodos cromatográficos e, conseqüentemente, o custo das análises também é reduzido. O limite de detecção da técnica permite a determinação de componentes que estejam em concentrações aproximadamente superiores a 0,5% m/m. Considerando que a faixa de concentração de fármacos em medicamentos é normalmente superior ao limite mencionado, a espectroscopia NIR associada a métodos de calibração multivariada é uma opção atraente e alinhada com a química verde para a realização de análises na indústria farmacêutica [11], [32], [33], [34], [36].

Dessa forma, é possível desenvolver um método analítico que trará agilidade durante a produção do medicamento, com redução da frequência de amostragem, de materiais e resíduos.

Logo, como parte do desenvolvimento desse produto é necessário desenvolver um método analítico para controlar o processo de fabricação das camadas A, B e C dos pellets ao longo da produção do medicamento.

2. OBJETIVO

Esta dissertação de mestrado profissional tem como objetivo desenvolver um método para analisar e controlar o processo de fabricação de um produto farmacêutico utilizando ferramentas quimiométricas e a técnica de análise direta por espectroscopia na região do infravermelho próximo (*FT-NIR Analyser*), em substituição ao método por cromatografia líquida de alta eficiência.

O alvo do projeto foi um medicamento de forma farmacêutica sólida oral, contendo pellets com um ativo em uma cápsula. Durante o processo de fabricação, são realizados testes para quantificação do ativo nas camadas dos pellets.

Cada pellet (FIGURA 1.1) é formado por um núcleo de material inerte revestido por quatro camadas, com aplicação do ativo nas camadas A (camada interna e próxima ao núcleo) e C (camada intermediária), e de polímero sintético inerte nas camadas B (camada intermediária) e D (camada externa). As camadas B e D são responsáveis pela modulação da liberação do fármaco do medicamento. Como nas camadas A e C há a aplicação do ativo, é realizado o teste de dosagem a fim de quantificar a porcentagem do ativo contida nas mesmas durante a produção dos pellets. E como na camada B há a aplicação do polímero, é realizado o teste de dissolução para avaliar a porcentagem liberada do ativo nesta camada.

3. PROCEDIMENTOS E MATERIAIS

O desenvolvimento do método foi realizado com a premissa de utilizar os dados gerados anteriores ao início do projeto de mestrado profissional.

Os dados foram obtidos utilizando três lotes produzidos com a aplicação de 80%, 90% e 100% de ativo, e três lotes produzidos com a aplicação de 60%, 80%, 100%, 120% e 140% de polímero.

3.1. DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS DO MÉTODO

Equipamento: Espectrofotômetro na região do infravermelho próximo – FT-NIR *Analyser*;

Software: TQ Analyst™ (Thermo Fischer Scientific®);

Abertura do opérculo: 2,3 cm de diâmetro;

Nº of scans: 32;

Resolution: 4;

Final format: Absorbance;

Correction: None;

Software: OMNIC™ (Thermo Fischer Scientific®).

3.2. PREPARO DAS AMOSTRAS

O preparo de amostra para análise por NIR é simples e consistiu em pesar analiticamente cerca de 4 gramas de pellets e transferir para um *vial* de *headspace* (FIGURA 3.1).

FIGURA 3.1 – Amostra para análise por NIR.



3.3. DESCRIÇÃO DO TESTE

As etapas de análise devem ser seguidas conforme descrito:

1. No *software* OMNIC™, em *Collect*, selecionar *Experiment Setup*;
2. Na aba *Collect*, abrir o método desenvolvido em: Open > Local Disk (C:) > my documents > omnic > Param > método.EXP;
3. Leitura da amostra: Clicar em *Collect* > *Collect Sample*;
4. Inserir a identificação da amostra;
5. Com a lente limpa e vazia, e abertura do opérculo de 2,3 cm de diâmetro (abertura mínima para o *vial* de *headspace*), realizar o *background spectrum*;
6. Após a realização do *background*, colocar o *vial* contendo a amostra no equipamento e iniciar a leitura da amostra;
7. Salvar o espectro da amostra em *File* > *Save as*;
8. Quantificação: *Analyse* > *Quant Setup* – selecionar o método em Local Disk (C:) > my documents > omnic > Quant > Pellet > Camada A / Camada C;
9. Para quantificar o espectro da amostra: *Analyse* > *Quantify*;

10. Para salvar o resultado, selecionar *Print*.

3.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA AS CAMADAS A E C (DOSEAMENTO DO ATIVO) DO PELLET

Calibração realizada com 27 amostras com a aplicação de 80%, 90% e 100% do ativo utilizando a regressão dos quadrados mínimos parciais (PLS), a 1ª derivada como pré-tratamento e dados centrados na média. Devido a reduzida quantidade de amostras utilizadas na calibração, foi aplicado o recurso de validação cruzada (*leave-one-out*).

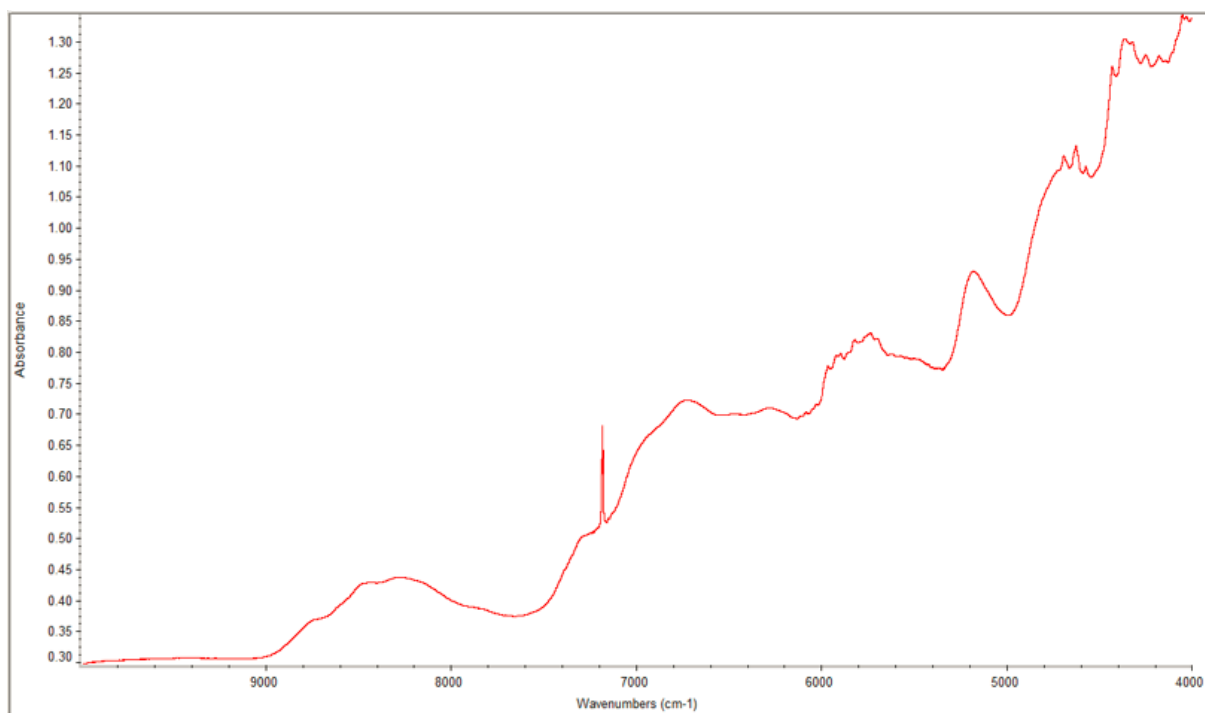
3.5. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A CAMADA B (DISSOLUÇÃO DO ATIVO) DO PELLET

As amostras da camada B são quantificadas em dois pontos de coleta da dissolução, 30 minutos e 90 minutos. Para o ponto de coleta em 90 minutos, a calibração foi realizada com 27 amostras com a aplicação de 60%, 80% e 100% do polímero. Para o ponto de coleta em 30 minutos, a calibração foi realizada com 11 amostras com aplicação de 100%, 120% e 140% do polímero. Em ambos os casos, os dados foram centrados na média e foi utilizado a mesma ferramenta descrita anteriormente (PLS). A proposição do modelo de calibração foi realizada também com a validação cruzada (*leave-one-out*).

4. RESULTADOS

As amostras das camadas A, B e C demonstram o espectro por NIR conforme demonstrado na FIGURA 4.1.

FIGURA 4.1 – Espectro da amostra por NIR obtidas nas amostras das camadas A, B e C.



4.1. CAMADA A DO PELLET

As FIGURA 4.2 e FIGURA 4.3 mostram os resultados obtidos para as amostras de calibração (FIGURA 4.2) e validação (FIGURA 4.3) para a camada A. Todos os cálculos foram realizados utilizando o próprio programa do equipamento e inicialmente temos o valor real (*Actual*) versus o previsto (*Calculated*). Além disso, é mostrado também os resíduos (*Difference*). O erro de calibração foi da ordem de 1,13% e foram utilizadas duas variáveis latentes (VL) na proposição dos modelos.

FIGURA 4.2 – Dados da calibração da camada A do pellet.

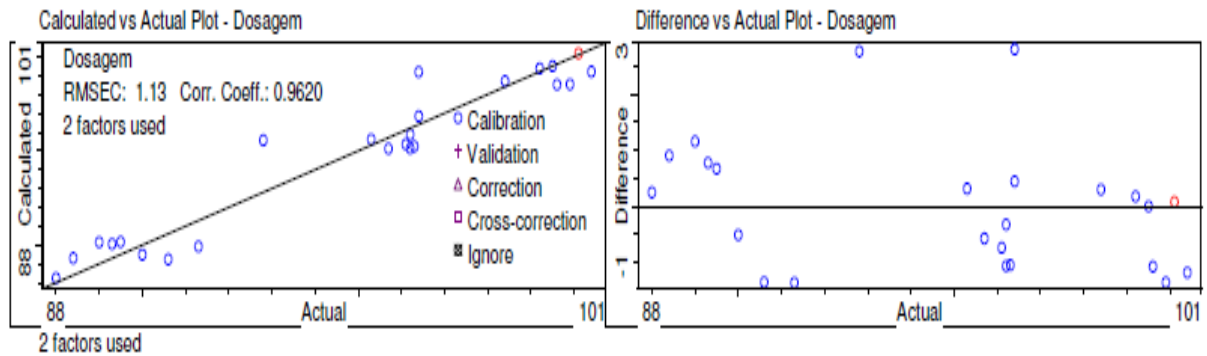
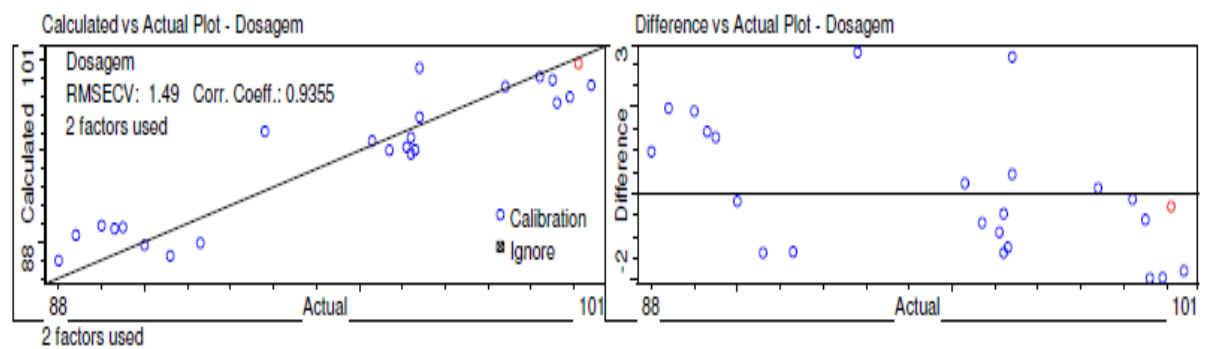


FIGURA 4.3 – Dados da validação da camada A do pellet.



A TABELA 4.1 demonstra os resultados da camada A do pellet nos lotes produzidos e analisados pelos métodos de referência e desenvolvido por NIR. Observa-se que os resultados das amostras são semelhantes e atendem a especificação de 95,0% a 105,0%, comprovando que o método desenvolvido atende a finalidade proposta de substituir o método de referência.

TABELA 4.1 – Comparativo dos resultados obtidos da camada A do pellet utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.

Lote 21E0255 (método de referência)	Lote 21E0255 (NIR)
98,6%	99,6%
99,6%	99,3%
Lote 21E0256 (método de referência)	Lote 21E0256 (NIR)
99,4%	101,6%
102,1%	101,1%
Lote 21F0006 (método de referência)	Lote 21F0006 (NIR)
98,8%	99,7%
100,0%	100,2%

Especificação: 95,0% a 105,0%.

4.2. CAMADA C DO PELLETT

As FIGURA 4.4 e FIGURA 4.5 mostram os resultados obtidos para as amostras de calibração (FIGURA 4.4) e validação (FIGURA 4.5) para a camada C. Todos os cálculos foram realizados utilizando o próprio programa do equipamento e inicialmente temos o valor real (*Actual*) versus o previsto (*Calculated*). Além disso, é mostrado também os resíduos (*Difference*). O erro de calibração foi da ordem de 0,68% e foram utilizadas duas variáveis latentes (VL) na proposição dos modelos.

FIGURA 4.4 – Dados da calibração da camada C do pellet.

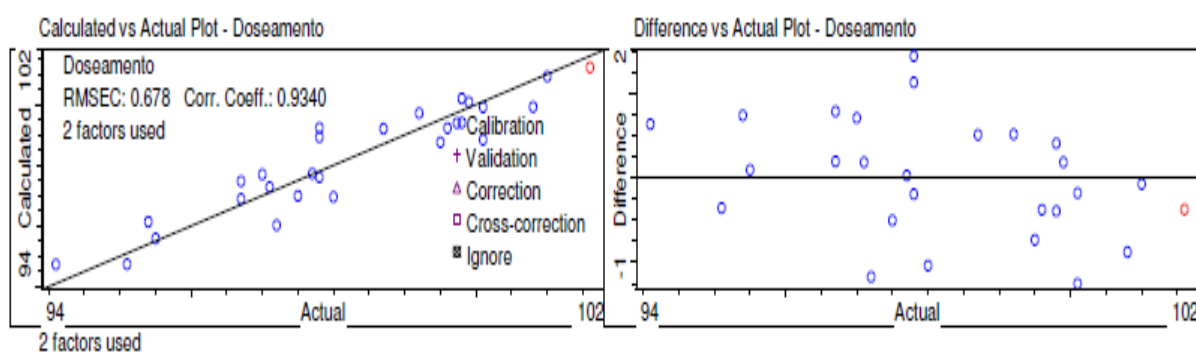
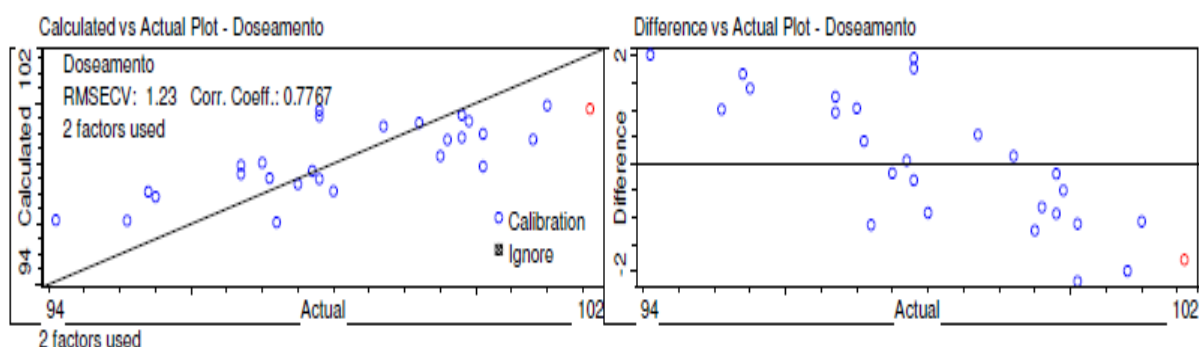


FIGURA 4.5 – Dados da validação da camada C do pellet.



A TABELA 4.2 mostra os resultados da camada C do pellet nos lotes produzidos e analisados pelos métodos de referência e desenvolvido por NIR. Observa-se que os resultados das amostras são semelhantes e atendem a especificação de 95,0% a 105,0%, comprovando que o método desenvolvido contempla a finalidade proposta de substituir, ou pelo menos minimizar o emprego do método de referência.

TABELA 4.2 – Comparativo dos resultados obtidos da camada C do pellet utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.

Lote 21E0255 (método de referência)	Lote 21E0255 (NIR)
100,2%	98,3%
100,2%	98,4%
Lote 21E0256 (método de referência)	Lote 21E0256 (NIR)
100,2%	98,6%
100,2%	98,7%
Lote 21F0006 (método de referência)	Lote 21F0006 (NIR)
98,0%	98,4%
97,9%	97,8%

Especificação: 95,0% a 105,0%.

4.3. CAMADA B DO PELLET

4.3.1. Camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos)

As FIGURA 4.6 e FIGURA 4.7 mostram os resultados obtidos para as amostras de calibração (FIGURA 4.6) e validação (FIGURA 4.7) para a camada B (tempo de coleta de 90 minutos). Todos os cálculos foram realizados utilizando o próprio programa do equipamento e inicialmente temos o valor real (*Actual*) versus o previsto (*Calculated*). Além disso, é mostrado também os resíduos (*Difference*). O erro de calibração foi da ordem de 1,48% e foram utilizadas duas variáveis latentes (VL) na proposição dos modelos.

FIGURA 4.6 – Dados da calibração da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos).

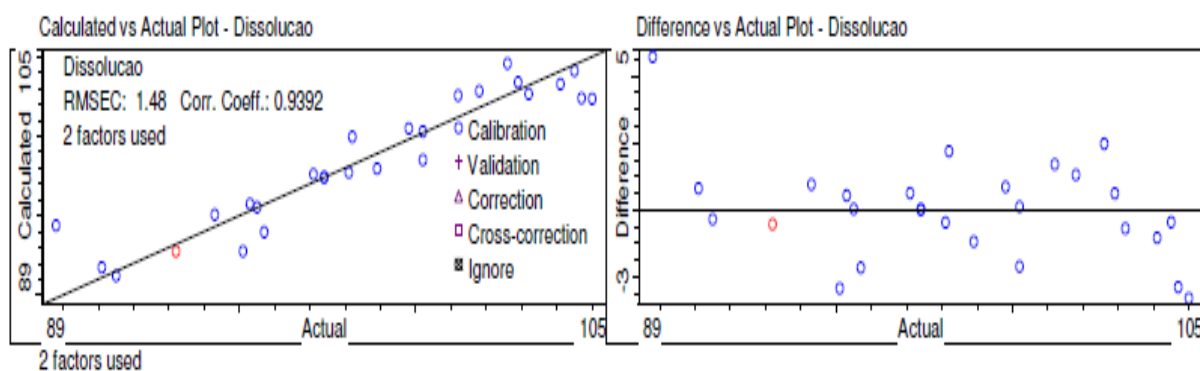
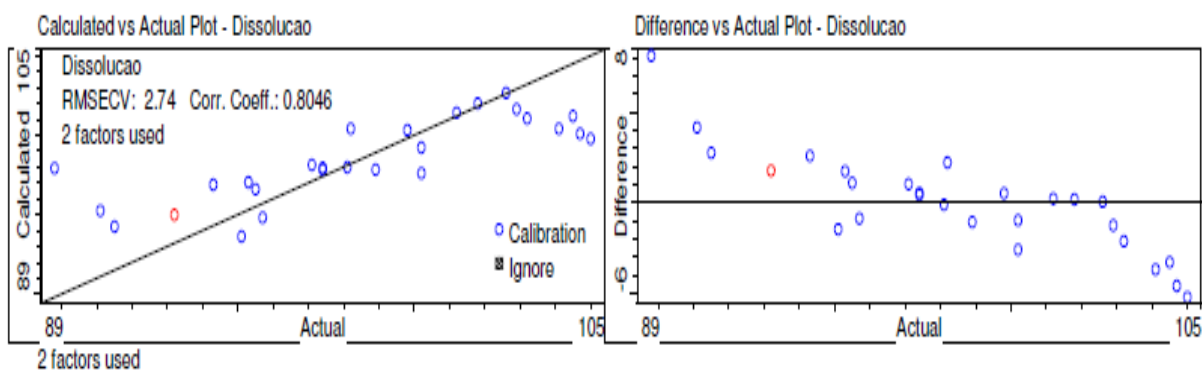


FIGURA 4.7 – Dados da validação da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos).



A TABELA 4.3 demonstra os resultados da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos) nos lotes produzidos e analisados pelos métodos de referência e desenvolvido por NIR. Observa-se que os resultados das amostras atendem a especificação de 90% a 110%, comprovando que o método desenvolvido atende a finalidade proposta de substituir o método de referência.

TABELA 4.3 – Comparativo dos resultados obtidos da camada B do pellet (tempo de coleta de 90 minutos) utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.

Lote 21E0255 (método de referência)	Lote 21E0255 (NIR)
99,9%	99,3%
101,1%	100,7%
Lote 21E0256 (método de referência)	Lote 21E0256 (NIR)
99,0%	94,3%
108,1%	96,3%
Lote 21F0006 (método de referência)	Lote 21F0006 (NIR)
106,0%	98,0%
97,5%	98,5%

Especificação: 90% a 110%.

4.3.2. Camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos)

As FIGURA 4.8 e FIGURA 4.9 mostram os resultados obtidos para as amostras de calibração (FIGURA 4.8) e validação (FIGURA 4.9) para a camada B (tempo de coleta de 30 minutos). Todos os cálculos foram realizados utilizando o próprio programa do equipamento e inicialmente temos o valor real (*Actual*) versus o previsto (*Calculated*). Além disso, é mostrado também os resíduos (*Difference*). O erro de calibração foi da ordem de 2,27% e foram utilizadas duas variáveis latentes (VL) na proposição dos modelos.

FIGURA 4.8 – Dados da calibração da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos).

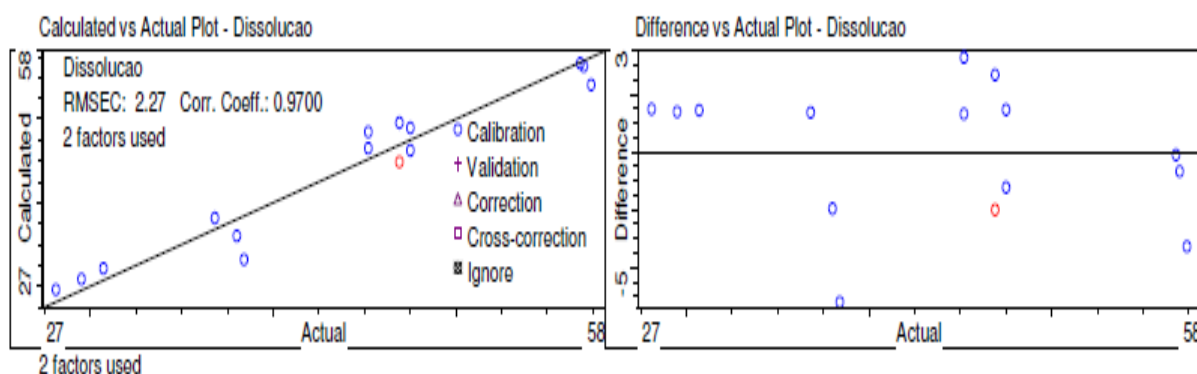
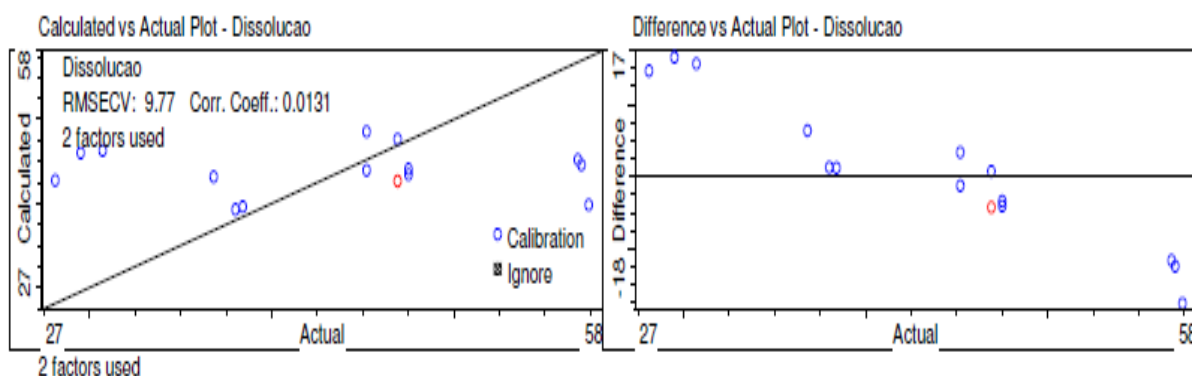


FIGURA 4.9 – Dados da validação da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos).



A TABELA 4.4 demonstra os resultados da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos) nos lotes produzidos e analisados pelos métodos de referência e desenvolvido por NIR. Observa-se que os resultados das amostras atendem a especificação de 40% a 60%, comprovando que o método desenvolvido atende a finalidade proposta de substituir o método de referência.

TABELA 4.4 – Comparativo dos resultados obtidos da camada B do pellet (tempo de coleta de 30 minutos) utilizando o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência e pelo método desenvolvido por espectroscópio na região do infravermelho próximo.

Lote 21E0255 (método de referência)	Lote 21E0255 (NIR)
46,5%	58,2%
53,5%	56,4%
Lote 21E0256 (método de referência)	Lote 21E0256 (NIR)
52,8%	47,1%
47,7%	48,0%
Lote 21F0006 (método de referência)	Lote 21F0006 (NIR)
54,7%	56,5%
56,5%	59,2%

Especificação: 40% a 60%.

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O valor RMSEC descreve o grau de concordância entre a concentração real e a estimada pelo modelo nas amostras do conjunto de calibração. É comum que esse parâmetro apresente valores baixos, indicando que a capacidade preditiva do conjunto de calibração é boa. Para certificar essa afirmação, o modelo proposto foi validado empregando a validação cruzada com o método *leave-one-out*, onde uma amostra do conjunto de calibração é deixada de fora durante o cálculo do modelo e posteriormente a concentração do ativo nessa amostra é prevista pelo modelo construído [37], [38].

Os valores de R^2 foram 0,9620 e 0,9340 para as camadas A e C, respectivamente, e os valores de RMSEC 1,13% e 0,68%. Para a camada B, os valores de R^2 foram 0,9392 e 0,9700 para os tempos de coleta 90 e 30 minutos, respectivamente, e o valores de RMSEC 1,48% e 2,27%.

O RMSECV foi a métrica de erro utilizada para avaliar a validação cruzada. Os valores de R^2 foram 0,9355 e 0,7767 para as camadas A e C, respectivamente, e o valores de RMSECV foram 1,49% e 1,23%. Para a camada B, os valores de R^2 foram 0,8046 e 0,0131 para os tempos de coleta 90 e 30 minutos respectivamente, e o valores de RMSECV 2,74% e 9,77%.

Para selecionar qual modelo deve ser utilizado, foi comparado os valores de R^2 e de RMSEC em relação ao R^2 e RMSECV.

Os valores de R^2 para as camadas A, C e B foram menores na validação cruzada, indicando que a correlação ficou menor quando comparada com a calibração multivariada. Isso foi corroborado quando RMSECV ficou maior que RMSEC, refletindo em um maior erro preditivo.

Além disso, os resultados obtidos pelo método por NIR são coerentes com aquele do método atual e encontra-se dentro da especificação definida para cada camada.

No entanto, para o tempo de coleta em 30 minutos da camada B, os valores de RMSEC e RMSECV são considerados altos, 2,27% e 9,77% para a faixa de trabalho utilizada, e os valores obtidos de R^2 para calibração e validação, 0,9700 e 0,0131, respectivamente, estão abaixo do esperado. Esses resultados podem ter sido

ocasionados pelo desenvolvimento do método ser realizado com dados gerados anteriores ao início do projeto de mestrado profissional, pela pouca quantidade de amostras utilizadas na calibração e uma faixa de especificação estreita adotada para o tempo de coleta nesta camada.

6. IMPACTO PARA A EMPRESA

Este projeto de mestrado profissional proporcionou para a empresa um desenvolvimento robusto do método analítico, agilidade para o processo de fabricação do medicamento, e economia de materiais analíticos durante a análise das amostras de controle em processo no Controle de Qualidade.

Um método analítico otimizado aumenta a velocidade de liberação dos intermediários no Controle de Qualidade, acarretando redução no tempo de produção dos lotes dos pellets, e aumento do rendimento esperado da comercialização do medicamento.

O projeto também ocasionou economia financeira devido ao custo relativamente baixo do equipamento, metodologia analítica de execução rápida e simples, redução do custo operacional, mínimo preparo das amostras antes das análises e não utilização de reagentes químicos.

Ainda, ao avaliar o ciclo de vida de um produto na empresa, é verificada a necessidade da retroalimentação com novos dados adquiridos ao longo do tempo. Isso decorre do recebimento de diferentes lotes de IFA e excipientes utilizados na produção dos pellets, alterações dos equipamentos utilizados durante a produção e alterações ocasionadas durante o processo de produção. Dessa forma, o método analítico desenvolvido se manterá robusto, preciso e exato durante toda a existência do medicamento na empresa.

Além disso, o conhecimento adquirido neste projeto de mestrado profissional será disseminado com o intuito de multiplicar o aprendizado e dar celeridade para o desenvolvimento de outros projetos da empresa.

7. CONCLUSÃO

As modelagens executadas, com um número reduzido de amostras, mostraram-se promissoras, com valores satisfatórios de %variância descrita e melhores valores de RMSEC. Dessa forma, foi possível comparar com a validação cruzada avaliando o RMSECV que demonstrou menor correlação dos resultados, além de apresentar maior erro preditivo.

Sendo assim, observou-se boa concordância entre os doseamentos do ativo determinados pelo método de referência e os valores obtidos pelo método baseado em espectroscopia no infravermelho próximo, e resultados dentro da especificação definida para as camadas A e C. Dessa forma, conclui-se que os dois métodos são equivalentes para a análise de doseamento do ativo nas camadas A e C do pellet.

Para a camada B do pellet, a mesma boa concordância foi observada para os resultados de dissolução com tempo de coleta em 90 minutos utilizando os dois métodos analíticos. No entanto, para a dissolução com tempo de coleta em 30 minutos, os valores de RMSEC e RMSECV são considerados altos para a faixa de trabalho utilizada, e os valores obtidos para R^2 para calibração e validação estão abaixo do esperado, não permitindo uma equivalência entre os métodos utilizados.

Assim, o método desenvolvido por NIR para o doseamento do ativo nas camadas A e C do pellet poderá ser utilizado nas análises de controle em processo durante a produção do pellet, aumentando a velocidade de liberação dos intermediários no Controle de Qualidade, reduzindo os custos, diminuindo o tempo de produção dos lotes do produto, e aumentando o rendimento esperado da comercialização do medicamento.

8. REFERÊNCIAS

- [1] Interfarma, “Guia Interfarma 2022,” 2022. [Online]. Available: <https://www.interfarma.org.br/wp-content/uploads/2022/08/Guia-Interfarma-2022.pdf>. [Acesso em 13 Fevereiro 2023].
- [2] A. N. d. V. S. (Anvisa), “Lei nº 9.782, de 26 de janeiro 1999,” 26 Janeiro 1999. [Online]. Available: <https://www.gov.br/pt-br/orgaos/agencia-nacional-de-vigilancia-sanitaria>. [Acesso em 04 Setembro 2021].
- [3] “Libbs,” Libbs Farmacêutica Ltda., [Online]. Available: <https://www.libbs.com.br/sobre-nos/quem-somos/>. [Acesso em 10 Novembro 2022].
- [4] A. N. d. V. S. (Anvisa), “Resolução - RDC 301 de 21 agosto de 2019: Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.,” 2019.
- [5] J. Märk, M. Karner, M. Andre, J. Rueland e C. W. Huck, “Online Process Control of a Pharmaceutical Intermediate in a Fluidized-Bed Drier Environment Using Near-Infrared Spectroscopy,” *Analytical Chemistry*, vol. 82, nº 10, p. 4209–4215, 2010.
- [6] A. S. Araújo, D. F. Andrade, D. V. Babos, J. P. Castro, J. A. Garcia, M. A. Sperança, R. R. Gamela, R. C. Machado, V. C. Costa, W. N. Guedes, E. R. Pereira-Filho e F. M. V. Pereira, “Key Information Related to Quality by Design (QbD) Applications in Analytical Methods Development,” *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, vol. 8, pp. 14-28, 2021.
- [7] M. P. Venkatesh, “Quality by design: the tool for regulatory compliance,” *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 10, pp. 1095-1100, 2019.
- [8] H. Bhutani, M. Kurmi, S. Singh, S. Beg e B. Singh, “Quality by Design (QbD) in Analytical Sciences: An Overview,” *Pharma Times*, vol. 46, nº 08, 2014.
-

- [9] G. Shi, B. Xu, Z. Zhang, C. Yang, S. Dai, Z. Lin, X. Shi, J. Fu e Y. Qiao, "Raw Material Variability and Its Impact on the Online Adaptive Control of Cohesive Powder Blend Homogeneity Using NIR Spectroscopy," *Processes*, vol. 7, 2019.
- [10] J. Palmer, "Opportunities for Process Control and Quality Assurance Using Online NIR Analysis to a Continuous Wet Granulation Tableting Line," *Journal of Pharmaceutical Innovation*, vol. 15, pp. 26-40, 2020.
- [11] C. R. Avila, J. Ferré, R. R. d. Oliveira, A. d. Juan, W. E. Sinclair, F. M. Mahdi, A. Hassanpour, N. T. Hunter, R. A. Bourne e L. F. Muller, "Process Monitoring of Moisture Content and Mass Transfer Rate in a Fluidised Bed with a Low Cost Inline MEMS NIR Sensor," *Pharmaceutical Research*, p. 37: 84, 2020.
- [12] S. Kern, L. Wander, K. Meyer, S. Guhk, A. R. G. Mikkula, M. Holtkamp, M. Salge, C. Fleischer, N. Webwe, R. King, S. Engell, A. Paul, M. P. Remelhe e M. Maiwald, "Flexible automation with compact NMR spectroscopy for continuous production of pharmaceuticals," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, p. 411:3037–3046, 2019.
- [13] D. A. Skoog, F. J. Holler e T. A. Nieman, *Princípios de Análise Instrumental*, Bookman, 2002.
- [14] C. Pasquini, "Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications," *Chem. Soc. vol. 14, nº 2*, pp. 198-219, 2003.
- [15] M. Blanco, "Near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical industry," *The Analyst vol. 123*, pp. 135R-150R, Agosto 1998.
- [16] W. C. Donald e E. Burns, *Handbook of Near-Infrared Analysis*, New York: Taylor & Francis, 2008.
- [17] C. A. Anderson, J. K. Drennen e E. W. Ciurczak, *Handbook of Near-Infrared Analysis*, CRC Press, 2008.
- [18] M. Sagarruça, A. Cruz, S. Soares, H. Amaral, P. Costa e J. Lopes, "Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis - Volume 52*, pp. 484-492, Agosto 2010.
-

-
- [19] M. Jamrógiewicz, "Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis - Volume 66*, pp. 1-10, Julho 2012.
- [20] L. C. Viana, "Modelos de calibração e a espectroscopia no infravermelho próximo para predição das propriedades químicas e da densidade básica na madeira de Eucalyptus," *Ciência Florestal vol. 20, nº 2*, pp. 367-376, Abril-Junho 2010.
- [21] E. R. Pereira Filho, Planejamento fatorial em química, São Carlos: EdUFSCar, 2018.
- [22] B. Igne, B. M. Zacour, Z. Shi, S. Talwar, C. A. Anderson e J. K. Drennen III, "Online Monitoring of Pharmaceutical Materials Using Multiple NIR Sensors—Part I: Blend Homogeneity," *J Pharm Innov*, vol. 6, p. 47–59, 2011.
- [23] B. Igne, S. Talwar, J. K. Drennen III e C. A. Anderson, "Online Monitoring of Pharmaceutical Materials Using Multiple NIR Sensors—Part II: Blend End-point Determination," *J Pharm Innov*, vol. 8, pp. 45-55, 2013.
- [24] J. Burgbacher e J. Wiss, "Industrial Applications of Online Monitoring of Drying Processes of Drug Substances Using NIR," *Organic Process Research & Development*, vol. 12, p. 235–242, 2008.
- [25] M. M. C. Ferreira, Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações, Campinas: Unicamp, 2015.
- [26] G. d. Brasil, "Saúde e Vigilância," 03 Maio 2021. [Online]. Available: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2021/05/saiba-como-descobrir-e-prevenir-a-hipertensao-arterial>. [Acesso em 04 Setembro 2021].
- [27] Libbs Farmacêutica Ltda., "Bula do medicamento," 2019.
- [28] C. H. Collins, "O que é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)," *Química Nova*, pp. 46-49, Abril 1983.
- [29] C. E. d. C. Magalhães, "Amostragem de suspensões: Emprego da técnica na análise direta de amostras," *Química Nova vol. 21 nº 4*, pp. 459-466, Julho 1998.
-

-
- [30] D. F. A. D. V. B. J. P. C. J. A. G. M. A. S. R. R. G. R. C. M. V. C. C. W. N. G. E. R. P.-F. e. F. M. V. P. A. S. Araújo, "Key Information Related to Quality by Design (QbD) Applications in Analytical Methods Development," *Brazilian Journal of Analytical Chemistry* vol 8, pp. 14-28, 29 Janeiro 2022.
- [31] FDA - U.S. Department of Health and Human Services, "Development and Submission of Near Infrared Analytical Procedures - Guidance for Industry," 2021.
- [32] A. P. Nogueira, "Espectroscopia NIR: Uma proposta sustentável para análise da qualidade do café sombreado do maciço de baturité, Ceará," *Educação ambiental em ação*, nº 69, 2019.
- [33] M. A. Morgano, "Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada," *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 1, nº 28, pp. 12-17, 2008.
- [34] A. M. d. Souza, "Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo," *Química Nova*, vol. 7, nº 36, 2013.
- [35] R. Singh, A. Sahay, K. M. Karry, F. Muzzio, M. Ierapetritou e R. Ramachandran, "Implementation of an advanced hybrid MPC–PID control system using PAT tools into a direct compaction continuous pharmaceutical tablet manufacturing pilot plant," *International Journal of Pharmaceutics*, pp. 38-54, 2014.
- [36] G. I. B. d. Muñiz, "Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal," *Ciência Florestal*, vol. 22, nº 4, pp. 865-875, 2012.
- [37] T. V. Silva, "Exploração de técnicas analíticas limpas para a avaliação da qualidade de café," [Online]. Available: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/154272/silva_tv_dr_araiq_par.pdf?sequence=3&isAllowed=y. [Acesso em 29 Janeiro 2022].
- [38] S. R. Dib, "Desenvolvimento de métodos analíticos limpos para identificação e classificação de milho transgênico e não transgênico," 2021. [Online]. Available:
-

file:///C:/Users/nataliavs/Downloads/dib_sr_dr_araiq_int%20(1).pdf. [Acesso em 29 Janeiro 2022].
