



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

**Redesenvolvimento de um medicamento injetável
utilizando conceitos *Quality by design (QbD)* e *Design of
experiments (DoE)***

Michele Cristina Alecrim de Lima Aguiar

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

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

*** Vínculo Empregatício: DFL Indústria e Comércio S.A.**

**São Carlos - SP
2024**



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 Michele Cristina Alecrim de Lima Aguilar, realizada em 26/03/2024.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho (UFSCar)

Prof. Dr. Murilo de Oliveira Souza (IFES)

Profa. Dra. Fernanda Araújo Honorato (UFPE)

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

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”
(Cora Coralina)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pela paciência e suporte, principalmente meu marido e companheiro de vida Diego Rodrigues Aguilár e meus filhos Joaquim e Helena.

Agradeço aos meus pais Gorete e Tadeu por sempre me incentivarem à estudar e buscar realizar meus sonhos.

Agradeço ao Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho, meu orientador, por compartilhar de forma incansável seus conhecimentos, que me possibilitaram evoluir tecnicamente na minha carreira e me tornar uma profissional melhor.

À empresa DFL por todo apoio nesse trabalho e disponibilidade dos recursos para que esse projeto fosse possível, em especial ao Rafael Cisne, Nathalie Souza e Felipe Teixeira.

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

LISTA DE ABREVIATURAS

Anova	<i>Analysis of variance</i>
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CMA	<i>Critical Material Attribute</i> (Atributos Críticos de Material)
CPP	<i>Critical Process Parameter</i> (Parâmetros Críticos de Processo)
CQA	<i>Critical Quality Attribute</i> (Atributos Críticos de Qualidade)
DAD	<i>Diode Array Detector</i>
DFL	DFL Indústria e Comércio SA
DoE	<i>Design of experiments</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FLD	<i>Fluorescence Detector</i>
g.l.	graus de liberdade
GR	Gerenciamento de Risco
IC	Intervalo de Confiança
ICH	<i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
LQ	Limite de Quantificação
MQ	Média Quadrática
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
PDA	<i>Parenteral Drug Association</i>
NA	Não aplicável
QbD	<i>Quality by design</i>
QbT	<i>Quality by test</i>
QTPP	<i>Quality Target Product Profile</i>
SQ	Soma quadrática da regressão
SQEP	Soma quadrática do erro puro
UR	Umidade Relativa

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1: Levantamento das formulações registradas no mundo com mesmos princípios ativos e ação do medicamento em redesenvolvimento.....	16
TABELA 4.2: Avaliação inicial de risco das variáveis de formulação.....	19
TABELA 4.3: Justificativa para a avaliação inicial de risco das variáveis de formulação.....	20
TABELA 4.4: Variáveis e respostas para definição de formulação.....	22
TABELA 4.5: Variáveis e respostas para definição de processo.....	22
TABELA 4.6: Variáveis e respostas para avaliação da robustez do método analítico Ativo 1.....	26
TABELA 4.7: Variáveis e respostas para avaliação da robustez do método analítico Ativo 2.....	26
TABELA 4.8: Critérios para avaliação da Regressão nos modelos calculados.....	27
TABELA 5.9: Planejamento fatorial para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).....	29
TABELA 5.10 (parte 1): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).....	30
TABELA 5.11 (parte 2): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).....	31
TABELA 5.12: Planejamento fatorial completo para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #2).....	35
TABELA 5.13: Resultados experimentais do <i>DoE</i> para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #2).....	36
TABELA 5.14: Tabela Anova para Y2.....	39
TABELA 5.15: Tabela Anova para Y3.....	39
TABELA 5.16: Tabela Anova para Y4.....	40
TABELA 5.17: Tabela Anova para Y1.....	41
TABELA 5.18: Tabela Anova para Y2.....	41
TABELA 5.19: Tabela Anova para Y3.....	42
TABELA 5.20: Tabela Anova para Y4.....	42
TABELA 5.21: Tabela com os coeficientes de regressão para Y4.....	43
TABELA 5.22: Tabela Anova do modelo recalculado para Y4.....	44
TABELA 5.23: Tabela com os coeficientes de regressão para Y4 do modelo recalculado.....	44
TABELA 5.24: Formulação fechada qualitativamente após os experimentos Definição de formulação #1 e #2.....	46
TABELA 5.25: Planejamento fatorial completo para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3).....	47
TABELA 5.26: Resultados experimentais do <i>DoE</i> para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3).....	48
TABELA 5.27: Planejamento fatorial completo 2 ² para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3) em condição mais drástica de degradação.....	50
TABELA 5.28: Resultados experimentais do <i>DoE</i> para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3) em condição mais drástica de degradação.....	51
TABELA 5.29: TABELA Anovado modelo recalculado para Y2.....	52
TABELA 5.30: Tabela Anova do modelo recalculado para Y3.....	52
TABELA 5.31: Tabela com os coeficientes de regressão para Y2.....	53
TABELA 5.32: Tabela com os coeficientes de regressão para Y3.....	53
TABELA 5.33: TABELA com a definição qualitativa e quantitativa da formulação.....	54
TABELA 5.34: Planejamento fatorial fracionário 2 ⁴⁻¹ para triagem das variáveis de processo.....	54
TABELA 5.35: Resultados experimentais do <i>DoE</i> para triagem das variáveis de processo.....	55
TABELA 5.36: Tabela Anova do modelo calculado para Y1.....	56
TABELA 5.37: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y1.....	56
TABELA 5.38: Tabela Anova do modelo calculado para a Y2.....	57
TABELA 5.39: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y2.....	57

TABELA 5.40: Tabela Anova do modelo calculado para a Y3.....	58
TABELA 5.41: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y3.....	58
TABELA 5.42: Planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.....	59
TABELA 5.43 (parte 1): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.....	60
TABELA 5.44 (parte 2): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.....	61
TABELA 5.45: Tabela Anova do modelo calculado para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).....	61
TABELA 5.46: Tabela com os coeficientes de regressão para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).	62
TABELA 5.47: Tabela Anova do modelo recalculado para a resposta Recuperação do ativo 1 (%)....	63
TABELA 5.48: Tabela com os coeficientes recalculados de regressão para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).	63
TABELA 5.49: Planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.....	68
TABELA 5.50 (parte 1): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.....	69
TABELA 5.51 (parte 2): Resultados experimentais do <i>DoE</i> para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.....	70
TABELA 5.52: Tabela Anova do modelo calculado para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).....	70
TABELA 5.53: Tabela com os coeficientes de regressão para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).	71
TABELA 5.54: Tabela Anova do modelo recalculado para a resposta Recuperação do ativo 2 (%)....	72
TABELA 5.55: Tabela com os coeficientes recalculados de regressão para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).	72

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1: Fluxograma de desenvolvimento de medicamento seguindo a abordagem <i>QbT</i> .	6
FIGURA 3.2: Representação esquemática entre Variáveis de formulação, CMAs, CPPs e CQAs.	8
FIGURA 3.3: Fluxograma de desenvolvimento de medicamento seguindo a abordagem <i>QbD</i> .	9
FIGURA 3.4: Exemplo de GR para um medicamento de uso nasal utilizando Matriz C&E.	12
FIGURA 3.5: Exemplo de GR para um medicamento sólido oral utilizando Matriz C&E.	12
FIGURA 3.6: Relação entre perfil de degradação "potencial", obtido no estudo de degradação forçada, e o perfil de degradação "real", obtido no estudo de estabilidade de longa duração.	15
FIGURA 4.7: Fluxograma do projeto contendo as etapas do projeto, estudos realizados e os resultados esperados.	18
FIGURA 4.8: Material de embalagem primária (tubete de vidro, êmbolo e selo de borracha, e lacre de alumínio) do medicamento em redesenvolvimento.	24
FIGURA 5.9: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.	32
FIGURA 5.10: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.	32
FIGURA 5.11: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.	32
FIGURA 5.12: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y4.	33
FIGURA 5.13: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.	37
FIGURA 5.14: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.	37
FIGURA 5.15: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.	37
FIGURA 5.16: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y4.	38
FIGURA 5.17: Gráfico dos coeficientes de regressão para Y4.	43
FIGURA 5.18: Superfície de resposta (a) e gráfico de contorno (b) para o modelo gerado.	45
FIGURA 5.19: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.	49
FIGURA 5.20: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.	49
FIGURA 5.21: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.	49
FIGURA 5.22: <i>Print</i> da ferramenta Geração de número aleatório do Excel® utilizado para verificação do <i>desing space</i> .	64
FIGURA 5.23: <i>Print</i> dos dados gerados no Excel® para verificação do <i>desing space</i> com números aleatórios em todas as variáveis.	65
FIGURA 5.24: <i>Print</i> dos dados gerados no Excel® para verificação do <i>desing space</i> com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 1.	66
FIGURA 5.25: <i>Print</i> dos dados gerados no Excel® para verificação do <i>desing space</i> com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 2.	67
FIGURA 5.26: <i>Print</i> dos dados gerados no Excel® para verificação do <i>desing space</i> com números aleatórios em todas as variáveis.	74
FIGURA 5.27: <i>Print</i> dos dados gerados no Excel® para verificação do <i>desing space</i> com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 1.	75

FIGURA 5.28: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 2..... 76

RESUMO

REDESENVOLVIMENTO DE UM MEDICAMENTO INJETÁVEL UTILIZANDO CONCEITOS *QUALITY BY DESIGN (QBD)* E *DESIGN OF EXPERIMENTS (DOE)*

Este estudo visou o redesenvolvimento de um medicamento similar com associação de dois ativos na forma farmacêutica solução injetável. A parte experimental empregou a abordagem *Quality by Design (QbD)* com a finalidade de obter uma maior compreensão do produto e processo, visando reduzir os riscos de desvios durante a fabricação comercial do medicamento. Devido à dificuldade de estabilização do teor de um dos ativos, que é lábil em solução na presença de calor, luz e oxigênio, este redesenvolvimento apresenta um desafio considerável, portanto, a utilização do *QbD* é recomendável. As variáveis de formulação e processo com potencial impacto nos atributos de qualidade do produto foram definidas utilizando a ferramenta de análise de risco Matriz de Causa e Efeito. Ao longo do tempo foram executados quarenta e nove experimentos em escala laboratorial (6,5 L) utilizando planejamento de experimentos (*Design of experiments, DoE*), com o intuito de definir e otimizar qualitativa e quantitativamente os excipientes e avaliar o impacto das variáveis de processo. Todas as formulações foram analisadas imediatamente após a execução dos experimentos e posteriormente à exposição das amostras em estudo de degradação forçada (60°C/75%UR por 14 dias). As respostas (*Critical Quality Attribute, CQAs*) avaliadas nos experimentos foram: redução no teor dos dois ativos e menor formação de impurezas após os estudos de degradação forçada. Os experimentos demonstraram que: (i) o ativo 1 é estável e as variáveis irrelevantes nos níveis testados, (ii) a presença dos excipientes antioxidantes 1 ou 2 reduz a degradação do ativo 2 e a formação de sua impureza conhecida, sem diferenciação entre eles, sendo definido o excipiente 2 por ser utilizado em outro medicamento da empresa e historicamente estável e (iii) definida a formulação com o sal de potássio visto que os experimentos com esse sal tiveram menor formação de impurezas individuais desconhecidas do ativo 2. Novos experimentos foram realizados para verificar quantitativamente os dois excipientes definidos no primeiro estudo de triagem e foram executados experimentos avaliando os parâmetros críticos de processo, sendo que no intervalo estudado observou-se uma robustez no processo, ou seja, nenhuma variável mostrou-se relevante.

Palavras-chave: *Quality by design, QbD, Planejamento de experimentos, DoE, Reformulação de medicamento, solução injetável, ICH.*

ABSTRACT

REDEVELOPMENT OF AN INJECTABLE MEDICINE USING QUALITY BY DESIGN (QbD) AND DESIGN OF EXPERIMENTS (DOE) CONCEPTS

This study redeveloped a similar pharmaceutical product with a combination of two active ingredients in the form of an injectable solution. The experimental part used the Quality by Design (QbD) approach with the aim of obtaining a greater understanding of the product and process, aiming to reduce the risks of deviations during the commercial manufacture of the medicine. Due to the difficulty of stabilizing the content of one of the active ingredients, which is labile in solution in the presence of heat, light and oxygen, this redevelopment presents a considerable challenge, therefore, the use of QbD is recommended. Formulation and process variables with potential impact on product quality attributes were defined using the Cause and Effect Matrix risk analysis tool. Over time, forty-nine experiments were carried out on a laboratory scale (6.5 L) using experimental planning (Design of experiments, DoE), with the aim of defining and optimizing qualitatively and quantitatively the excipients and evaluating the impact of the variables of process. All formulations were analyzed immediately after carrying out the experiments and after exposing the samples to a forced degradation study (60°C/75%RH for 14 days). The responses (Critical Quality Attribute, CQAs) evaluated in the experiments were: reduction in the content of the two active ingredients and less formation of impurities after forced degradation studies. The experiments demonstrated that: (i) active 1 is stable and the variables are irrelevant at the levels tested, (ii) the presence of antioxidant excipients 1 or 2 reduces the degradation of active 2 and the formation of its known impurity, without differentiation between them, with excipient 2 being defined because it is used in another company medicine and historically stable and (iii) the formulation with potassium salt was defined since experiments with this salt had less formation of unknown individual impurities of active ingredient 2. New experiments were carried out to quantitatively verify the two excipients defined in the first screening study and experiments were carried out evaluating the critical process parameters, and in the range studied, robustness was observed in the process, that is, no variable proved to be relevant.

Keywords: Quality by design, QbD, Experiment planning, DoE, Drug reformulation, injectable solution, ICH.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	iv
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS	3
2.1. Objetivos	3
2.2. Justificativas	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Desenvolvimento de medicamentos	5
3.2. Abordagem <i>QbD</i>	7
3.3. Gerenciamento de risco - GR	9
3.4. Planejamento de experimentos (<i>Design of experiments, DoE</i>)	12
3.5. Estudos de degradação forçada	14
3.6. Medicamentos similares comercializados no mundo	15
3.7. Utilização de <i>Design of Experiments (DoE)</i> na avaliação da Robustez de métodos analíticos	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1. Etapas do Projeto	18
4.2. Estudos realizados nos experimentos	23
4.3. Avaliação dos resultados	25
4.4. Robustez dos métodos analíticos	25
4.5. Critérios para avaliação da Regressão	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1. Desenvolvimento de Formulação: avaliação do impacto utilizando diferentes tipos de antioxidantes	28
5.2. Desenvolvimento de Formulação: avaliação do impacto do tipo do antioxidante (Excipiente 1 e/ou 2)	34
5.3. Otimização da Formulação	47
5.4. Impacto das variáveis do processo na estabilidade da formulação	54
5.5. Robustez dos métodos analíticos	59
6. CONCLUSÕES	78
7. REFERÊNCIAS	79
GLOSSÁRIO	84

1. INTRODUÇÃO

O mercado brasileiro de medicamentos ocupa a 10^a posição em faturamento no ranking das 20 principais economias mundiais. Na América Latina, o Brasil está na primeira posição e movimentou cerca de R\$ 107 bilhões em 2022, o que representou aproximadamente 2% do mercado mundial [1].

O setor farmacêutico nacional é regulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) criada pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro 1999, a qual compete promover a proteção da saúde da população por meio do controle sanitário nas etapas de produção, comercialização e uso de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária. Além disso, a Anvisa também promove ações nos ambientes, nos processos, nos insumos e nas tecnologias relacionados ao setor, e no controle de portos, aeroportos, fronteiras e recintos alfandegários [2].

A DFL Indústria e Comércio SA (DFL) foi fundada em 1939 com sede no Polo Farmacêutico de Jacarepaguá, Rio de Janeiro e é líder no mercado de anestésicos odontológicos no Brasil. A empresa exporta seus produtos para mais de 61 países, e possui além do Certificado de Boas Práticas de Fabricação vigente pela Anvisa, a certificação ISO 13485:2016, que regulamenta a segurança e eficácia em produtos e serviços no mercado médico. A DFL possui também a certificação FDA (*Food and Drug Administration*), agência federal dos Estados Unidos, que certifica os produtos e dispositivos médicos. A empresa possui no portfólio: anestésicos, agulha gengival, silicones, ionômeros, clareadores, entre outros produtos. Possui mais de 300 colaboradores [3] e vem aumentando seu investimento em pesquisa e desenvolvimento (P&D) com a inauguração em 2022 de seu novo laboratório de pesquisa.

Além dos elevados investimentos da empresa, da ordem de R\$ 7 milhões, e dos esforços para estabelecer melhorias contínuas, pode ser mencionada também a implementação de uma nova abordagem no desenvolvimento de produtos, utilizando os conceitos modernos e alinhados com legislações internacionais. Tais abordagens estão relacionadas com *Quality by design (QbD)*. Essa demanda surgiu após o ingresso da Anvisa no comitê gestor do Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use – ICH*).

Desde 2018, a Anvisa é membro do *ICH*. O Conselho reúne autoridades regulatórias e a indústria farmacêutica de diversos países com objetivo de discutir aspectos científicos e técnicos do desenvolvimento e registro de produtos farmacêuticos.

O ingresso da Anvisa no *ICH* impulsionou uma atualização das regulamentações nacionais [4], com a finalidade de harmonização aos guias internacionais, o que trouxe uma necessidade de as indústrias brasileiras buscarem novas abordagens e ampliarem seus conhecimentos no desenvolvimento de produtos. Neste cenário, os conceitos de *QbD* começaram a ser discutidos nas regulamentações de Boas Práticas de Fabricação [5]. O *QbD* é uma abordagem sistemática que se inicia com objetivos pré-definidos e enfatiza o conhecimento/entendimento dos produtos, dos processos e dos controles em processos, sendo baseado/suportado pela ciência e pelo gerenciamento de risco (GR) da qualidade [6].

Sendo assim, essa dissertação de mestrado profissional implementou os conceitos de *QbD* no redesenvolvimento de um medicamento solução injetável para a anestesia local. O medicamento alvo possui dois ativos: um anestésico com concentração na ordem de miligramas/mL (Ativo 1) e o outro vasoconstritor na ordem de microgramas/mL (Ativo 2), por questões de confidencialidade, os ativos e excipientes do medicamento serão codificados nesta dissertação. A utilização do *QbD* é recomendável a este redesenvolvimento devido à dificuldade de estabilização do teor de um dos ativos, que é lábil em solução na presença de calor, luz e oxigênio, ou seja, este redesenvolvimento apresenta um desafio considerável.

2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

2.1. Objetivos

Esta dissertação de mestrado profissional tem como objetivo redesenvolver um medicamento na forma farmacêutica solução injetável utilizando a abordagem *QbD*. Assim, possui como finalidade a compreensão de forma mais profunda da formulação e do processo de fabricação, buscando uma formulação mais estável e robusta. Além disso, este trabalho visa implementar essa abordagem, baseada em risco, em todos os processos de desenvolvimento e de pós-registro da empresa DFL.

2.2. Justificativas

Desde 2009, após um grupo investidor adquirir a empresa, a DFL vem passando por contundentes mudanças internas na gestão e estrutura, como modernização da planta fabril e dos laboratórios de controle de qualidade e P&D. Neste cenário, a empresa buscou reavaliar os produtos do portfólio, a fim de verificar o atendimento aos atuais requerimentos técnicos e regulatórios, assim como desenvolver novos medicamentos.

Entretanto, o avanço e o aumento das exigências legais pelos órgãos regulatórios nacionais e internacionais no registro de medicamentos, tais como implementação de métodos científicos e utilização de Gerenciamento de Risco (GR), trouxe a necessidade de a empresa buscar novos conhecimentos e procedimentos para o desenvolvimento e redesenvolvimento dos seus produtos.

Neste sentido, em meados de 2021, após receber algumas reclamações de que o pH de um dos seus produtos estava no limiar inferior de especificação, a empresa iniciou uma investigação da extensão e da causa raiz do desvio. Nessa dissertação o termo “desvio” refere-se ao não cumprimento de requisitos determinados pelo Sistema de Gestão da Qualidade Farmacêutica ou necessários para a manutenção da qualidade, segurança e eficácia dos produtos, ou seja, na situação discutida, o produto com poucos meses de fabricação apresentou valores de pH no limite inferior da especificação, o que para esse produto, é um dos requisitos

do Sistema de Gestão da Qualidade, mostrando uma tendência de apresentar não conformidades dentro do prazo de validade do produto.

A investigação levantou que alguns lotes fabricados nos meses de dezembro de 2020 e de janeiro de 2021 estavam com o pH no limiar inferior da especificação. Entretanto, as informações conhecidas e levantadas em relação ao produto, durante a investigação, não foram suficientes para identificar a causa raiz do desvio. Além disso, o excipiente utilizado como antioxidante na formulação atual deste produto não consta nas farmacopeias Brasileiras, Americana e Britânica, dificultando a aquisição do mesmo com grau farmacêutico, ou seja, fabricado conforme boas práticas de fabricação de excipientes, o que garante a sua qualidade como insumo para uso farmacêutico.

Diante deste cenário, surgiu a demanda do redesenvolvimento deste produto utilizando *QbD*, objetivo desta dissertação de mestrado. A utilização do *QbD* nesta formulação é recomendável devido à dificuldade de estabilização do teor de um dos ativos que é lábil em solução na presença de calor, luz e oxigênio.

Assim, é esperada uma redução dos riscos de desvios durante a fabricação comercial do medicamento e, por obter um conhecimento superior em relação a formulação e processo, solicitar aprovação junto as agências regulatórias de faixas de trabalho que possibilitem uma alteração que antes era considerada uma mudança pós-registro passar a ser de implementação imediata, ou seja, obter abordagens regulatórias mais flexíveis no ciclo de vida deste produto.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Desenvolvimento de medicamentos

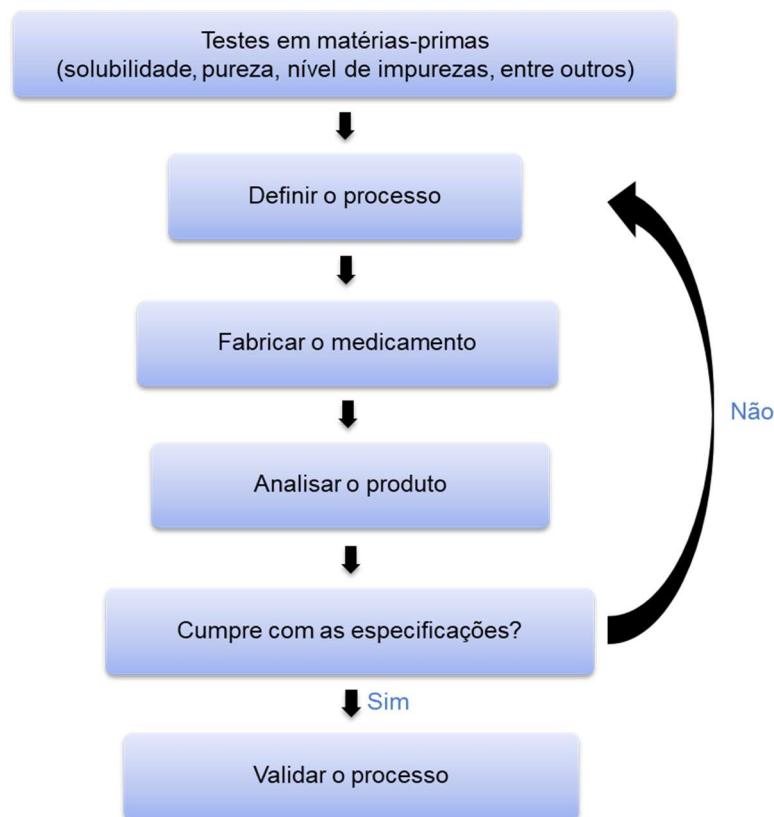
A indústria farmacêutica e autoridades reguladoras buscam constantemente formas de garantir e aumentar a segurança, qualidade e eficácia de novos medicamentos. A necessidade de harmonização foi impulsionada por tragédias, como a da talidomida na Europa na década de 1960 [7].

No Brasil, também se noticiou um episódio devido a problemas de qualidade e segurança, o caso ocorreu em meados de 2003 e levou a morte de mais de 20 pessoas devido à ingestão de um produto farmacêutico contendo suspensão de sulfato de bário (Celobar®) comumente utilizado como contraste radiológico. A análise do produto indicou a presença de carbonato de bário (cerca de 13% peso/peso) que reage facilmente com o ácido clorídrico no estômago liberando íons de bário, que são conhecidamente tóxicos para os seres humanos [8].

Neste sentido foi criado o *ICH*, iniciativa única que reúne as autoridades reguladoras e a indústria farmacêutica para discutir aspectos científicos e técnicos de produtos farmacêuticos e desenvolver diretrizes. Desde a sua criação em 1990, o *ICH* evoluiu gradualmente, para responder aos desenvolvimentos cada vez mais globais no setor farmacêutico e essas diretrizes são aplicadas por um número crescente de autoridades reguladoras. A missão do *ICH* é alcançar uma maior harmonização em todo o mundo para garantir que medicamentos seguros, eficazes e de alta qualidade sejam desenvolvidos, registrados, comercializados e mantidos da maneira mais eficiente em termos de recursos, ao mesmo tempo em que atendem aos altos padrões de qualidade [7].

Ainda assim, o recolhimento de medicamentos (comumente chamado de *recall*), o custo nos desvios produtivos, reprocessos e reprovações de lotes, dificuldade de escalonamento e a carga regulatória, representam um enorme desafio para a indústria [9]. No desenvolvimento tradicional, são utilizadas abordagens principalmente empíricas, onde a pesquisa e desenvolvimento geralmente testam uma variável de cada vez. Além disso, o processo de manufatura é estático e o foco é na sua otimização e reprodutibilidade, sendo a qualidade do medicamento assegurada principalmente por análise das matérias-primas, dos materiais em processo (produtos intermediários) e em testes “passa” ou “não passa”, no produto final [10]. Este sistema

é conhecido como Qualidade por Teste (*Quality by test, QbT*) (FIGURA 3.1), no qual, as causas-raiz dos desvios geralmente não são bem compreendidas ou visualizadas devido à má compreensão do processo como um todo e à incerteza sobre como as características das substâncias afetam o perfil de qualidade do produto alvo (*Quality Target Product Profile, QTPP*) [11].



Fonte: Tradução e adaptação da imagem pela autora [11].

FIGURA 3.1: Fluxograma de desenvolvimento de medicamento seguindo a abordagem *QbT*.

De acordo com a Instrução Normativa nº 47, de 21 de agosto de 2019, revogada e substituída pela Instrução Normativa nº 138 de 30 de março de 2022, os novos medicamentos desenvolvidos a partir de 7 de abril de 2020 precisam utilizar a estratégia de ciclo de vida de produto. Nesta estratégia é imprescindível comprovar, na validação de processo, o estado de controle dos produtos, ou seja, condição em que os controles definidos proveem consistentemente garantia de que os processos são desempenhados adequadamente e os produtos têm qualidade [6]. Sendo assim, as empresas passaram a buscar e implementar o desenvolvimento dos medicamentos

utilizando *QbD*, visando uma melhor compreensão do processo, reduzindo suas variações, e focando nas estratégias de controle [10].

3.2. Abordagem *QbD*

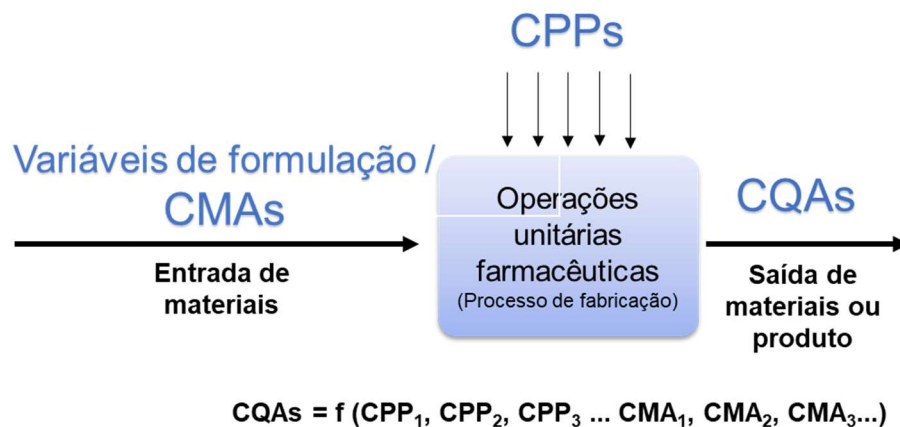
A *Critical Path Initiative* da FDA desencadeou o desenvolvimento de novos paradigmas de qualidade na indústria farmacêutica, incluindo o conceito de *QbD*. A iniciativa foi proposta em março de 2004, com o lançamento do relatório histórico da FDA “*Innovation/Stagnation: Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Product*”. A publicação trouxe a crescente dificuldade e imprevisibilidade do desenvolvimento de produtos, concluindo que era necessária uma ação coletiva para modernizar e harmonizar as ferramentas científicas e técnicas, bem como aproveitar a tecnologia da informação para avaliar e prever a segurança, eficácia e fabricação de produtos médicos [12].

A abordagem *QbD*, baseada no desenvolvimento científico, foi incluída nas diretrizes de qualidade do *ICH* em 2008. Os conceitos e práticas dessa abordagem são discutidas nos Guias *ICH Q8* [Desenvolvimento Farmacêutico] [10], *ICH Q9* [Gerenciamento de Risco de Qualidade] [13] e *ICH Q10* [Sistema de Qualidade Farmacêutica] [14]. Segundo o *FDA*, o foco desse conceito é que a qualidade deve ser incorporada a um produto com um entendimento completo da formulação e do processo pelo qual ele é desenvolvido e fabricado, juntamente com o conhecimento dos riscos envolvidos na fabricação do produto e a melhor forma para mitigá-los [15].

Nesta parte da revisão bibliográfica são apresentadas as etapas do desenvolvimento utilizando *QbD*. As informações foram traduzidas e adaptadas pela autora utilizando como referência o Guia *ICH Q8* [Desenvolvimento Farmacêutico] [10], relatório técnico do *PDA* (*Parenteral Drug Association*) n° 60 [16] e artigos científicos [9] [17] [18] [19] com a discussão de cada um dos termos no glossário ao final do texto.

- i) Definir o Perfil de Qualidade do Produto Alvo (*Quality Target Product Profile, QTPP*) levando em consideração a segurança e eficácia do medicamento;

- ii) Identificar potenciais atributos críticos de qualidade (*Critical Quality Attribute, CQA*) do medicamento, com sua respectiva justificativa, para que as características do produto que tenham impacto na sua qualidade possam ser estudadas e controladas;
- iii) Identificar por meio de conhecimento prévio, experimentação e análise de risco, as variáveis de formulação, os atributos de materiais e os parâmetros do processo que podem afetar os CQAs do produto;
- iv) Determinar como as variáveis de formulação, os atributos críticos de material (*Critical Material Attribute, CMA*) e os parâmetros críticos de processo (*Critical Process Parameter, CPP*) se relacionam com os CQAs do produto (FIGURA 3.2), utilizando, por exemplo, planejamento de experimentos (*Design of experiments, DoE*);



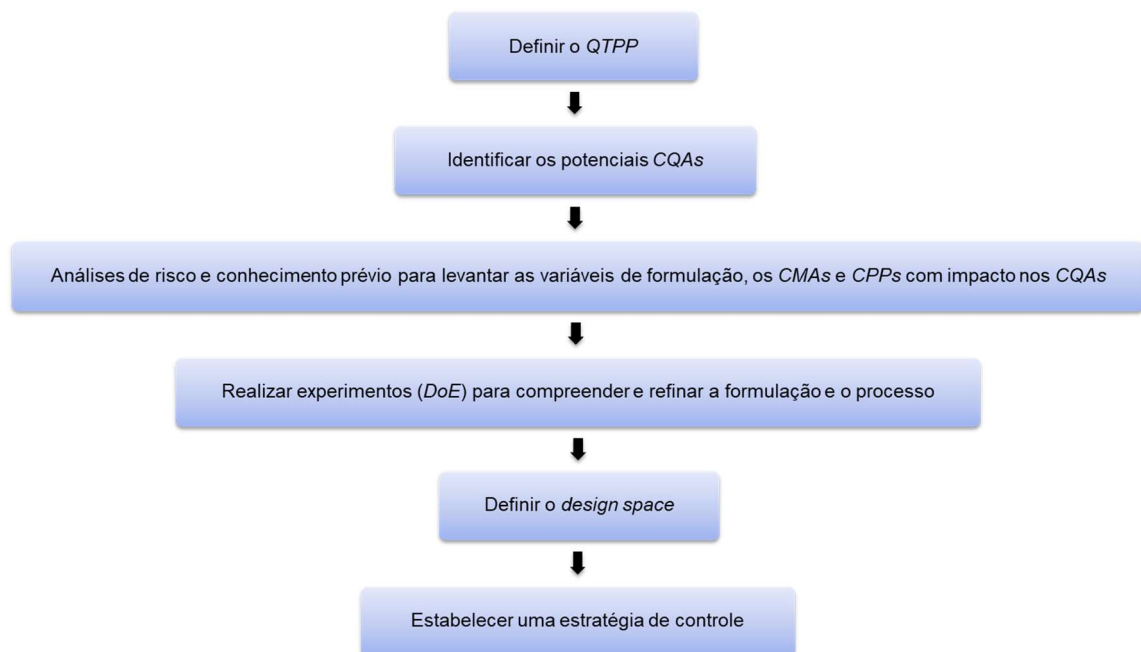
Fonte: Tradução e adaptação da imagem pela autora [20].

FIGURA 3.2: Representação esquemática entre Variáveis de formulação, CMAs, CPPs e CQAs.

- v) Definir o *design space*, ou seja, as faixas aceitáveis das variáveis;
- vi) Estabelecer uma estratégia de controle com a finalidade de garantir o desempenho do processo e a qualidade do produto.

A FIGURA 3.2 resume o principal diferencial do desenvolvimento utilizando a abordagem QbD. Deve-se relacionar as entradas às saídas do processo, ou seja, ao alterar algum componente da formulação, tais como variáveis de formulação, antioxidante 1 ou antioxidante 2, ou algum atributo desses componentes, como CMAs (por exemplo tamanho de partícula do IFA), inferir que algum atributo de saída do processo (CQAs do medicamento, por exemplo, aumento da concentração de impurezas ou resultados de dissolução) possa ficar fora dos intervalos aceitáveis, essa variável ou atributo de entrada deve ser avaliada. O mesmo racional deve ser aplicado para cada parâmetro de processo. Com essa avaliação será definida as entradas com alto risco de impactarem na saída do processo e, portanto, precisarão ser estudadas por meio de algum experimento ou fixadas e/ou controladas na entrada.

O fluxograma apresentado na FIGURA 3.3 traz um resumo das etapas do desenvolvimento utilizando QbD.



Fonte: Tradução e adaptação da imagem pela autora [10] [16].

FIGURA 3.3: Fluxograma de desenvolvimento de medicamento seguindo a abordagem QbD.

3.3. Gerenciamento de risco - GR

Os princípios do GR são efetivamente utilizados em muitas áreas de negócios e governo, incluindo finanças, seguros, segurança ocupacional, saúde pública, farmacovigilância e por agências que regulam esses setores [13]. O GR é

reconhecido como componente valioso de um sistema de qualidade eficaz na indústria farmacêutica [13] e se tornou evidente nas últimas publicações da Anvisa [5] [6].

O risco é definido como a combinação da probabilidade de ocorrência de um dano e a gravidade do mesmo. No GR farmacêutico, a proteção do paciente deve ser considerada o mais importante e o nível de esforço, formalidade e documentação do processo de Gestão do Risco de Qualidade deve ser proporcional ao nível do risco [5] [13].

De acordo com o *ICH Q9* [13], a utilização do Gerenciamento dos Riscos de Qualidade como Parte do Desenvolvimento tem vários objetivos, destacam-se:

- i) Projetar um produto de qualidade e seu processo de fabricação para entregar consistentemente o desempenho pretendido do produto;
- ii) Aprimorar o conhecimento do desempenho do produto em uma ampla gama de atributos de materiais (por exemplo, distribuição de tamanho de partícula, teor de umidade, propriedades de fluxo), opções de processamento e parâmetros de processo;
- iii) Estabelecer especificações apropriadas, identificar parâmetros críticos de processo e estabelecer controles de fabricação;
- iv) Reduzir as falhas nos materiais, no processo de fabricação e nos produtos.
- v) Avaliar a necessidade de estudos adicionais (por exemplo, bioequivalência, estabilidade) relacionados ao aumento de escala e transferência de tecnologia;
- vi) Utilização do design space.

Recomenda-se que a avaliação de risco inicial seja realizada de forma ampla, passando por todas as variáveis potencialmente críticas de formulação, de materiais e de processo. Primeiramente, avalia-se as variáveis de formulação, tais como necessidade de antioxidante, conservante, agente quelante, entre outros. Posteriormente são investigadas as variáveis de cada componente (excipientes e

ativos) da formulação (chamados de *CMAs* no *QbD*), visto que todos os componentes têm alguma variabilidade intrínseca, como a distribuição de tamanho de partícula dos ativos, o nível de impurezas elementares nos excipientes, entre outros.

Ao variar qualquer atributo desses *CMAs*, for constatada uma probabilidade alta de que o CQA do medicamento (teor, impurezas, esterilidade, etc.) possa estar fora dos intervalos aceitáveis, esse atributo do *CMA* deve ser considerado crítico e precisará ser cuidadosamente definido e, conseqüentemente, controlado. Esta mesma avaliação deverá ser realizada para os parâmetros de processo, ou seja, qual parâmetro possui alta probabilidade de impactar no CQA do medicamento. Uma opção para documentar essa avaliação é por meio de uma matriz de causa e efeito (matriz C&E) [21].

A matriz C&E relaciona as entradas às saídas do processo, classificando seu impacto de forma individual e de interação. Esse impacto (baixo, médio ou alto) determina quais variáveis-chave de entrada do processo (*CMA* ou *CPP*) devem receber mais atenção [22].

O resultado da avaliação de risco será uma classificação do potencial de cada um dos *CMAs* ou *CPPs* em impactar cada um dos *CQAs* do produto. Recomenda-se que esta classificação seja utilizada como base para qualquer avaliação experimental a ser realizada [21].

A matriz C&E é comumente utilizada no desenvolvimento de diversas formas farmacêuticas [23] [24] [25] [26] e foi utilizada nas publicações de estudos de casos do FDA (*Food and Drug Administration*). É importante que seja incluída a justificativa para a classificação de cada risco, ou seja, que o conhecimento farmacotécnico, dados de pré-formulação, informações da literatura embasem a classificação do risco [27] [28]. O risco relativo de cada atributo é apresentado como alto, médio ou baixo. Os atributos de alto risco justificam uma investigação mais aprofundada, enquanto os atributos de baixo risco não exigem investigação adicional. O risco médio é considerado aceitável com base no conhecimento atual. Outras investigações para risco médio podem ser necessárias para reduzir o risco global do processo [27] [28]. As FIGURAS 3.4 e 3.5 trazem exemplos de análise de risco com matriz C&E no desenvolvimento farmacêutico.

CQA	CMAs/CPs					
	Organic solvent type (CMA) (23%)	Temperature of the vacuum evaporation (16%)	Grade of vacuum creation (7%)	Hydration step: feeding rate (12%)	Temperature rising during the ultrasound treatment (26%)	Filtration number in the shape-forming phase (16%)
Wall-forming agent 1 (Natural oil/Cholesterol)	High	High	Low	Low	High	Medium
Wall-forming agent 2 (Phospholipon 90G®)	High	High	Low	Low	High	Medium
Hydration media	Low	Low	Low	Low	Medium	Low
API	High	Low	Low	Low	Low	Low
Surface charge	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Vesicle/Particle size (and size distribution)	Low	Low	Medium	High	High	High
Stability of the vesicle size	Low	Low	Low	Low	Medium	Medium

Fonte: PALLAGI *et al.* 2019 [26].

FIGURA 3.4: Exemplo de GR para um medicamento de uso nasal utilizando Matriz C&E.

Drug Product CQAs	Drug Substance Attributes								
	Solid State Form	Particle Size Distribution (PSD)	Hygroscopicity	Solubility	Moisture Content	Residual Solvents	Process Impurities	Chemical Stability	Flow Properties
Assay	Low	Medium	Low	Low	Low	Low	Low	High	Medium
Content Uniformity	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low	High
Dissolution	High	High	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low
Degradation Products	Medium	Low	Low	Low	Low	Low	Low	High	Low

Fonte: Publicação Estudo de Caso FDA [27].

FIGURA 3.5: Exemplo de GR para um medicamento sólido oral utilizando Matriz C&E

3.4. Planejamento de experimentos (*Design of experiments, DoE*)

Os riscos associados a um produto, seja durante o desenvolvimento ou em escala comercial, estão vinculados à variabilidade de entrada (FIGURA 3.2) causada por materiais e condições de processo (parâmetros, escala de equipamentos, meios de operação, entre outros fatores). Distinguir parâmetros críticos daquelas variáveis cujo impacto é baixo é imprescindível no desenvolvimento farmacêutico [21].

Tradicionalmente, a avaliação de criticidade tem sido realizada variando uma condição de cada vez. Usando este método, os experimentos são conduzidos variando um parâmetro, mantendo os demais constantes (fixos) e, em seguida, avaliando a resposta (impacto). Este tipo de abordagem (*one factor at a time, OFAT*) não reflete de forma confiável e eficiente como os parâmetros se comportam durante a produção de rotina. As desvantagens dessa abordagem são inúmeras, mas é possível mencionar que não é possível avaliar as interações entre elas. Além disso, não é possível prever a quantidade de experimentos que devem ser executados para

atingir o objetivo da otimização. Outro ponto importante a ser mencionado é que muitas vezes as interações entre as variáveis passam despercebidas e podem resultar em efeitos sinérgicos, quando várias variáveis podem variar coletivamente, resultando em um aumento do efeito ou antagônico, quando essa interação minimiza o efeito [29].

Por outro lado, a utilização do *DoE* é projetada para avaliar a variação sistemática de múltiplos fatores, variáveis, dentro do contexto de um projeto experimental. Os planejamentos de experimentos podem, assim, ser usados para identificar a criticidade das variáveis e, finalmente, estabelecer modelos matemáticos do processo que está sendo examinado, com o objetivo de prever o desempenho do mesmo [21] [29].

Ao verificar que uma variável de formulação, atributo do material ou parâmetro de processo impactam algum atributo de qualidade do produto, essa deve ser estudada com maior detalhamento. Assim, deverá ser avaliada qual a melhor formulação e intervalo que o atributo do material ou parâmetro podem ser utilizados sem que atributo de qualidade do produto não atenda a especificação que garante a qualidade desejada. Assim, é importante verificar a robustez do produto quanto a sua formulação e processo. Os experimentos devem utilizar faixas realistas do ponto de vista prático, visto que não é necessário encontrar o limite técnico da falha, por exemplo, não faz sentido utilizar uma concentração de excipiente tão elevada que poderia precipitar na formulação devido a sua conhecida baixa solubilidade. Portanto, ao construir um *DoE*, é importante ter em mente as faixas desejadas para aprender o máximo possível sobre um processo dentro das restrições de recursos [21] [29].

Nesse sentido, o *DoE* pode ser aplicado para diferentes objetivos:

- i) estudos de triagem: objetivo é identificar dentre diversas variáveis quais são mais significativas para um determinado processo;
- ii) estudos de otimização: realizar um refinamento das variáveis mais importantes para atingir um objetivo desejado; e
- iii) modelagem de regressão: produzir um modelo matemático detalhado, com a possibilidade de identificar a melhor condição de trabalho por meio da metodologia de superfície de resposta.

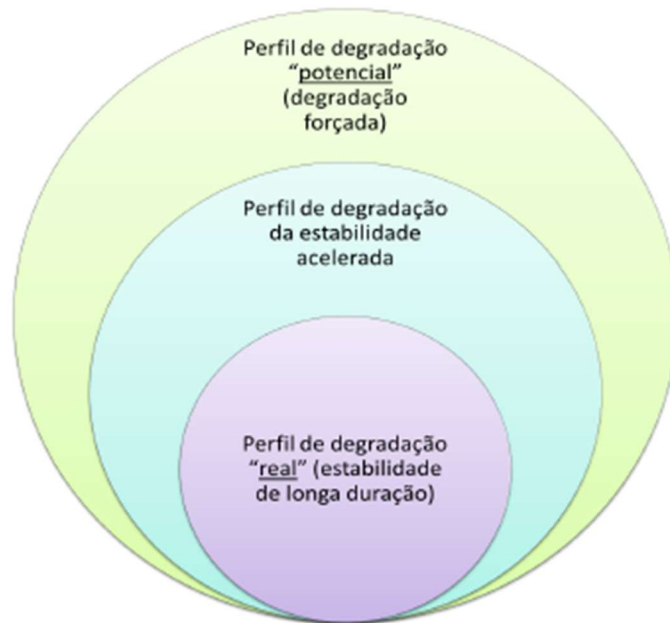
3.5. Estudos de degradação forçada

O teste de degradação forçada, que também é frequentemente chamado de “teste de estresse”, é uma investigação das características de “estabilidade intrínseca” da molécula, fornecendo a base para o desenvolvimento de formulações estáveis. Os estudos de teste de estresse destinam-se a identificar problemas de estabilidade, e são, portanto, de natureza preditiva [30].

De acordo com a Anvisa, RDC 53/2015 [31], investigações relacionadas à degradação forçada podem ser definidas como o estudo que permite a geração de produtos de degradação através da exposição do insumo farmacêutico ativo (IFA) e produto acabado a condições de estresse. Tais condições podem ser exemplificadas como, exposição à luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida/básica e oxidação, entre outras. Este estudo permite o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequadas, bem como fornecer informações sobre possíveis rotas de degradação de um determinado produto.

Já o estudo de estabilidade acelerado é aquele projetado para avaliar possíveis alterações físicas, químicas e microbiológicas do IFA ou medicamentos, em condições forçadas de armazenamento. Assim, visa auxiliar na determinação do Prazo de Reteste ou de Validade do IFA e do medicamento e na avaliação do efeito de curtas excursões fora dos Cuidados de Conservação preconizados [31].

Existe uma diferenciação (regulamentar) entre “estudos de estabilidade acelerados” e “testes de degradação forçada”. O teste de degradação forçada se distingue tanto pela extensão das condições quanto pelo foco dos resultados. Os estudos de teste de estresse não fazem parte do programa formal de estabilidade “validado” [30]. A FIGURA 3.6 demonstra essa relação teórica entre os estudos de estresse e os de estabilidade, onde geralmente surgem mais produtos de degradação na degradação forçada do que no estudo de estabilidade; portanto, o perfil do estudo de degradação forçada é maior que o perfil de degradação “real”. Trata-se de um perfil de degradação “potencial” [32].



Fonte: Guia N° 4/2015 Anvisa [32].

FIGURA 3.6: Relação entre perfil de degradação "potencial", obtido no estudo de degradação forçada, e o perfil de degradação "real", obtido no estudo de estabilidade de longa duração.

3.6. Medicamentos similares comercializados no mundo

A DFL está redesevolvendo um medicamento solução injetável similar com associação de dois IFAs para a anestesia local, visando o uso odontológico. O medicamento alvo possui dois ativos: um anestésico com concentração na ordem de miligramas/mL (Ativo 1) e o outro vasoconstritor na ordem de microgramas/mL (Ativo 2), por questões de confidencialidade, os ativos e excipientes do medicamento serão codificados nesta dissertação.

Segundo a Anvisa [33], medicamento similar é aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária. Entretanto, podem ser diferentes somente algumas características, tais como o tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca. Portanto, o medicamento em redesevolvimento terá os mesmos ativos e na mesma concentração do medicamento referência.

Além disso, para que um medicamento seja considerado bioequivalente, ou seja, ser dispensado do estudo de bioequivalência para medicamentos similares em razão da forma farmacêutica “soluções aquosas”, é imprescindível que o medicamento em redesenvolvimento contenha o mesmo insumo farmacêutico ativo, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência (equivalentes farmacêuticos) e excipientes de mesma função que aqueles presentes no medicamento comparador [34]. Neste sentido os excipientes para o redesenvolvimento do medicamento alvo precisam ter a mesma função do medicamento de referência.

Sendo assim, foi realizada uma pesquisa bibliográfica de formulações semelhantes ao medicamento em redesenvolvimento com a finalidade de levantar quais excipientes são comumente utilizados. O levantamento consta na TABELA 3.1, e os excipientes foram codificados por motivo de confidencialidade.

TABELA 3.1: Levantamento das formulações registradas no mundo com mesmos princípios ativos e ação do medicamento em redesenvolvimento.

Produto registrado na Argentina	Produto registrado no Canadá	Produto registrado no Brasil	Produto registrado nos EUA
Ativo 1	Ativo 1	Ativo 1	Ativo 1
Ativo 2	Ativo 2	Ativo 2	Ativo 2
Água	Água	Água	Água
Cloreto de sódio	Cloreto de sódio	Cloreto de sódio	Cloreto de sódio
Excipiente 1	-	-	Excipiente 1
-	Excipiente 2	-	-
Excipiente 3	-	-	Excipiente 3
-	Excipiente 4	-	-
-	-	Excipiente 5	-
pH ajustado para 4,5 com NaOH ou HCl	pH 3,3 - 5,5	pH 3,3 - 5,5	pH ajustado para 4,5 com NaOH ou HCl

Excipientes 1 e 2: antioxidantes diferentes

Excipientes 3, 4 e 5: antioxidantes com diferentes concentrações

3.7. Utilização de *Design of Experiments (DoE)* na avaliação da Robustez de métodos analíticos

A robustez do método analítico é fundamental para assegurar a precisão e a confiabilidade dos resultados. O Design of Experiments (DoE) surge como uma ferramenta estatística valiosa para avaliar a robustez do método analítico e identificar fontes de variabilidade, assim como suas interações. Um método analítico robusto é aquele que apresenta resultados precisos e exatos, de acordo com os critérios estabelecidos, mesmo sob pequenas alterações nas condições experimentais [35] [36].

Conforme ANEXO III, Tabela 1, da RDC 166 [36], são obrigatórias as seguintes condições para avaliação da robustez de métodos analíticos por Cromatografia Líquida:

- i) Variação do pH da fase móvel;
- ii) Variação na composição da fase móvel;
- iii) Diferentes lotes ou fabricantes de colunas;
- iv) Temperatura do forno da coluna;
- v) Fluxo da fase móvel.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A etapas do projeto, assim como os estudos realizados e os resultados esperados, foram resumidos no Fluxograma da FIGURA 4.7 e serão discutidos em cada tópico deste capítulo.

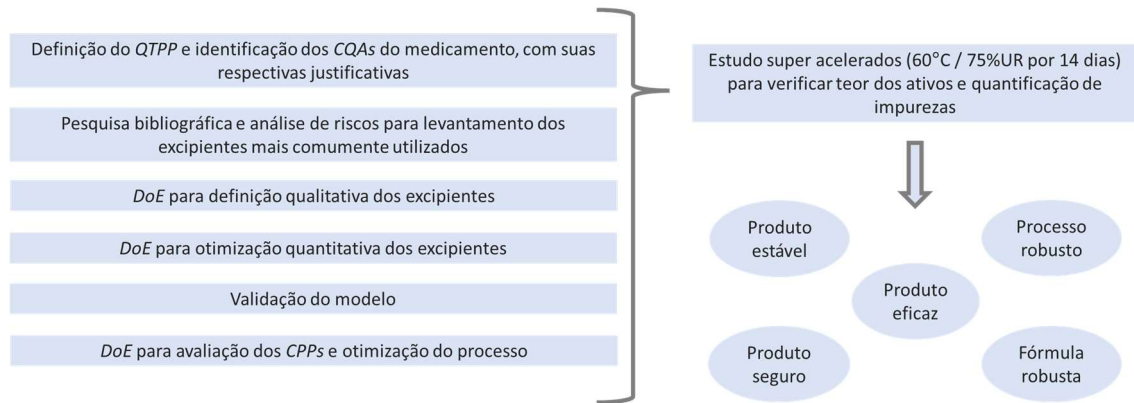


FIGURA 4.7: Fluxograma do projeto contendo as etapas do projeto, estudos realizados e os resultados esperados.

4.1. Etapas do Projeto

A primeira etapa do projeto, conforme desenvolvimento *QbD*, foi a definição do *QTPP* e identificação dos *CQAs* do medicamento, com suas respectivas justificativas. Nessa elaboração foram discutidos e definidos quais *CQAs* foram monitorados no redesenvolvimento da formulação e/ou processo.

Na realização das análises de risco foram identificados quais são os riscos de um *CMA* ou *CPP* afetar o *CQA* de um determinado produto. Esse risco foi classificado como baixo, médio e alto com base na literatura, no conhecimento prévio e testes iniciais como estudos de degradação forçada dos IFAs e aqueles de compatibilidade. Essa triagem preliminar de classificação de risco dos componentes da formulação, utilizando a ferramenta de análise de risco Matriz C&E, permitiu a identificação dos materiais e seus atributos com maior impacto na qualidade do produto final.

Após este levantamento foram definidos, por meio de análise de risco, TABELAS 4.2 e 4.3, os excipientes avaliados nos experimentos de triagem. O desenvolvimento inicial do produto concentrou-se na avaliação das variáveis de formulação de alto risco. O excipiente 5 não foi considerado por não constar como ingrediente farmacêutico nas farmacopeias Brasileira, Americana e Britânica.

TABELA 4.2: Avaliação inicial de risco das variáveis de formulação.

Formulação	Risco em relação a formulação
Ativo 1	BAIXO
Ativo 2	
Excipiente 1	ALTO
Excipiente 2	ALTO
Antioxidante Sal de sódio (Excipiente 3)	ALTO
Antioxidante Sal de Potássio (Excipiente 4)	ALTO
Antioxidante atual da formulação (Excipiente 5)	ALTO
Cloreto de sódio	BAIXO
Hidróxido de sódio ou Ácido clorídrico para ajuste de pH	MÉDIO

TABELA 4.3: Justificativa para a avaliação inicial de risco das variáveis de formulação.

Formulação	DoE	Justificativa
Ativo 1	Não	As duas apresentações do medicamento possuem a mesma concentração do IFA, portanto todas as formulações do <i>DoE</i> terão o IFA na mesma concentração do produto atual. Dessa forma o risco é baixo.
Ativo 2	Não	
Excipiente 1	Sim	Verificou-se a necessidade de reformulação do medicamento após verificar que alguns lotes do produto ficaram com o pH no limiar inferior da especificação, e devido ao sal utilizado como antioxidante na formulação atual não constar nas farmacopeias Brasileiras, Americana e Britânica, dificultando a compra de reagente grau farmacêutico. Como nas pesquisas bibliográficas realizadas, os medicamentos registrados com os mesmos princípios ativos, utilizam esses excipientes listados, eles serão avaliados no <i>DoE</i> com função de antioxidantes. O risco é alto.
Excipiente 2	Sim	
Antioxidante Sal de Potássio	Sim	
Antioxidante Sal de sódio	Sim	
Antioxidante atual da formulação	Não	
Cloreto de sódio	Não	O excipiente está presente em todas as formulações de anestésicos na concentração em torno de 6 mg/mL, esta concentração é importante para atingir a osmolaridade adequada do produto, portanto todas as formulações terão esta concentração e este parâmetro não será avaliado nas formulações do <i>DoE</i> . O risco é baixo.
Hidróxido de sódio para ajuste dos valores de pH	Não	Atualmente o pH não é ajustado na formulação, porém como o pH dos medicamentos utilizados na pesquisa bibliográfica trazem o ajuste de pH para 4,5 e com faixa de 3,3 a 5,5 conforme monografia da USP, todas as formulações terão o ajuste do pH com HCl ou NaOH para 4,5. O risco é médio.
Ácido clorídrico para ajuste dos valores de pH	Não	

Os planejamentos fatoriais foram realizados com o objetivo de definir as quantidades ideais de cada excipiente na formulação do medicamento e com a finalidade de caracterizar o impacto dos mesmos nos CQAs do produto. A significância de cada variável de entrada nas formulações da triagem foi avaliada por análise estatística (ANOVA). Com base nesses dados, a melhor combinação de variáveis de entrada "importantes ou críticas", excipientes neste caso, foi selecionada para estudos de otimização. O objetivo do estudo de otimização foi estabelecer uma combinação otimizada de variáveis de entrada que produzam respostas muito superiores às produzidas durante a triagem inicial.

Nas TABELAS 4.4 e 4.5 são apresentadas de forma sintetizada as variáveis dos experimentos realizados e as respostas monitoradas. As faixas para definição de formulação foram determinadas conforme a concentração dos medicamentos com os mesmos princípios ativos registrados em outros países e a faixa mínima e máxima recomendada pelo Handbook de excipientes [37]. Desta forma, foram consideradas a função do excipiente (quantidade mínima) e a segurança do paciente (quantidade máxima). Já as faixas para definição do processo foram definidas conforme processo de fabricação atual.

TABELA 4.4: Variáveis e respostas para definição de formulação.

Fatores: variáveis de formulação
Presença e ausência do Excipiente 1 e impacto da quantidade utilizada na formulação (0,20 a 2,10 mg/mL)
Presença e ausência do Excipiente 2 e impacto da quantidade utilizada na formulação (0,10 a 1,05 mg/mL)
Definição do contraíon do outro antioxidante da formulação (Sal de Potássio ou Sal de sódio) e impacto da quantidade utilizada na formulação (1,20 a 2,40 mg/mL – sal de potássio)
Respostas relativas monitoradas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)
Redução do teor do Ativo 1 (%)
Redução do teor do Ativo 2 (%)
Impureza conhecida do Ativo 2 (%)
Maior impureza individual desconhecida do Ativo 2 (%)

TABELA 4.5: Variáveis e respostas para definição de processo.

Fatores: variáveis de formulação
Quantidade de tempo (5 a 10 minutos) para finalizar a homogeneização da formulação
Utilização de Luz amarela ou Luz branca na sala de manipulação
Presença e ausência de nitrogenação durante a manipulação da formulação
Diferentes temperaturas (20°C a 30°C) da água de manipulação
Respostas relativas monitoradas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)
Redução do teor do Ativo 1 (%)
Redução do teor do Ativo 2 (%)
Impureza conhecida do Ativo 2 (%)

4.2. Estudos realizados nos experimentos

Todos os experimentos realizados foram expostos aos estudos de degradação forçada com o intuito de prever a estabilidade da formulação e, com os dados, determinar qual a formulação mais estável, ou seja, com a menor redução do teor dos ativos e menor formação de impurezas.

Sendo assim, o objetivo é expor as amostras em condição de estresse térmico e úmido com a finalidade de degradar o ativo menos estável em extensão realista, redução de 10 a 30% do teor. É importante salientar que o objetivo é obter uma formulação estável. Assim, caso um dos ativos atinja o teor abaixo da especificação (mínimo 90%), não há razão para dar continuidade a degradação do outro ativo, pois o produto já estaria reprovado. De acordo com os estudos preliminares, o Ativo 2, menos estável, apresenta esta redução de teor na exposição das formulações em embalagem primária na condição de 14 dias 60°C/75% de umidade relativa (UR), portanto esta condição foi utilizada para exposição de todas as formulações estudadas nos planejamentos de experimentos.

As formulações piloto para o desenvolvimento do projeto de pesquisa foram realizadas nas instalações do laboratório de P&D da DFL e os lotes em escala comercial na sua área produtiva. As análises das formulações (respostas dos DoEs) foram realizadas pelas áreas de Desenvolvimento analítico nas instalações do Controle de Qualidade da empresa. Todas as áreas estão localizadas no Polo Farmacêutico de Jacarepaguá, Rio de Janeiro. As instalações possuem uma grande variedade de equipamentos qualificados de modo a oferecer dados confiáveis e rastreáveis e condições ideais para a realização deste projeto.

As formulações de bancada foram manipuladas em béquer com agitador em hélice com aplicação de atmosfera de nitrogênio. Durante a realização dos experimentos foram monitorados o tempo de manipulação, pH, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido na solução. As amostras foram envasadas no laboratório por extravasamento do líquido em tubetes de vidro, êmbolo e selo de borracha, e lacre de alumínio (FIGURA 4.8). Essas formulações foram analisadas quanto aos testes físico-químicos teor, impurezas e pH.



Fonte: Próprio autor (2021).

FIGURA 4.8: Material de embalagem primária (tubete de vidro, êmbolo e selo de borracha, e lacre de alumínio) do medicamento em redesenvolvimento.

Após definição da formulação e processo, o produto foi dimensionado para escala comercial na área produtiva. As formulações em escala comercial foram fabricadas em tanque de manipulação com agitador em hélice sob atmosfera de nitrogênio e envasadas em processo automatizado após esterilização por membrana filtrante. Essas formulações foram analisadas quanto aos testes físico-químicos e microbiológicos.

Para avaliação dos dados dos planejamentos e proposição dos modelos, foi utilizado o programa computacional GNU Octave (livre), versão 6.1.0 (<https://www.gnu.org/software/octave/>). O Octave é um programa livre de programação numérica. Realizou-se a Análise de Variância (*Analysis of variance*, Anova), por meio da rotina computacional “*regression2*” e o erro do efeito foi calculado utilizando as réplicas no ponto central de cada experimento. Além disso, foi utilizado o Microsoft Excel® (versão Microsoft 365®) com a aplicação da ferramenta Solver® para identificar os pontos críticos dos modelos de regressão (regiões de maior resposta) que foram calculados [38] [39] [40].

4.3. Avaliação dos resultados

A presente pesquisa tem como objetivo principal identificar a formulação e os parâmetros de processo ideais para minimizar a degradação dos ativos e a formação de impurezas. Neste sentido, nessa dissertação será utilizado o termo “Redução do teor” ao valor obtido em percentual do teor após 14 dias sob condições de degradação forçada (14 dias 60°C) em relação ao teor inicial, como a equação e exemplo abaixo:

$$\text{Redução do teor (\%)} = ((\text{Teor inicial} - \text{Teor após 14 dias}) / \text{Teor inicial}) \times 100$$

Exemplo:

Teor Inicial: 102,3%

Teor após 14 dias 60°C: 85,1%

Redução do teor: $((102,3 - 85,1) \div 102,3) \times 100 = 16,81\%$

A quantificação das impurezas é realizada por meio de calibração externa, empregando um padrão de referência do ativo em concentrações próximas ao limite estabelecido para as impurezas.

4.4. Robustez dos métodos analíticos

Para as análises de teor e impurezas dos dois ativos foram desenvolvidos e otimizados métodos analíticos cromatográficos. Os equipamentos utilizados foram cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Agilent® com detector *DAD* (*diode array detector*) e *FLD* (*fluorescence detector*), a robustez dos métodos analíticos foi avaliada utilizando experimentos multivariados [41] [42]. Ressalta-se que os parâmetros utilizados nos métodos analíticos são informações sigilosas da empresa, portanto serão expostos apenas os dados codificados das variáveis.

Em relação aos estudos de robustez das metodologias analíticas, foram avaliados parâmetros obrigatórios conforme RDC 166/2017 e as faixas compreendem um intervalo em relação aos valores definidos nos métodos que são comumente

utilizados para estudos de robustez em cromatografia líquida. Nas TABELAS 4.6 e 4.7 são apresentadas de forma sintetizada as variáveis dos experimentos realizados e as respostas monitoradas.

TABELA 4.6: Variáveis e respostas para avaliação da robustez do método analítico Ativo 1.

Fatores: variáveis de formulação
Vazão do fluxo da Fase móvel (0,9 mL/min a 1,1 mL/min)
Diferentes temperaturas (29°C a 31°C) do forno da coluna
Diferentes pHs da fase móvel (7,9 a 8,1)
Composição da fase móvel (71:29 a 69:31 / aquoso:orgânico)
Diferentes lotes da coluna de fase reversa (Lote 1 ou Lote 2)
Respostas
Recuperação do ativo 1

TABELA 4.7: Variáveis e respostas para avaliação da robustez do método analítico Ativo 2.

Fatores: variáveis de formulação
Vazão do fluxo da Fase móvel (0,9 mL/min a 1,1 mL/min)
Diferentes temperaturas (39°C a 41°C) do forno da coluna
Diferentes pHs da fase móvel (3,7 a 3,9)
Composição da fase móvel – Proporção inicial e final do gradiente (98:2 a 96:4 / aquoso:orgânico)
Diferentes lotes da coluna de fase reversa (Lote 1 ou Lote 2)
Respostas
Recuperação do ativo 2

4.5. Critérios para avaliação da Regressão

Nessa dissertação para avaliação da regressão para os modelos calculados serão considerados os critérios conforme TABELA 4.8.

TABELA 4.8: Critérios para avaliação da Regressão nos modelos calculados.

Conclusão em relação a Regressão	Critérios avaliados
Regressão adequada	Teste F da regressão: p-valor < 0,05 Teste F da falta de ajuste: p-valor > 0,05 ¹ Variância explicada (R^2) > 0,9
Regressão razoável	Teste F da regressão: p-valor < 0,05 Teste F da falta de ajuste: p-valor > 0,05 ¹ Variância explicada (R^2) > 0,7
Regressão ruim	Teste F da regressão: p-valor > 0,05 Teste F da falta de ajuste: p-valor < 0,05 ² Variância explicada (R^2) < 0,7.

Observações:

¹Se apenas o Teste F da falta de ajuste ficar ruim (p-valor<0,05) e os outros dois parâmetros ficarem conforme os critérios estabelecidos acima, a regressão poderá ser avaliada como adequada ou razoável, desde que o erro puro dos experimentos tiver desvio baixo devido à natureza dos experimentos.

²Se apenas o Teste F da falta de ajuste ficar adequado e os outros dois parâmetros ficarem ruins, a regressão continuará sendo avaliada como ruim.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Desenvolvimento de Formulação: avaliação do impacto utilizando diferentes tipos de antioxidantes

O primeiro estudo de formulação avaliou o impacto do tipo de antioxidante (Excipiente 1 e/ou 2) e diferentes sais do outro antioxidante (sal de sódio ou de potássio) nos atributos críticos de qualidade do medicamento. O desenho desse planejamento fatorial foi projetado para obter o maior número de informações com a menor quantidade de experimentos.

O objetivo foi avaliar o impacto da ausência ou presença dos Excipientes 1 e 2 e o efeito deles combinados ou isolados em diferentes concentrações. Para isso, foram avaliadas as variáveis 1 e 2 em um planejamento fatorial completo 3^2 (níveis -1, -0,8 e +1), totalizando 9 experimentos. Além disso, a variável 3, que é categórica (Sal de potássio ou Sal de sódio), foi avaliada em dois níveis, aumentando o total de experimentos para 18.

Para verificar o erro dos experimentos, foram realizados mais 6 experimentos. Esse nível é o ponto central entre a menor concentração do Excipiente 1 e 2 (nível -0,8) e a maior concentração (nível +1). Por exemplo, para o Excipiente 1, a menor concentração é de 0,20 mg/mL, a maior concentração é de 2,10 mg/mL, portanto o ponto central é de 1,15 mg/mL.

Em resumo, foram realizados um total de 24 experimentos, como apresentado nas TABELA 5.9 a 5.11.

TABELA 5.9: Planejamento fatorial para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).

Fatores: variáveis de formulação		Níveis			
		-1	-0,8	0,1	1
V1	Excipiente 1 (mg/mL)	0	0,20	1,15	2,10
V2	Excipiente 2 (mg/mL)	0	0,10	0,58	1,05
V3	Sal de Potássio (-1) / Sal de sódio (+1) (mg/mL), variável categórica	1,20	NA	NA	1,03
Respostas relativas monitoradas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)		Objetivo	Faixas aceitáveis		
Y1	Redução do teor do Ativo 1 (%)	Minimizar	Menor possível		
Y2	Redução do teor do Ativo 2 (%)	Minimizar	Menor possível		
Y3	Impureza conhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar	Máximo de 18,0%		
Y4	Maior impureza individual desconhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar	Máximo de 1,0%		

Os resultados experimentais para redução do teor dos ativos 1 e 2, impureza conhecida do ativo 2 e maior impureza individual desconhecida do ativo 2 (Y1, Y2, Y3 e Y4) são apresentados nas TABELAS 5.5 e 5.6.

TABELA 5.10 (parte 1): Resultados experimentais do *DoE* para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).

Lotes	Fatores: variáveis de formulação			Respostas			
	V1	V2	V3	Y1	Y2	Y3	Y4
A01	0	0	1,20	1,95	25,31	31,28	0,79
A02	0,20	0	1,20	1,82	15,93	16,19	0,36
A03	2,1	0	1,20	2,01	15,90	16,06	0,41
A04	0	0,10	1,20	0,34	16,03	17,21	0,36
A05	0,20	0,10	1,20	0,76	19,16	18,29	0,60
A06	2,10	0,10	1,20	2,02	17,93	16,60	2,29
A07	0	1,05	1,20	1,41	15,89	17,22	0,45
A08	0,20	1,05	1,20	2,58	16,75	17,02	0,31
A09	2,10	1,05	1,20	0,51	14,79	16,45	0,24
A10	0	0	1,03	1,48	26,62	29,75	0,89
A11	0,20	0	1,03	0,32	15,85	18,51	0,90
A12	2,10	0	1,03	0,74	15,11	17,04	0,68
A13	0	0,10	1,03	1,23	22,82	0,19	2,68
A14	0,20	0,10	1,03	-0,18	13,40	18,16	2,60
A15	2,10	0,10	1,03	1,03	11,87	16,77	1,96
A16	0	1,05	1,03	1,40	13,93	18,27	2,21

TABELA 5.11 (parte 2): Resultados experimentais do *DoE* para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #1).

Lotes	Fatores: variáveis de formulação			Respostas			
	V1	V2	V3	Y1	Y2	Y3	Y4
A17	0,20	1,05	1,03	0,88	13,79	16,48	2,46
A18	2,10	1,05	1,03	1,62	28,61	0,87	6,28
A19	1,15	0,58	1,03	1,59	13,43	17,24	2,29
A20	1,15	0,58	1,03	0,46	13,35	17,31	2,14
A21	1,15	0,58	1,03	1,07	13,90	17,62	2,29
A22	1,15	0,58	1,20	1,37	14,10	16,27	2,68
A23	1,15	0,58	1,20	0,27	13,83	17,46	2,48
A24	1,15	0,58	1,20	4,37	14,35	17,11	2,41
Erro_{efeito} (A19 à A24)				0,63	0,12	0,19	0,05

V1: Excipiente 1 (mg/mL)

V2: Excipiente 2 (mg/mL)

V3: Sal de Potássio (1,20)/ Sal de sódio (1,03) (mg/mL)

Como a variável 3 (V3) é categórica, foi avaliada a % relativa dos efeitos e a probabilidade dos mesmos para todas as respostas utilizando o programa computacional GNU Octave. A rotina utilizada para esse primeiro planejamento de triagem foi “fabi_efeito”, conforme Tutorial apresentado por PEREIRA, 2018 [38]. A rotina tem como objetivo calcular os efeitos, a porcentagem de importância relativa de cada efeito e seus erros. Como pode ser observado nas FIGURAS 5.9 a 5.12.

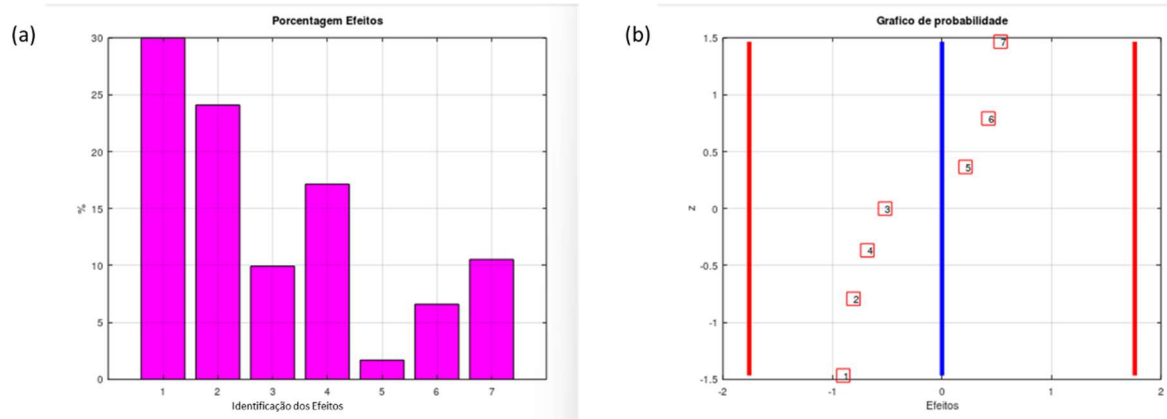


FIGURA 5.9: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.

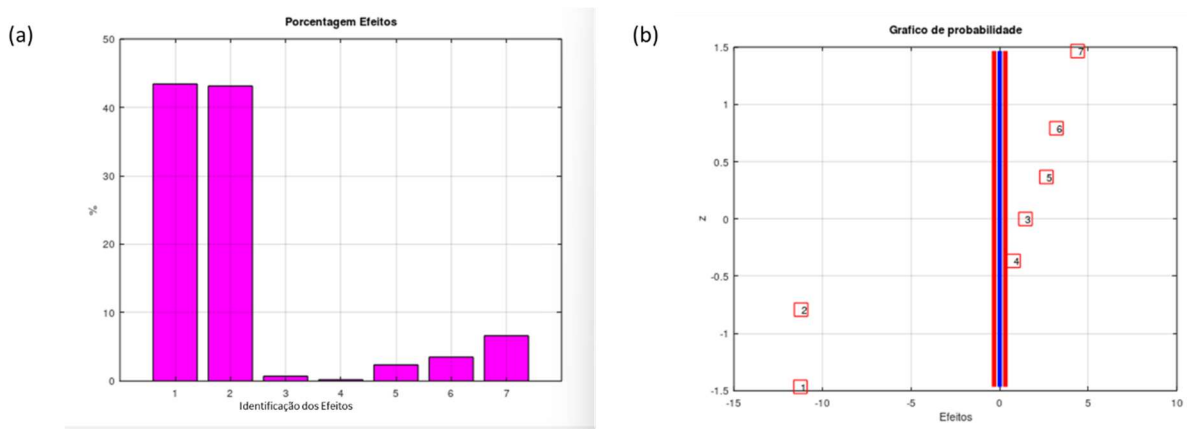


FIGURA 5.10. Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.

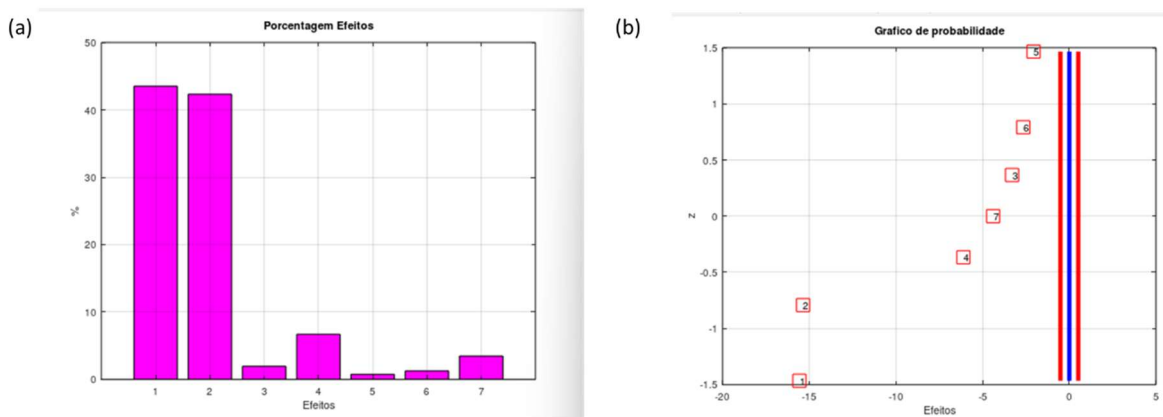


FIGURA 5.11: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.

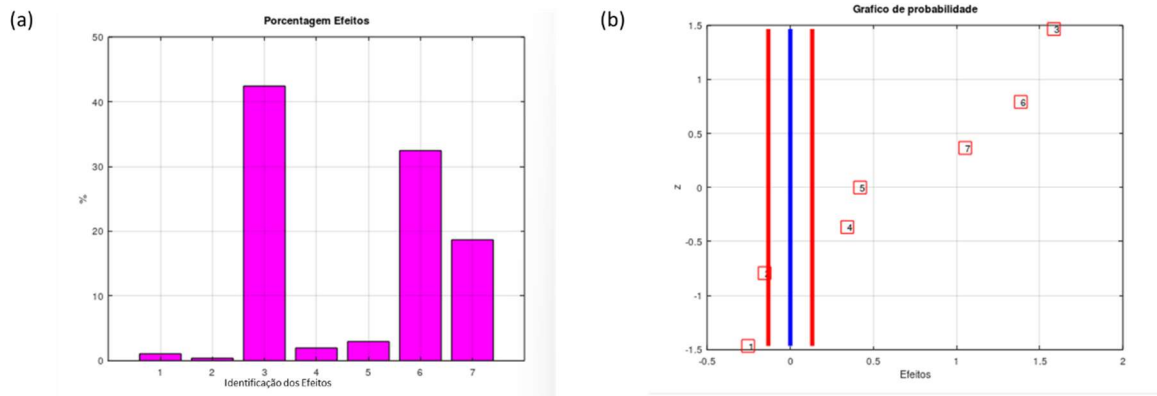


FIGURA 5.12: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y4.

Os primeiros gráficos, FIGURAS 5.9a, 5.10a, 5.11a e 5.12a mostram a porcentagem que cada efeito exerce sobre o total dos efeitos e foi calculada por meio da Equação 1:

$$\text{Porcentagem de um efeito} = \frac{\text{Efeito}_i}{\sum(\text{Efeitos}^2)} \times 100 \quad (1)$$

Já nos gráficos de probabilidade, a linha azul vertical mostra a posição do zero no eixo x e as duas linhas verticais vermelhas indicam o intervalo de confiança dos efeitos calculados por meio da Equação 2:

$$\text{Erro}_{\text{Efeito}} = \frac{2 \times \text{Erro}_{\text{Experimental}}}{\sqrt{n2^k}} \quad (2)$$

Sendo n: número de réplicas realizadas e k: número de variáveis

E Equação 3:

$$\text{Intervalo de confiança dos efeitos} = \text{erro de um efeito} \times t \quad (3)$$

Com esses experimentos concluiu-se em relação ao *Desenvolvimento de Formulação #1*:

- i) Y1: o ativo 1 mostrou-se estável e as variáveis irrelevantes nos níveis testados, visto que os efeitos (da ordem de 1%, ver FIGURA 5.9) ficaram menores que o intervalo de confiança dos efeitos;

-
- ii) Y2: o Ativo 2 é o menos estável e as variáveis 1 e 2 mostraram efeitos significativos negativos (da ordem de -12%, ver FIGURA 5.10), já a variável 3 mostrou-se irrelevante nas faixas estudadas;
 - iii) Y3: observa-se, assim como na resposta Y2, que é necessário que a formulação tenha os excipientes 1 e/ou 2, pois ambas as variáveis mostraram efeitos negativos (da ordem de - 15%, ver FIGURA 5.11);
 - iv) Y4: verifica-se que o efeito do sal de potássio (nível -1 da variável 3) reduz a formação de impurezas individuais desconhecidas, apresentando efeito da ordem 1,5%.

Com os resultados obtidos, a formulação teve a primeira definição das variáveis estudadas, a utilização do sal de potássio, a fim de evitar a formação de impurezas individuais desconhecidas do ativo 2.

5.2. Desenvolvimento de Formulação: avaliação do impacto do tipo do antioxidante (Excipiente 1 e/ou 2)

Com a definição da utilização do sal de potássio, foi possível reavaliar os experimentos realizados com esse sal e verificar as demais variáveis e seus impactos nas respostas estudadas (TABELAS 5.12 e 5.13).

TABELA 5.12: Planejamento fatorial completo para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #2).

Fatores: variáveis de formulação		Níveis			
		-1	-0,8	0,1	1
V1	Excipiente 1 (mg/mL)	0	0,20	1,15	2,10
V2	Excipiente 2 (mg/mL)	0	0,10	0,58	1,05
Respostas relativas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)		Objetivo		Faixas aceitáveis	
Y1	Redução do teor do Ativo 1 (%)	Minimizar		Menor possível	
Y2	Redução do teor do Ativo 2 (%)	Minimizar		Menor possível	
Y3	Impureza conhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar		Máximo de 18,0%	
Y4	Maior impureza individual desconhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar		Máximo de 1,0%	

TABELA 5.13: Resultados experimentais do *DoE* para triagem das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #2).

Lotes	Fatores: variáveis de formulação		Respostas			
	V1	V2	Y1	Y2	Y3	Y4
A01	0	0	1,95	25,31	31,28	0,79
A02	0,20	0	1,82	15,93	16,19	0,36
A03	2,10	0	2,01	15,90	16,06	0,41
A04	0	0,10	0,34	16,03	17,21	0,36
A05	0,20	0,10	0,76	19,16	18,29	0,60
A06	2,10	0,10	2,02	17,93	16,60	2,29
A07	0	1,05	1,41	15,89	17,22	0,45
A08	0,20	1,05	2,58	16,75	17,02	0,31
A09	2,10	1,05	0,51	14,79	16,45	0,24
A22	1,15	0,58	1,37	14,10	16,27	2,68
A23	1,15	0,58	0,27	13,83	17,46	2,48
A24	1,15	0,58	4,37	14,35	17,11	2,41
	Erro_{efeito} (A22 à A24)		1,22	0,15	0,35	0,08
	SQEP		9,01	0,14	0,75	0,04
	g.l.		2	2	2	2

V1: Excipiente 1 (mg/mL)

V2: Excipiente 2 (mg/mL)

SQEP: Soma quadrática do erro puro

As FIGURAS 5.13 a 5.16 trazem os gráficos da porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para cada resposta estudada no Desenvolvimento de Formulação #2.

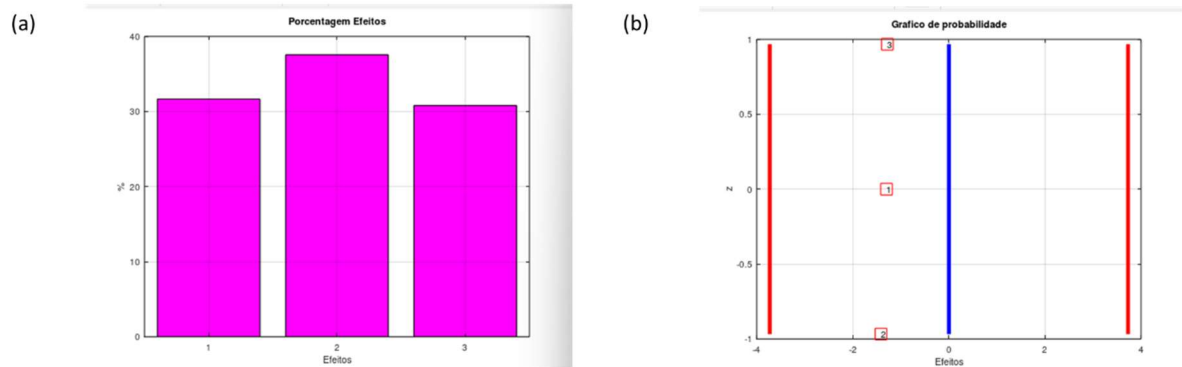


FIGURA 5.13: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.

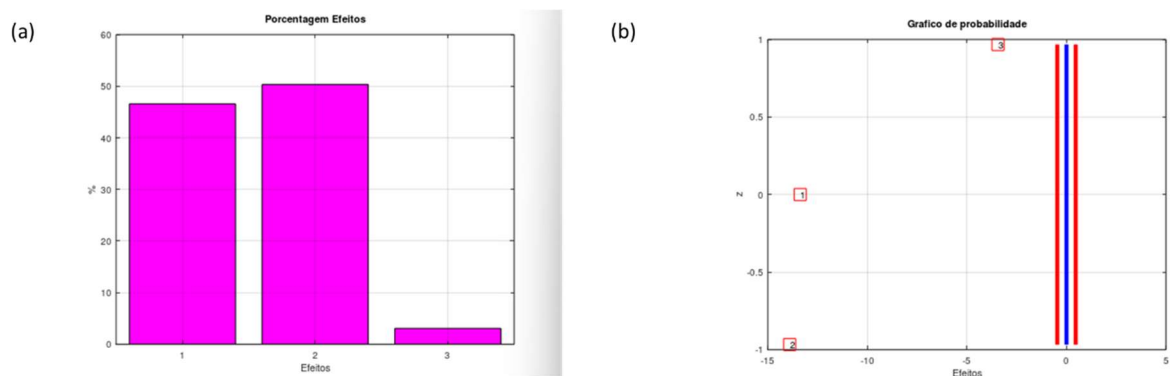


FIGURA 5.14: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.

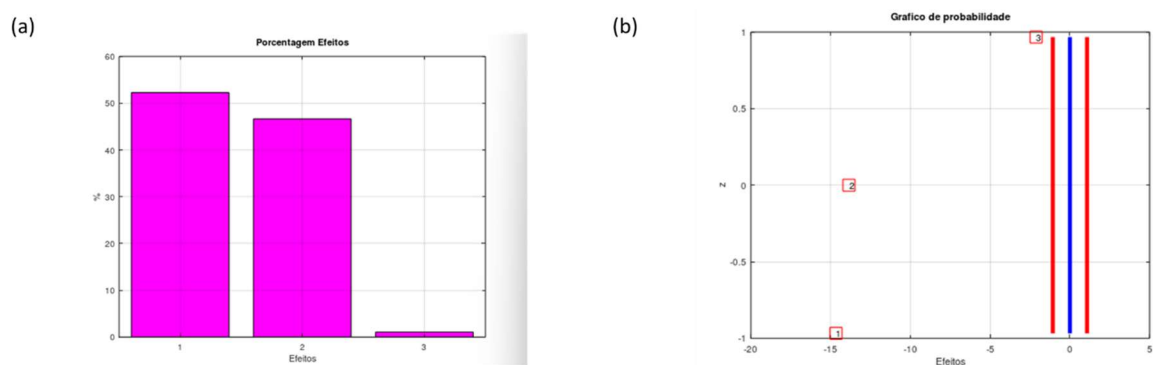


FIGURA 5.15: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.

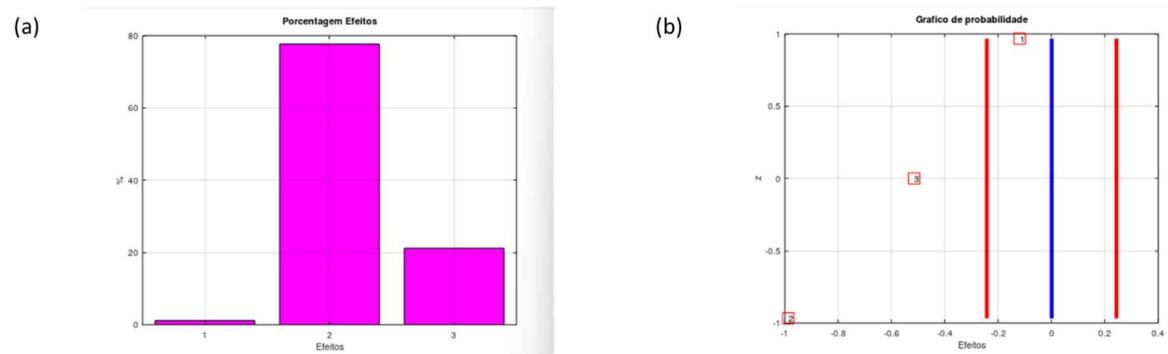


FIGURA 5.16: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y4.

Com esses resultados concluiu-se em relação ao *Desenvolvimento de Formulação #2*:

- i) Y1: o ativo 1 mostrou-se mais uma vez estável e as variáveis irrelevantes (nas faixas estudadas) para os resultados obtidos, visto que os efeitos (da ordem de 1,5%) ficaram menores que o intervalo de confiança dos efeitos;
- ii) Y2: o Ativo 2 é o menos estável e as variáveis 1 e 2 mostraram efeitos significativos da ordem de -15% (ver FIGURA 5.14). Assim, para evitar a degradação deste ativo é necessário utilizar um dos dois excipientes ou ambos combinados;
- iii) Y3: observa-se assim como na resposta Y2, que é necessário que a formulação tenha um dos dois antioxidantes ou ambos (ver FIGURA 5.15);
- iv) Y4: verifica-se que a variável 2 é significativa para a formação de impurezas individuais desconhecidas com efeito de -1% (ver FIGURA 5.16).

Com esses dados, realizou-se a Análise de Variância (*Analysis of variance*, Anova), por meio da rotina computacional “regression2” para as respostas Y2, Y3 e Y4 [38], TABELAS 5.14 a 5.16. O erro do efeito foi calculado utilizando as réplicas no ponto central de cada experimento.

TABELA 5.14: Tabela Anova para Y2.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p – valor	Comentários
Regressão	53,859	5	10,772	1,190	0,413	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	54,33	6	9,055	-	-	
Total	108,19	11	9,835	-	-	
Erro Puro	0,1386	2	0,069	195,54	0,005	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	54,192	4	13,548	-	-	
R²	0,498	r	0,706	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,999	r máx	0,999	-	-	-

SQ: Soma quadrática

g.l.: graus de liberdade

MQ: média quadrática

R²: coeficiente de determinação

R² máx: coeficiente de determinação máximo

r: coeficiente de correlação

r máx: coeficiente de correlação máximo

TABELA 5.15: Tabela Anova para Y3.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	59,627	5	11,925	0,532	0,747	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	134,38	6	22,396	-	-	
Total	194	11	17,637	-	-	
Erro Puro	0,745	2	0,373	89,675	0,011	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	133,63	4	33,408	-	-	
R²	0,307	r	0,554	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,996	r máx	0,998	-	-	-

TABELA 5.16: Tabela Anova para Y4.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	9,594	5	1,919	7,020	0,017	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	1,640	6	0,273	-	-	
Total	11,234	11	1,021	-	-	
Erro Puro	0,038	2	0,019	20,926	0,046	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	1,602	4	0,400	-	-	
R²	0,854	r	0,924	-	-	Regressão razoável
R² máx	0,997	r máx	0,998	-	-	-

Verifica-se que para as respostas Y2 e Y3 há falta de ajuste do modelo e a regressão não foi significativa. Porém é possível observar que um dado (Lote A01) poderia estar enviesando os resultados, visto que neste experimento com ausência dos dois antioxidantes, observa-se um valor reduzido de teor e aumento de impurezas significativamente diferentes dos demais experimentos (ver TABELA 5.8). Sendo assim, o modelo foi recalculado retirando este experimento e avaliados os dados da ANOVA para todas as respostas, como mostram as TABELAS 5.17 a 5.20.

TABELA 5.17: Tabela Anova para Y1.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	4,775	5	0,955	0,498	0,769	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	9,588	5	1,9177	-	-	
Total	14,364	10	1,436	-	-	
Erro Puro	9,014	2	4,507	0,042	0,985	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	0,575	3	0,192	-	-	
R²	0,332	r	0,577	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,372	r máx	0,610	-	-	-

TABELA 5.18: Tabela Anova para Y2.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	13,499	5	2,700	1,027	0,489	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	13,144	5	2,629	-	-	
Total	26,643	10	2,664	-	-	
Erro Puro	0,139	2	0,069	62,568	0,016	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	13,005	3	4,335	-	-	
R²	0,507	r	0,712	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,995	r máx	0,997	-	-	-

TABELA 5.19: Tabela Anova para Y3.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	1,934	5	0,387	0,784	0,602	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	2,468	5	0,494	-	-	
Total	4,402	10	0,440	-	-	
Erro Puro	0,745	2	0,373	1,541	0,417	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	1,723	3	0,574	-	-	
R²	0,439	r	0,663	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,831	r máx	0,911	-	-	-

TABELA 5.20: Tabela Anova para Y4.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	10,085	5	2,017	9,754	0,013	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	1,034	5	0,207	-	-	
Total	11,119	10	1,112	-	-	
Erro Puro	0,038	2	0,019	17,344	0,055	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	0,996	3	0,332	-	-	
R²	0,907	r	0,952	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,997	r máx	0,998	-	-	-

Avaliando os dados, verifica-se que apenas a resposta 4 (TABELA 5.15) possui um modelo matemático que pode ser considerado. Sendo assim, verificou-se os coeficientes significativos para esta resposta, conforme FIGURA 5.17 e TABELA 5.16.

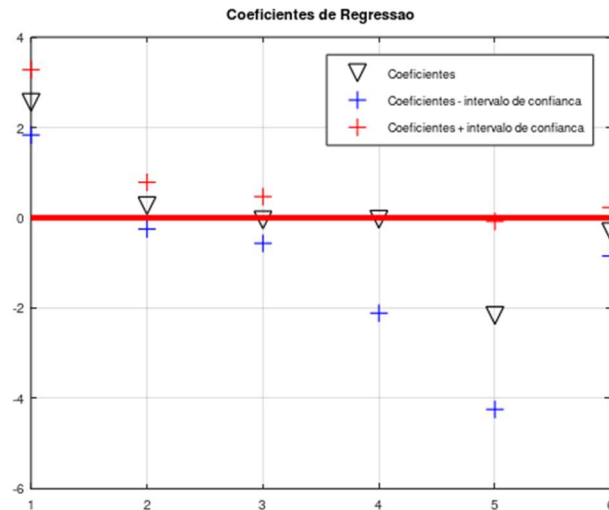


FIGURA 5.17: Gráfico dos coeficientes de regressão para Y4.

TABELA 5.21: Tabela com os coeficientes de regressão para Y4.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	2,556	1,833	3,279	0,723	sim
b1	0,268	-0,249	0,785	0,517	não
b2	-0,049	-0,565	0,468	0,517	não
b11	-0,034	-2,112	2,045	2,078	não
b22	-2,163	-4,243	-0,082	2,081	sim
b12	-0,309	-0,847	0,229	0,538	não

IC: intervalo de confiança

Verifica-se que apenas os coeficientes b0 e b22 são significativos, portanto, o modelo foi recalculado (TABELAS 5.22 e 5.23) utilizando apenas esses coeficientes.

TABELA 5.22: Tabela Anova do modelo recalculado para Y4.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	8,838	1	8,838	34,870	2,28 e-4	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	2,281	9	0,253	-	-	
Total	11,119	10	1,112	-	-	
Erro Puro	0,038	2	0,019	16,744	0,057	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	2,243	7	0,320	-	-	
R²	0,795	r	0,892	-	-	Regressão razoável
R² máx	0,997	r máx	0,998	-	-	-

TABELA 5.23: Tabela com os coeficientes de regressão para Y4 do modelo recalculado.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	2,541	1,893	3,189	0,648	Sim
b22	-2,194	-3,051	-1,337	0,857	sim

IC: intervalo de confiança

Sendo assim, foi plotada a superfície de resposta (FIGURA 5.18a) e o gráfico de contorno (FIGURA 5.18b) desse modelo recalculado. As cores nas duas imagens representam o valor, em porcentagem, da maior impureza individual prevista com base no modelo gerado. A legenda fornece uma faixa de valores previstos para essa impureza, com as cores e valores apresentados.

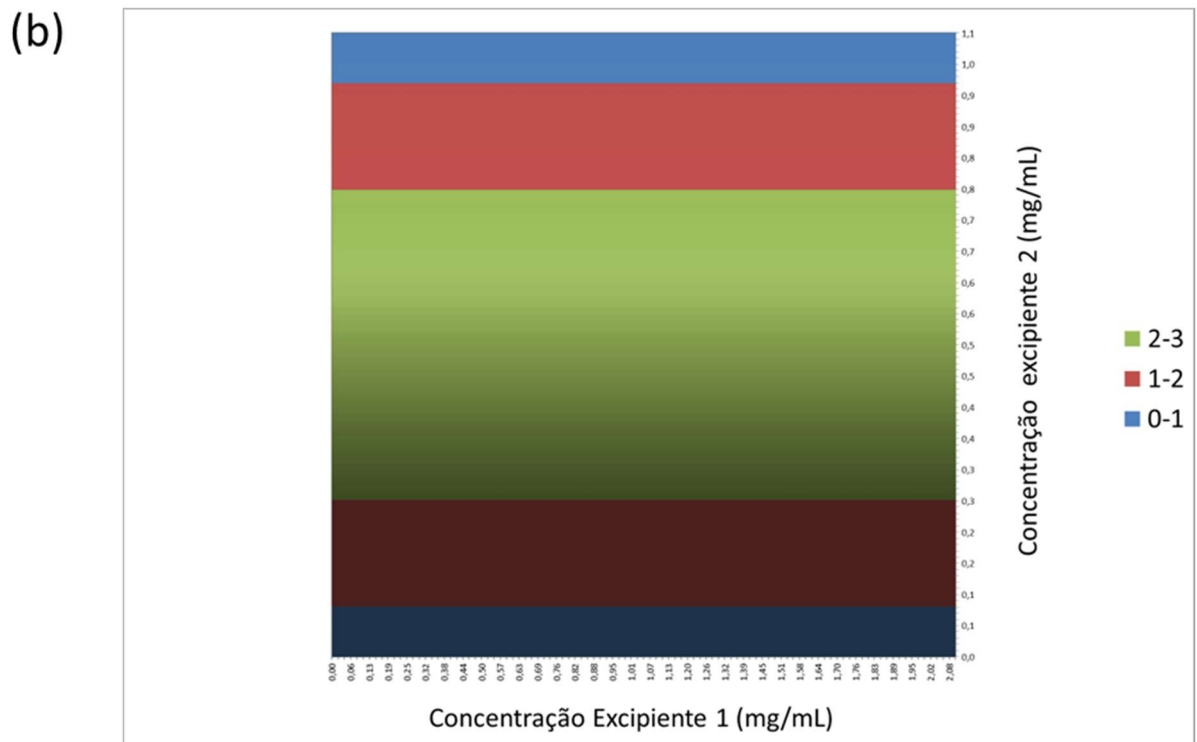
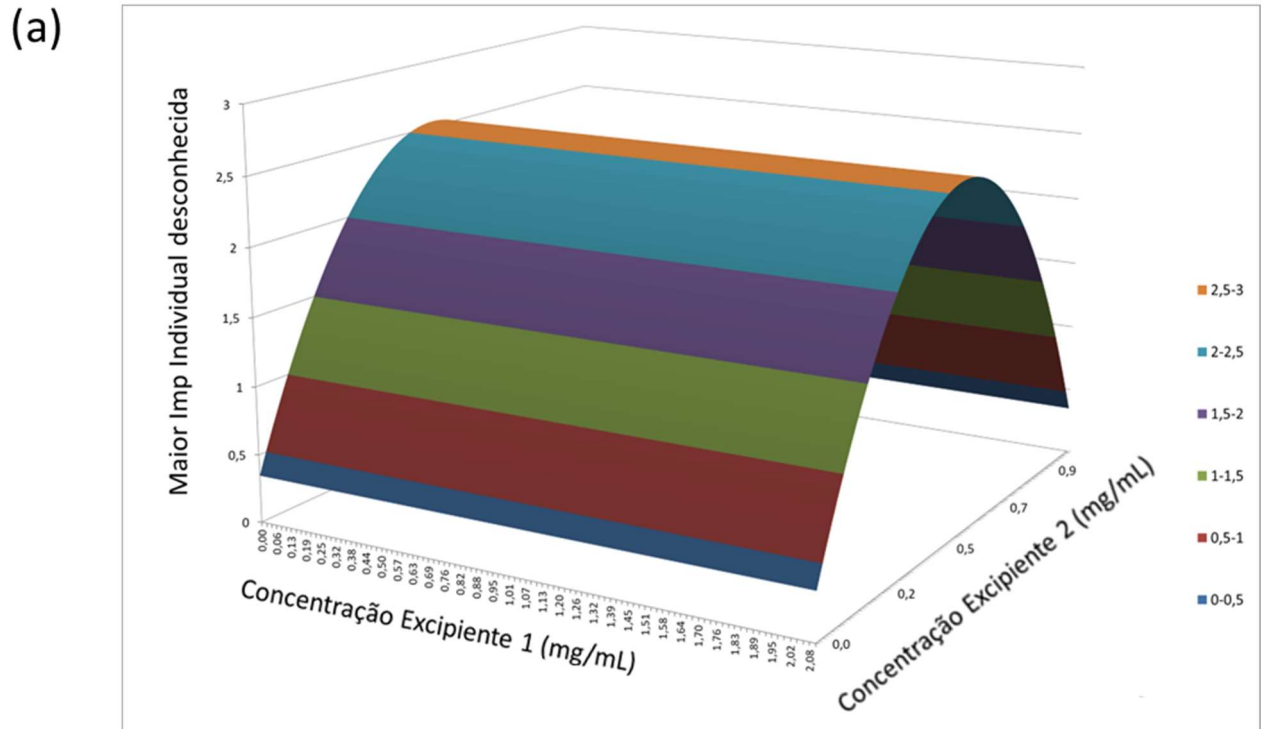


FIGURA 5.18: Superfície de resposta (a) e gráfico de contorno (b) para o modelo gerado.

Por meio desses experimentos e avaliações, observa-se que:

- i) Apenas o Excipiente 2 influencia a formação de impurezas individuais, com valores acima de 1,0% em concentrações intermediárias desse excipiente, modelo quadrático.
- ii) As demais respostas (Y1, Y2 e Y3) não mostraram ser influenciados significativamente ao utilizar os excipientes 1 ou 2, mas comprovou-se que é necessário a presença de um dos dois antioxidantes, conforme discutido no item do *Desenvolvimento de Formulação #2*.

Sendo assim, a decisão foi utilizar o Excipiente 2, como pode ser observado na TABELA 5.24. Além disso, o Excipiente 1 é conhecido por ser mais instável e frequentemente utilizado como um item de sacrifício nas formulações, pois sua concentração pode diminuir ao longo do tempo, podendo ter sua concentração zerada antes do final do estudo de estabilidade. Por outro lado, o Excipiente 2 é utilizado pela empresa em outro medicamento do portfólio e tem uma história de estabilidade comprovada.

TABELA 5.24: Formulação fechada qualitativamente após os experimentos Definição de formulação #1 e #2.

Formulação definida qualitativamente

Ativo 1
Ativo 2
Água
Cloreto de sódio
Antioxidante sal de potássio
Excipiente 2
pH ajustado para 4,5 com NaOH ou HCl

Com essa conclusão, verificou-se a necessidade de novos experimentos para otimização da formulação.

5.3. Otimização da Formulação

Sendo assim, avaliou-se diferentes concentrações do Excipiente 2 e do Sal de Potássio. As faixas foram determinadas conforme a concentração dos medicamentos com os mesmos princípios ativos registrados em outros países e a faixa mínima e máxima recomendada pelo Handbook de excipientes [37]. Desta forma, foram consideradas a função do excipiente (quantidade mínima) e a segurança do paciente (quantidade máxima). Os experimentos e seus respectivos resultados encontram-se nas TABELAS 5.25 e 5.26.

TABELA 5.25: Planejamento fatorial completo para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3).

Fatores: variáveis de formulação		Níveis		
		-1	0	1
V1	Excipiente 2 (mg/mL)	0,10	0,58	1,05
V2	Sal de Potássio (mg/mL)	1,20	1,80	2,40
Respostas relativas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)		Objetivo		
		Faixas aceitáveis		
Y1	Redução do teor do Ativo 1 (%)	Minimizar		
Y2	Redução do teor do Ativo 2 (%)	Menor possível		
Y3	Impureza conhecida do Ativo 2 (%)	Menor possível		
Y4	Maior impureza individual desconhecida do Ativo 2 (%)	Máximo 18,0%		
		Máximo 1,0%		

TABELA 5.26: Resultados experimentais do *DoE* para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3).

Lotes	Fatores: variáveis de formulação		Respostas			
	V1	V2	Y1	Y2	Y3	Y4
A33.2	0,10	2,4	1,65	21,3	40,6	<LQ
A34.2	1,05	2,4	0,97	23,3	42,7	<LQ
A35.2	0,10	1,20	0,78	20,6	31,7	<LQ
A36.2	1,05	1,20	1,07	17,0	28,5	<LQ
A37.2	0,58	1,80	1,17	20,7	33,5	<LQ
A38.2	0,58	1,80	0,10	16,3	30,1	<LQ
A39.2	0,58	1,80	0,10	18,7	33,4	<LQ
Erro_{efeito} (A33.2 à A39.2)			0,36	1,29	1,14	-
SQEP			0,76	9,92	7,78	-
g.l.			2	2	2	2

V1: Excipiente 2 (mg/mL)

V2: Sal de Potássio (mg/mL)

<LQ: Respostas estão abaixo do Limite de quantificação, portanto não são significativas

Verifica-se que para nenhuma resposta o efeito foi significativo, o erro experimental de cada resposta indica que os efeitos não são significativos, conforme pode ser observado nas FIGURAS 5.19 a 5.21. Mas é possível observar que as repostas Y2 e Y3 tendem a aumentar no nível +1 em função do aumento da concentração do excipiente sal de potássio (V2), ou seja, indica que quanto maior a concentração desse excipiente, mais inadequado é o resultado da formulação, maior a redução da concentração do Ativo 2 e maior formação da impureza conhecida do Ativo 2.

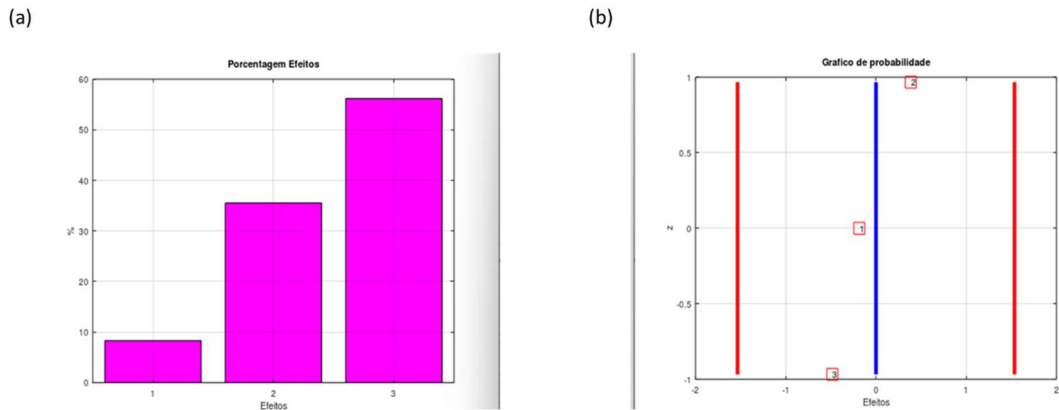


FIGURA 5.19: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y1.

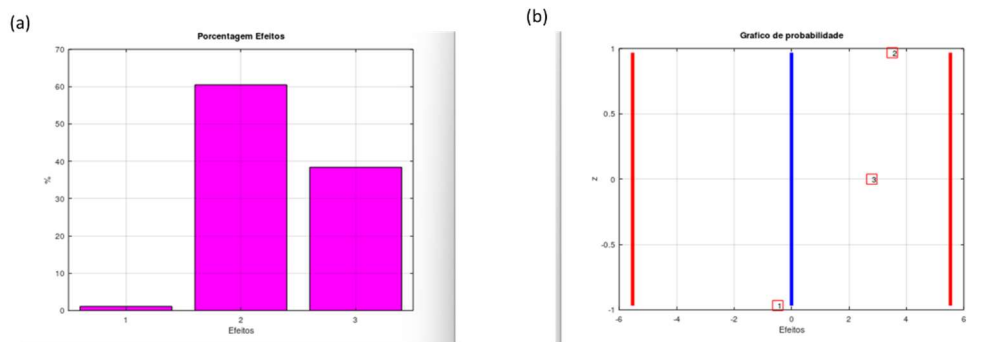


FIGURA 5.20: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y2.

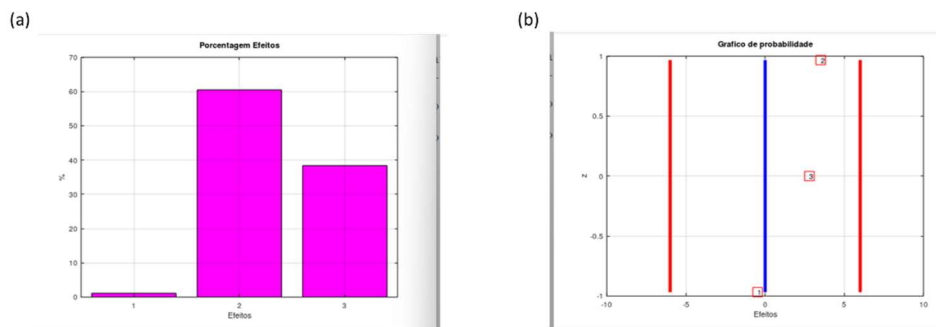


FIGURA 5.21: Porcentagem relativa dos efeitos calculados (a) e o gráfico de probabilidade (b) para a resposta Y3.

Sendo assim, novos experimentos foram realizados, TABELAS 5.27 e 5.28, com uma condição mais drástica de degradação para avaliação dessas duas respostas (Y2 e Y3), as amostras foram expostas durante 12 dias à 70°C/75%UR.

TABELA 5.27: Planejamento fatorial completo 2² para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3) em condição mais drástica de degradação.

Fatores: variáveis de formulação		Níveis		
		-1	0	1
V1	Excipiente 2 (mg/mL)	0,10	0,58	1,05
V2	Sal de Potássio (mg/mL)	1,20	1,80	2,40
Respostas relativas (Observadas no tempo 12 dias 70°C / Tempo inicial)		Objetivo		
		Faixas aceitáveis		
Y2	Redução do teor do Ativo 2 (%)	Minimizar		
Y3	Impureza conhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar		
		Menor possível		
		Máximo 18,0%		

TABELA 5.28: Resultados experimentais do *DoE* para otimização das variáveis de formulação (Desenvolvimento de Formulação #3) em condição mais drástica de degradação.

Lotes	Fatores: variáveis de formulação		Respostas	
	V1	V2	Y2	Y3
A33	0,10	2,40	59,3	84,0
A34	1,05	2,40	60,7	80,6
A35	0,10	1,20	19,9	36,5
A36	1,05	1,20	26,8	41,5
A37	0,58	1,80	45,8	64,0
A38	0,58	1,80	38,4	56,8
A39	0,58	1,80	32,1	51,0
Erro_{efeito} (A37 à A39)			3,94	3,76
SQEP			93,1	84,7
g.l.			2	2

V1: Excipiente 2 (mg/mL)

V2: Sal de Potássio (mg/mL)

Ao avaliar os efeitos e coeficientes, é possível calcular os modelos matemáticos para as duas respostas, conforme ANOVA apresentada nas TABELAS 5.29 e 5.30 e seus respectivos coeficientes, TABELAS 5.31 e 5.32.

TABELA 5.29: TABELA Anovado modelo recalculado para Y2.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	1372,1	3	457,37	12,696	0,033	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	108,08	3	36,025	-	-	
Total	1480,2	6	246,7	-	-	
Erro Puro	93,14	2	46,57	0,321	0,628	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	14,936	1	14,936	-	-	
R²	0,927	r	0,963	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,937	r máx	0,968	-	-	-

TABELA 5.30: Tabela Anova do modelo recalculado para Y3.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	1895,5	3	631,83	18,179	0,020	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	104,27	3	34,756	-	-	
Total	1999,8	6	333,29	-	-	
Erro Puro	84,74	2	42,37	0,461	0,567	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	19,527	1	19,527	-	-	
R²	0,948	r	0,974	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,958	r máx	0,979	-	-	-

TABELA 5.31: Tabela com os coeficientes de regressão para Y2.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	40,409	30,648	50,17	9,761	sim
b1	2,060	-10,853	14,972	12,912	não
b2	18,354	5,441	31,266	12,913	sim
b12	-1,392	-14,305	11,521	12,913	não

TABELA 5.32: Tabela com os coeficientes de regressão para Y3.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	59,197	56,294	62,100	2,902	sim
b1	0,382	-3,458	4,220	3,840	não
b2	21,662	17,822	25,502	3,840	sim
b12	-2,119	-5,959	1,721	3,840	não

A análise dos dados revelou que ambas as variáveis, quando em seu nível inferior (-1), ou seja, na menor concentração testada para cada excipiente, proporcionaram as melhores respostas em termos de menor redução do teor do ativo e menor formação da impureza conhecida do Ativo 2.

Ressalta-se que a exploração de domínios ainda menores para os dois excipientes não foi realizada nesta etapa. A concentração mínima de 0,1 mg/mL para o antioxidante 1 foi estabelecida de acordo com as informações presentes no Handbook de excipientes [37]. Já para o excipiente 2, a concentração mínima de 1,2 mg/mL foi definida com base na experiência da empresa em outra formulação e na necessidade de garantir que o antioxidante 2 não termine o estudo de estabilidade de longa duração (30°C/75%UR) com teor zerado, o que representa um pré-requisito fundamental para os antioxidantes durante esse tipo de estudo.

Sendo assim, foi possível definir qualitativamente e quantitativamente a formulação ideal, conforme apresentado na TABELA 5.23

TABELA 5.33: TABELA com a definição qualitativa e quantitativa da formulação.

Formulação definitiva	Concentração (mg/mL)
Excipiente 2 (mg/mL)	0,10
Sal de Potássio (mg/mL)	1,20

5.4. Impacto das variáveis do processo na estabilidade da formulação

Após definição da formulação, foram realizados novos experimentos para avaliar o impacto das variáveis de processo na estabilidade do produto (TABELAS 5.34 e 5.35).

TABELA 5.34: Planejamento fatorial fracionário 2^{4-1} para triagem das variáveis de processo.

Fatores: variáveis de processo		Níveis		
		-1	0	1
V1	Tempo final de homogeneização (minutos)	5	7,5	10
V2	Luz amarela / Luz branca (sala de manipulação)	Branca	NA	Amarela
V3	Nitrogenação durante a manipulação	Ausência	NA	Presença
V4	Temperatura da solução °C	20	25	30
Respostas relativas (Observadas no tempo 14 dias 60°C / Tempo inicial)		Objetivo	Faixas aceitáveis	
Y1	Redução do teor do Ativo 1 (%)	Minimizar	Menor possível	
Y2	Redução do teor do Ativo 2 (%)	Minimizar	Menor possível	
Y3	Impureza conhecida do Ativo 2 (%)	Minimizar	Máximo 18,0%	

TABELA 5.35: Resultados experimentais do *DoE* para triagem das variáveis de processo.

Lotes	Fatores: variáveis de processo				Respostas		
	V1	V2	V3	V4	Y1	Y2	Y3
A40.1	5 minutos	Ausência	Ausência	20°C	1,67	7,16	20,59
A41.1	10 minutos	Ausência	Ausência	30°C	2,01	8,60	21,23
A42.1	5 minutos	Presença	Ausência	30°C	2,39	8,12	22,30
A43.1	10 minutos	Presença	Ausência	20°C	2,21	7,28	22,41
A44.1	5 minutos	Ausência	Presença	30°C	2,41	11,23	26,32
A45.1	10 minutos	Ausência	Presença	20°C	1,75	10,35	26,02
A46.1	5 minutos	Presença	Presença	20°C	2,15	8,62	22,90
A47.1	10 minutos	Presença	Presença	30°C	2,32	10,04	25,44
A48.1	7,5 minutos	Ausência	Presença	25°C	2,00	9,18	27,82
A49.1	7,5 minutos	Ausência	Presença	25°C	3,94	9,77	30,47
A50.1	7,5 minutos	Ausência	Presença	25°C	1,48	10,04	30,94
Erro_{efeito} (A48.1 à A50.1)					0,37	0,13	0,49
SQEP					3,36	0,38	5,66
g.l.					2	2	2

Ao avaliar os efeitos e coeficientes, não é possível calcular modelo matemático para nenhuma resposta, conforme ANOVA apresentada nas TABELAS 5.36, 5.38 e 5.40 e seus respectivos coeficientes, TABELAS 5.37, 5.39 e 5.41.

TABELA 5.36: Tabela Anova do modelo calculado para Y1.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	0,652	7	0,093	0,079	0,997	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	3,545	3	1,182	-	-	
Total	4,197	10	0,420	-	-	
Erro Puro	3,358	2	1,679	0,112	0,770	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	0,187	1	0,187	-	-	
R²	0,155	r	0,394	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,200	r máx	0,447	-	-	-

TABELA 5.37: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y1.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	2,171	0,647	3,696	1,525	sim
b1	-0,041	-1,695	1,612	1,654	não
b2	0,094	-1,430	1,619	1,525	não
b3	0,103	-1,422	1,627	1,525	não
b4	0,168	-1,485	1,822	1,654	não
b12	0,038	-1,615	1,692	1,654	não
b13	-0,083	-1,737	1,571	1,654	não
b23	-0,134	-1,659	1,390	1,525	não

TABELA 5.38: Tabela Anova do modelo calculado para a Y2.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	14,918	7	2,131	3,383	0,172	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	1,890	3	0,630	-	-	
Total	16,808	10	1,681	-	-	
Erro Puro	0,381	2	0,190	7,923	0,106	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	1,509	1	1,509	-	-	
R²	0,888	r	0,942	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,977	r máx	0,989	-	-	-

TABELA 5.39: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y2.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	8,756	7,642	9,869	1,113	sim
b1	0,142	-1,065	1,350	1,208	não
b2	-0,242	-1,355	0,871	1,113	não
b3	0,966	-0,148	2,079	1,113	não
b4	0,573	-0,634	1,781	1,208	não
b12	0,004	-1,204	1,211	1,208	não
b13	-0,006	-1,214	1,201	1,208	não
b23	-0,150	-1,263	0,964	1,113	não

TABELA 5.40: Tabela Anova do modelo calculado para a Y3.

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	107,030	7	15,290	2,184	0,280	Regressão não significativa (p-valor>0,05)
Resíduo	20,999	3	7,000	-	-	
Total	128,030	10	12,803	-	-	
Erro Puro	5,661	2	2,831	5,418	0,145	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	15,337	1	15,337	-	-	
R²	0,836	r	0,914	-	-	Regressão ruim
R² máx	0,956	r máx	0,978	-	-	-

TABELA 5.41: Tabela com os coeficientes de regressão para a Y3.

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Considerar
b0	23,936	20,226	27,647	3,711	sim
b1	0,374	-3,651	4,399	4,025	não
b2	-0,675	-4,386	3,036	3,711	não
b3	2,306	-1,405	6,017	3,711	não
b4	0,422	-3,603	4,447	4,025	não
b12	0,289	-3,736	4,314	4,025	não
b13	0,186	-3,839	4,211	4,025	não
b23	-1,395	-5,106	2,315	3,711	não

Sendo assim, verifica-se que nenhuma variável é significativa nos níveis testados. Portanto, desde que o produto seja fabricado dentro do intervalo estudado para essas variáveis de processo, o produto é robusto, e temos o chamado *design space*, que será confirmado em escala industrial, após a finalização dos estudos de estabilidade.

5.5. Robustez dos métodos analíticos

A Robustez dos métodos analíticos para determinação de teor dos dois Ativos foi verificada utilizando planejamento fracionário.

A TABELA 5.42 traz as variáveis avaliadas e a resposta esperada para o Ativo 1 e na TABELA 5.43 e 5.44 os dados de recuperação das análises cromatográficas realizadas.

TABELA 5.42: Planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.

Fatores: variáveis do método analítico		Níveis		
		-1	0	1
V1	Fluxo da Fase móvel (mL/min)	0,9	1,0	1,1
V2	Temperatura do forno da coluna (°C)	29	30	31
V3	pH da fase móvel	7,9	8,0	8,1
V4	Composição da fase móvel (aquoso:orgânico)	71:29	70:30	69:31
V5	Lote da coluna (fase reversa)	Lote 1	NA	Lote 2
Resposta	Objetivo	Critério de aceitação		
Y1	Recuperação do ativo 1	Alvo	98,0% a 102,0%	

TABELA 5.43 (parte 1): Resultados experimentais do *DoE* para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.

Corridas	Fatores: variáveis do método analítico					Resposta
	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação do ativo 1 (%)
Experimento 1	0,9 mL/min	29°C	pH 7,9	71:29	Lote 2	98,77
Experimento 2	1,1 mL/min	29°C	pH 7,9	71:29	Lote 1	100,67
Experimento 3	0,9 mL/min	31°C	pH 7,9	71:29	Lote 1	100,55
Experimento 4	1,1 mL/min	31°C	pH 7,9	71:29	Lote 2	98,88
Experimento 5	0,9 mL/min	29°C	pH 8,1	71:29	Lote 1	100,11
Experimento 6	1,1 mL/min	29°C	pH 8,1	71:29	Lote 2	100,91
Experimento 7	0,9 mL/min	31°C	pH 8,1	71:29	Lote 2	100,80
Experimento 8	1,1 mL/min	31°C	pH 8,1	71:29	Lote 1	99,86
Experimento 9	0,9 mL/min	29°C	pH 7,9	69:31	Lote 1	99,09
Experimento 10	1,1 mL/min	29°C	pH 7,9	69:31	Lote 2	100,12
Experimento 11	0,9 mL/min	31°C	pH 7,9	69:31	Lote 2	100,10
Experimento 12	1,1 mL/min	31°C	pH 7,9	69:31	Lote 1	99,25
Experimento 13	0,9 mL/min	29°C	pH 8,1	69:31	Lote 2	100,79
Experimento 14	1,1 mL/min	29°C	pH 8,1	69:31	Lote 1	99,82
Experimento 15	0,9 mL/min	31°C	pH 8,1	69:31	Lote 1	99,77
Experimento 16	1,1 mL/min	31°C	pH 8,1	69:31	Lote 2	100,63
Experimento 17 Réplica 1	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 1	100,05
Experimento 17 Réplica 2	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 1	100,42
Experimento 17 Réplica 3	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 1	100,23

TABELA 5.44 (parte 2): Resultados experimentais do *DoE* para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 1.

Corridas	Fatores: variáveis do método analítico					Resposta
	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação do ativo 1 (%)
Experimento 18 Réplica 1	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 2	100,03
Experimento 18 Réplica 2	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 2	100,03
Experimento 18 Réplica 3	1,0 mL/min	30°C	pH 8,0	70:30	Lote 2	100,47
SQEP (Réplicas dos experimentos 17 e 18)						0,20
g.l.						4

Ao avaliar os dados, verificou-se que todos os experimentos obtiveram valores entre a faixa aceitável, ou seja, 98,0 a 102,0%, o que indica que o método é robusto em toda faixa estudada. Ainda assim, foi avaliado se os dados apresentam um modelo matemático adequado para a resposta estudada, conforme ANOVA apresentada na TABELA 5.45 e seus respectivos coeficientes, TABELA 5.46.

TABELA 5.45: Tabela Anova do modelo calculado para a resposta Recuperação do ativo 1 (%)

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	7,451	15	0,497	6,471	1,493 E-02	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	0,461	6	0,077	-	-	
Total	7,912	21	0,377	-	-	
Erro Puro	0,200	4	0,050	2,606	0,189	Não apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	0,261	2	0,130	-	-	
R²	0,942	r	0,970	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,975	r máx	0,987	-	-	-

TABELA 5.46: Tabela com os coeficientes de regressão para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Conc.
b0	100,060	99,910	100,210	0,152	sim
b1	0,010	-0,168	0,188	0,178	não
b2	-0,028	-0,206	0,151	0,178	não
b3	0,329	0,151	0,507	0,178	sim
b4	-0,061	-0,239	0,117	0,178	não
b5	0,078	-0,074	0,230	0,152	não
b12	-0,335	-0,513	-0,157	0,178	sim
b13	-0,041	-0,219	0,137	0,178	não
b14	-0,001	-0,179	0,177	0,178	não
b15	0,000	-0,178	0,178	0,178	não
b23	-0,044	-0,222	0,134	0,178	não
b24	0,019	-0,159	0,197	0,178	não
b25	0,005	-0,173	0,183	0,178	não
b34	-0,023	-0,201	0,156	0,178	não
b35	0,329	0,151	0,507	0,178	sim
b45	0,346	0,168	0,524	0,178	sim

Com os dados apresentados, o modelo matemático foi recalculado (TABELA 5.47) com os coeficientes válidos (TABELA 5.48) e verificado o modelo matemático por meio da ANOVA.

TABELA 5.47: Tabela Anova do modelo recalculado para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	7,172	4	1,793	41,238	1,545 E-08	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	0,739	17	0,043	-	-	
Total	7,912	21	0,377	-	-	
Erro Puro	0,280	12	0,023	3,936	2,408E-02	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	0,459	5	-	-	-	
R²	0,907	r	0,952	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,975	r máx	0,987	-	-	-

TABELA 5.48: Tabela com os coeficientes recalculados de regressão para a resposta Recuperação do ativo 1 (%).

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Conc.
b0	100,060	99,882	100,240	0,179	sim
b3	0,329	0,118	0,539	0,210	sim
b12	-0,335	-0,545	-0,125	0,210	sim
b35	0,329	0,118	0,539	0,210	sim
b45	0,346	0,136	0,557	0,210	sim

Os dados demonstram que o modelo matemático apresenta falta de ajuste. Porém, por ser uma avaliação de robustez de método cromatográfico e as réplicas terem sido preparadas individualmente, mas injetadas na mesma corrida analítica, verifica-se que a variação de recuperação é muito baixa, por isso esse resultado é esperado para avaliações de métodos analíticos. Sendo assim, seguiu-se com a avaliação do *desing space* do método utilizando esses coeficientes.

A ferramenta Geração de Números Aleatórios do Excel®, conforme ilustrado na FIGURA 5.22, foi utilizada para avaliar o design space. A distribuição uniforme foi empregada para gerar diversas combinações entre as variáveis, permitindo verificar se os valores de exatidão se mantêm dentro do critério de aceitação em todo o domínio experimental. Essa estratégia garante a avaliação de uma ampla faixa de combinações possíveis, assegurando a robustez do método.

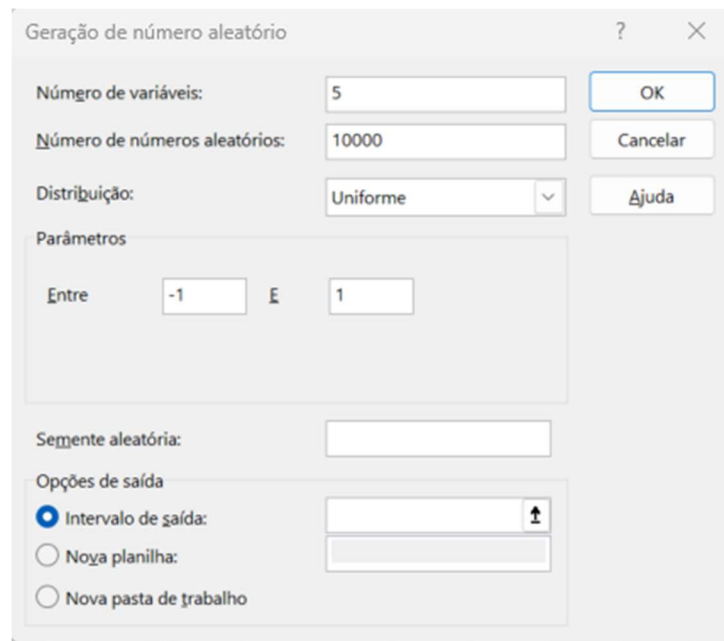


FIGURA 5.22: *Print* da ferramenta Geração de número aleatório do Excel® utilizado para verificação do *design space*.

Conforme pode ser visualizado na FIGURA 5.23, recorte de parte dos dados utilizados para confirmar o *design space*, os valores de recuperação ficaram entre 99,0% e 101,1%. Ainda foi avaliado utilizando na variável 5 (Lote da coluna), todos os dados com o lote 1 (V5 no nível -1) e todos os dados com o lote 2 (V5 no nível +1), visto que essa variável é categórica e pode ser apenas -1 ou +1, nesta simulação também obtivemos todos os dados atendendo ao critério de aceitação (FIGURAS 5.24 e 5.24).

b0	b3	b12	b35	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,509	-0,635	-0,090	-0,164	-0,330	100,17	99,04	101,11
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,558	0,966	0,883	-0,362	0,947	100,69		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,007	-0,265	-0,778	-0,421	0,557	99,58		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,956	0,326	-0,171	-0,471	-0,360	99,98		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,844	-0,386	0,578	-0,380	0,848	100,19		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,633	0,273	-0,828	-0,410	0,258	99,62		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,318	0,547	-0,706	-0,222	0,893	99,61		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,623	0,874	0,791	-0,926	-0,995	100,20		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,792	0,582	-0,401	0,875	-0,162	100,05		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,282	0,829	0,905	0,464	0,616	100,56		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,097	-0,441	-0,690	-0,926	-0,538	100,14		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,081	-0,594	-0,702	0,792	-0,522	99,82		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,867	0,504	0,750	-0,162	0,222	100,20		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,247	-0,774	-0,740	0,846	0,882	99,80		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,201	0,735	-0,415	0,909	-0,225	99,93		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,279	-0,399	-0,281	0,370	0,628	100,03		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,532	-0,148	0,600	-0,181	0,009	100,28		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,200	-0,556	0,956	-0,403	0,426	100,49		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,166	0,485	-0,769	-0,085	-0,956	100,10		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,719	-0,806	0,082	-0,968	-0,131	99,93		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,282	-0,170	-0,695	0,078	-0,750	99,97		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,985	-0,134	0,463	-0,532	-0,482	100,27		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	0,798	-0,226	0,088	-0,638	0,069	100,14		
100,060	0,329	-0,335	0,329	0,346	-0,176	-0,462	0,637	0,094	0,034	100,25		

FIGURA 5.23: Print dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios em todas as variáveis.

b0	b3	b12	b35	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,5085	-0,635	-0,09	-0,164	-1	100,23	99,42	100,71
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,558	0,9655	0,8831	-0,362	-1	100,37		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0069	-0,265	-0,778	-0,421	-1	100,21		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,9556	0,3262	-0,171	-0,471	-1	100,12		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,844	-0,386	0,5775	-0,38	-1	100,08		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,6327	0,2732	-0,828	-0,41	-1	100,14		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,318	0,547	-0,706	-0,222	-1	100,20		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,6232	0,8735	0,7905	-0,926	-1	100,20		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,792	0,5824	-0,401	0,8745	-1	99,91		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,282	0,829	0,9045	0,4645	-1	99,82		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0974	-0,441	-0,69	-0,926	-1	100,40		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0807	-0,594	-0,702	0,7922	-1	99,80		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,8672	0,5038	0,7496	-0,162	-1	99,97		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,247	-0,774	-0,74	0,8464	-1	99,70		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,201	0,7352	-0,415	0,9092	-1	99,79		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,2791	-0,399	-0,281	0,3702	-1	99,97		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,532	-0,148	0,6002	-0,181	-1	100,15		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,2005	-0,556	0,9562	-0,403	-1	100,24		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,166	0,485	-0,769	-0,085	-1	100,12		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,719	-0,806	0,0817	-0,968	-1	100,20		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,282	-0,17	-0,695	0,0784	-1	100,02		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,9849	-0,134	0,4626	-0,532	-1	100,29		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,7982	-0,226	0,0881	-0,638	-1	100,34		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,176	-0,462	0,637	0,0938	-1	100,00		

FIGURA 5.24: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 1.

b0	b3	b12	b35	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,5085	-0,635	-0,09	-0,164	1	100,05	98,92	101,27
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,558	0,9655	0,8831	-0,362	1	100,70		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0069	-0,265	-0,778	-0,421	1	99,40		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,9556	0,3262	-0,171	-0,471	1	99,68		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,844	-0,386	0,5775	-0,38	1	100,20		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,6327	0,2732	-0,828	-0,41	1	99,32		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,318	0,547	-0,706	-0,222	1	99,58		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,6232	0,8735	0,7905	-0,926	1	100,08		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,792	0,5824	-0,401	0,8745	1	100,25		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,282	0,829	0,9045	0,4645	1	100,74		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0974	-0,441	-0,69	-0,926	1	99,30		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,0807	-0,594	-0,702	0,7922	1	99,89		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,8672	0,5038	0,7496	-0,162	1	100,35		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,247	-0,774	-0,74	0,8464	1	99,80		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,201	0,7352	-0,415	0,9092	1	100,15		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,2791	-0,399	-0,281	0,3702	1	100,04		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,532	-0,148	0,6002	-0,181	1	100,42		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,2005	-0,556	0,9562	-0,403	1	100,59		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,166	0,485	-0,769	-0,085	1	99,55		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,719	-0,806	0,0817	-0,968	1	99,58		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,282	-0,17	-0,695	0,0784	1	99,61		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,9849	-0,134	0,4626	-0,532	1	100,22		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	0,7982	-0,226	0,0881	-0,638	1	99,96		
100,06	0,3288	-0,335	0,3288	0,3463	-0,176	-0,462	0,637	0,0938	1	100,48		

FIGURA 5.25: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 2.

Desta forma, foi possível comprovar que o método é robusto para a determinação do teor do Ativo 1 e suas impurezas.

De forma análoga, foi verificada a robustez para a determinação do Ativo 2 e suas impurezas.

A TABELA 5.49 traz as variáveis avaliadas e a resposta esperada para o Ativo 2 e na TABELA 5.50 e 5.51 os dados de recuperação das análises cromatográficas realizadas.

TABELA 5.49: Planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.

Fatores: variáveis do método analítico		Níveis		
		-1	0	1
V1	Fluxo da Fase móvel (mL/min)	0,9	1,0	1,1
V2	Temperatura do forno da coluna (°C)	39	40	41
V3	pH da fase móvel	3,7	3,8	3,9
V4	Composição da fase móvel - Proporção inicial e final do gradiente (aquoso:orgânico)	98:2	97:3	96:4
V5	Lote da coluna (fase reversa)	Lote 1	NA	Lote 2
Resposta		Critério de aceitação		
Y1	Recuperação da do ativo 2	Alvo 98,0% a 102,0%		

TABELA 5.50 (parte 1): Resultados experimentais do *DoE* para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.

Corridas	Fatores: variáveis do método analítico					Resposta
	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação do ativo 2 (%)
Experimento 1	0,9 mL/min	39°C	pH 3,7	98:2	Lote 2	103,17
Experimento 2	1,1 mL/min	39°C	pH 3,7	98:2	Lote 1	100,21
Experimento 3	0,9 mL/min	41°C	pH 3,7	98:2	Lote 1	112,12
Experimento 4	1,1 mL/min	41°C	pH 3,7	98:2	Lote 2	95,56
Experimento 5	0,9 mL/min	39°C	pH 3,9	98:2	Lote 1	111,83
Experimento 6	1,1 mL/min	39°C	pH 3,9	98:2	Lote 2	98,12
Experimento 7	0,9 mL/min	41°C	pH 3,9	98:2	Lote 2	109,40
Experimento 8	1,1 mL/min	41°C	pH 3,9	98:2	Lote 1	99,08
Experimento 9	0,9 mL/min	39°C	pH 3,7	96:4	Lote 1	101,13
Experimento 10	1,1 mL/min	39°C	pH 3,7	96:4	Lote 2	101,68
Experimento 11	0,9 mL/min	41°C	pH 3,7	96:4	Lote 2	102,43
Experimento 12	1,1 mL/min	41°C	pH 3,7	96:4	Lote 1	101,82
Experimento 13	0,9 mL/min	39°C	pH 3,9	96:4	Lote 2	94,54
Experimento 14	1,1 mL/min	39°C	pH 3,9	96:4	Lote 1	94,83
Experimento 15	0,9 mL/min	41°C	pH 3,9	96:4	Lote 1	95,62
Experimento 16	1,1 mL/min	41°C	pH 3,9	96:4	Lote 2	94,55
Experimento 17 Réplica 1	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 2	100,43
Experimento 17 Réplica 2	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 2	100,55
Experimento 17 Réplica 3	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 2	100,66

TABELA 5.51 (parte 2): Resultados experimentais do *DoE* para avaliação da robustez do método analítico para determinação de teor e impurezas do Ativo 2.

Corridas	Fatores: variáveis do método analítico					Resposta
	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação do ativo 2 (%)
Experimento 18 Réplica 1	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 1	100,99
Experimento 18 Réplica 2	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 1	101,06
Experimento 18 Réplica 3	1,0 mL/min	40°C	pH 3,8	97:3	Lote 1	101,78
SQEP (Réplicas dos experimentos 17 e 18)						0,41
g.l.						4

Ao avaliar os dados, verifica-se que alguns experimentos obtiveram valores fora da faixa aceitável, o que indica que o método não é robusto em todo domínio experimental. Sendo assim, foi avaliado se os dados apresentam um modelo matemático adequado para a resposta estudada, conforme ANOVA apresentada na TABELA 5.52 e seus respectivos coeficientes, TABELA 5.53.

TABELA 5.52: Tabela Anova do modelo calculado para a resposta Recuperação do ativo 2 (%)

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	513,070	15	34,205	66,762	2,309 E-07	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	4,611	9	0,512	-	-	
Total	517,680	24	21,570	-	-	
Erro Puro	0,409	4	0,102	8,221	3,140 E-02	Apresenta falta de ajuste (p-valor>0,05)
Falta de ajuste	4,202	5	0,840	-	-	
R²	0,991	r	0,996	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,999	r máx	1,000	-	-	-

TABELA 5.53: Tabela com os coeficientes de regressão para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Conc.
b0	100,970	100,460	101,480	0,513	sim
b1	-2,774	-3,411	-2,138	0,636	sim
b2	0,317	-0,319	0,953	0,636	não
b3	-1,259	-1,896	-0,623	0,636	sim
b4	-2,681	-3,317	-2,044	0,636	sim
b5	-0,892	-1,404	-0,379	0,513	sim
b12	-0,796	-1,432	-0,159	0,636	sim
b13	-0,327	-0,963	0,309	0,636	não
b14	2,669	2,033	3,306	0,636	sim
b15	0,321	-0,316	0,957	0,636	não
b23	-0,401	-1,037	0,236	0,636	não
b24	-0,037	-0,673	0,599	0,636	não
b25	0,237	-0,399	0,873	0,636	não
b34	-2,181	-2,817	-1,544	0,636	sim
b35	0,481	-0,156	1,117	0,636	não
b45	1,049	0,413	1,686	0,636	sim

Com os dados apresentados, o modelo matemático foi recalculado (TABELA 5.54) com os coeficientes válidos apenas (TABELA 5.55) e verificado o modelo matemático por meio da ANOVA.

TABELA 5.54: Tabela Anova do modelo recalculado para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).

	SQ	g.l.	MQ	Teste F	p - valor	Comentários
Regressão	498,410	8	62,302	54,770	9,091 E-09	Regressão significativa (p-valor<0,05)
Resíduo	14,788	13	1,138	-	-	
Total	513,200	21	24,438	-	-	
Erro Puro	0,409	4	0,102	15,629	8,867 E-03	Apresenta falta de ajuste (p-valor<0,05)
Falta de ajuste	14,379	9	1,598	-	-	
R²	0,971	r	0,985	-	-	Regressão adequada
R² máx	0,999	r máx	1,000	-	-	-

TABELA 5.55: Tabela com os coeficientes recalculados de regressão para a resposta Recuperação do ativo 2 (%).

	Coef	Coef-IC	Coef+IC	IC	Conc.
b0	100,980	100,360	101,600	0,621	sim
b1	-2,774	-3,503	-2,046	0,729	sim
b3	-1,259	-1,988	-0,531	0,729	sim
b4	-2,681	-3,409	-1,952	0,729	sim
b5	-0,881	-1,502	-0,259	0,621	sim
b12	-0,796	-1,524	-0,067	0,729	sim
b14	2,669	1,941	3,398	0,729	sim
b34	-2,181	-2,909	-1,452	0,729	sim
b45	1,049	0,321	1,778	0,729	sim

Os resultados demonstram que o modelo matemático apresenta falta de ajuste. No entanto, é importante notar que essa é uma avaliação de robustez de

método cromatográfico, sendo que as réplicas foram preparadas individualmente, mas injetadas na mesma batelada analítica. Como resultado, a variação de recuperação é muito baixa, o que é esperado para avaliações de métodos analíticos cromatográficos. Portanto, foi decidido continuar a avaliação dos dados utilizando esses coeficientes.

Para a avaliação da robustez dentro dos intervalos estudados das variáveis utilizou-se a ferramenta Geração de números aleatórios no Excel®, FIGURA 5.22, por meio da distribuição Uniforme, com a finalidade de avaliar diversas combinações entre as variáveis e confirmar se em toda região os valores de exatidão estão dentro do critério de aceitação determinado previamente.

Conforme pode ser visualizado na FIGURA 5.26, recorte de parte dos dados utilizados avaliar a robustez, os valores de recuperação ficaram entre 94,9% e 111,3%. Ainda foi avaliado utilizando na variável 5 (Lote da coluna), todos os dados com o lote 1 (V5 no nível -1) e todos os dados com o lote 2 (V5 no nível +1), visto que essa variável é categórica e pode ser apenas -1 ou +1, nesta simulação também obtivemos os dados fora do critério de aceitação (FIGURAS 5.27 e 5.28).

b0	b1	b3	b4	b5	b12	b14	b34	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,624	-0,011	0,704	-0,601	0,297	104,902	94,854	111,338
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,858	-0,480	0,067	-0,884	-0,310	108,034		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,442	0,860	0,306	0,699	-0,171	97,578		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,973	0,122	0,395	-0,991	-0,442	110,207		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,325	0,214	0,387	0,108	0,402	100,666		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,380	-0,762	0,850	0,773	-0,751	96,495		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,520	-0,689	0,022	0,957	0,988	98,633		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,741	-0,267	0,317	-0,053	-0,291	103,035		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,917	0,141	0,939	-0,901	0,557	107,895		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,579	-0,309	0,705	-0,051	0,370	98,418		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,626	0,361	-0,537	0,789	-0,751	99,906		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,537	-0,279	0,877	0,733	-0,153	96,204		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,507	-0,510	0,002	0,041	0,967	101,202		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,751	-0,370	-0,448	-0,640	0,456	98,782		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,878	-0,347	0,696	0,003	0,160	97,764		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,294	0,550	-0,606	0,271	-0,329	100,838		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,417	-0,107	0,681	0,603	0,674	97,895		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,117	0,202	-0,238	-0,548	0,495	102,259		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,354	0,846	-0,930	0,571	0,731	100,891		

FIGURA 5.26: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios em todas as variáveis.

b0	b1	b3	b4	b5	b12	b14	b34	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,624	-0,011	0,704	-0,601	-1	106,862	94,721	111,692
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,858	-0,480	0,067	-0,884	-1	109,282		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,442	0,860	0,306	0,699	-1	97,700		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,973	0,122	0,395	-0,991	-1	111,278		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,325	0,214	0,387	0,108	-1	101,743		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,380	-0,762	0,850	0,773	-1	96,512		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,520	-0,689	0,022	0,957	-1	98,387		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,741	-0,267	0,317	-0,053	-1	103,700		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,917	0,141	0,939	-0,901	-1	110,738		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,579	-0,309	0,705	-0,051	-1	99,699		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,626	0,361	-0,537	0,789	-1	99,919		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,537	-0,279	0,877	0,733	-1	96,298		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,507	-0,510	0,002	0,041	-1	102,851		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,751	-0,370	-0,448	-0,640	-1	101,043		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,878	-0,347	0,696	0,003	-1	98,782		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,294	0,550	-0,606	0,271	-1	101,238		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,417	-0,107	0,681	0,603	-1	98,311		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,117	0,202	-0,238	-0,548	-1	104,435		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,354	0,846	-0,930	0,571	-1	101,379		

FIGURA 5.27: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 1.

b0	b1	b3	b4	b5	b12	b14	b34	b45	V1	V2	V3	V4	V5	Recuperação	Recuperação Mínima	Recuperação Máxima
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,624	-0,011	0,704	-0,601	1	103,839	94,920	107,937
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,858	-0,480	0,067	-0,884	1	105,665		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,442	0,860	0,306	0,699	1	97,405		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,973	0,122	0,395	-0,991	1	107,437		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,325	0,214	0,387	0,108	1	100,208		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,380	-0,762	0,850	0,773	1	96,373		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,520	-0,689	0,022	0,957	1	98,635		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,741	-0,267	0,317	-0,053	1	101,826		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,917	0,141	0,939	-0,901	1	107,085		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,579	-0,309	0,705	-0,051	1	97,829		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,626	0,361	-0,537	0,789	1	99,814		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,537	-0,279	0,877	0,733	1	96,076		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,507	-0,510	0,002	0,041	1	101,175		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,751	-0,370	-0,448	-0,640	1	97,938		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,878	-0,347	0,696	0,003	1	97,027		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,294	0,550	-0,606	0,271	1	100,046		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,417	-0,107	0,681	0,603	1	97,814		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	-0,117	0,202	-0,238	-0,548	1	101,524		
100,980	-2,774	-1,259	-2,681	-0,881	-0,796	2,669	-2,181	1,049	0,354	0,846	-0,930	0,571	1	100,815		

FIGURA 5.28: *Print* dos dados gerados no Excel® para verificação do *desing space* com números aleatórios nas variáveis de 1 a 4 e com a variável 5 simulando todos os dados com a utilização da coluna Lote 2.

Avaliando os dados, observa-se que o método não apresentou robustez adequada, verificou-se que ao reduzir o intervalo das variáveis 1 a 4 seria possível ter um *design space* robusto para esta metodologia, mas da mesma forma, verifica-se valores de recuperação fora do critério de aceitação. Sendo assim, após investigação, levantou-se a hipótese de ausência de robustez ser decorrente dos métodos de padrão e amostra terem tempo de análise distintos. O método de amostra finaliza 5 minutos após a eluição do padrão (tempo total de 40 minutos), já o método de padrão possui um gradiente de limpeza após a eluição do pico principal (tempo total de 40 minutos). Desta forma, foi repetido o experimento 5 analisando padrão e amostra no método de padrão e padrão e amostra no método de amostra.

Os dados obtidos validaram a hipótese levantada, visto que quando calculada a recuperação utilizando método de padrão e amostra a recuperação (110,7%) foi muito próxima do valor previsto (111,16%) pela equação obtida na robustez, já quando calculado com método de padrão e padrão ou amostra e amostra, a recuperação nos dois casos são 99,5% e 99,9% respectivamente, permanecendo dentro dos critérios estabelecidos e aceitáveis. Neste sentido, confirma a necessidade de alterar a metodologia do padrão para ter exatamente a mesma eluição e tempo de corrida da amostra.

6. CONCLUSÕES

Os experimentos realizados demonstraram que as variáveis de formulação influenciam significativamente nos atributos críticos do produto, redução do teor do Ativo 2 e a formação de sua impureza conhecida. A análise dos resultados possibilitou a definição da combinação ideal de excipientes, tanto qualitativa quanto quantitativa, resultando em um medicamento com maior estabilidade e robustez.

Além disso, foi possível avaliar que as variáveis de processo não impactam na estabilidade da formulação.

No que se refere à robustez dos métodos analíticos para determinação de teor e impurezas dos Ativos 1 e 2 utilizando *DoE*, os estudos realizados possibilitaram uma avaliação mais criteriosa dos métodos analíticos, sendo possível inclusive identificar um problema de robustez em uma das metodologias e propor uma estratégia de correção, evitando assim variações de resultados decorrentes de ausência de robustez da metodologia. Desta forma, aprimorando o controle do procedimento analítico, resultando em uma análise mais confiável.

A implementação deste *case* vem trazendo a difusão desses conhecimentos e facilitando a inovação e a melhoria contínua em diversas áreas da empresa, o que possibilitará o lançamento de outros produtos que atendam esse rigor de desenvolvimento e que um problema de qualidade possa ser analisado com eficiência e a causa raiz identificada mais rapidamente.

O estudo também implicará em reduzir o risco de reprovações e recolhimentos do lote deste produto no mercado após a implementação desta nova formulação no produto atual, o que pode trazer uma economia de recursos da ordem R\$ 200.000,00 por lote no mercado.

7. REFERÊNCIAS

- [1] SINDUSFARMA, Perfil da indústria farmacêutica e aspectos relevantes do setor, Sindusfarma, 2023. Disponível em: https://sindusfarma.org.br/uploads/files/229d-gerson-almeida/Publicacoes_PPTs/PERFIL_IF_2023.pdf. Acesso em: 19 Outubro 2023.
- [2] BRASIL, Resolução RDC Nº 585, de 10 de dezembro de 2021. Aprova e promulga o Regimento Interno da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Ed. 235, 15 de dezembro de 2021. Seção 1, 295.
- [3] DFL, Nossa História, Uma nova DFL chegando aos seus 80 anos. DFL. Disponível em: <https://www.dfl.com.br/sobre-nos/nossa-historia/>. Acesso em: 26 Maio 2022.
- [4] Anvisa. Revisão: entenda como ficaram as normas da área de fiscalização da Anvisa. Anvisa, 19 Maio 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/revisao-entenda-como-ficaram-as-normas-da-area-de-fiscalizacao>. Acesso em: 26 Maio 2022.
- [5] BRASIL, Resolução RDC Nº 658, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 62, 31 de março de 2022. Seção 1, 320.
- [6] BRASIL, Instrução Normativa IN Nº 138, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares às atividades de qualificação e validação. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 62, 31 de março de 2022. Seção 1, 367.
- [7] ICH, ICH Official Website, International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Disponível em: <https://www.ich.org/page/history>. Acesso em 11 de junho 2024.
- [8] TUBINO, Matthieu; SIMONI, José de Alencar. Refletindo sobre o caso Celobar. Química Nova, 30(2), 505-506, 2007.
- [9] PATWARDHAN, D.M., AMRUTKAR, S.S., KOTWAL, T.S. & WAGH, M.P.. Application of quality by design to different aspects of pharmaceutical technologies. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 8, 2320-5148, 2017.
- [10] ICH, Guideline. ICH Q8(R2) Pharmaceutical Development, de 1º de Agosto de 2009. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q8%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acesso em 29 de maio 2022.
- [11] ZHANG, Lan; MAO, Shirui. Application of quality by design in the current drug development. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 12, 1–8, 2017.

-
- [12] FDA. Critical Path Initiative: Transforming the way FDA-regulated products are developed, evaluated, and manufactured. U.S. Food & Drug Administration, de 23 de abril 2018. Disponível em: <https://www.fda.gov/science-research/science-and-research-special-topics/critical-path-initiative>. Acesso em 29 de maio 2022.
- [13] ICH, Guideline. ICH Q9 Quality Risk Management, de 9 de novembro 2005, "ICH Harmonised Tripartite Guideline, Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf>. Acesso em 29 de maio 2022.
- [14] ICH, Guideline. ICH Q10 Pharmaceutical Quality System, de 4 Junho 2008. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q10%20Guideline.pdf>. Acesso em 29 de maio 2022.
- [15] FDA, Pharmaceutical Quality for the 21st Century A Risk-Based Approach Progress Report. U.S. Food and Drug Administration, de 27 de novembro de 2015. Disponível em: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/pharmaceutical-quality-21st-century-risk-based-approach-progress-report>. Acesso em 29 de maio 2022.
- [16] PDA, Guideline. Technical Report N° 60 Processes Validation: A Lifecycle Approach, 2013. Parental Drug Association.
- [17] LAWRENCE X. Yu, AMIDON G., KHAN M. A., HOAG S. W., POLLI J., RAJU G. K. & WOODCOCK J.. Understanding Pharmaceutical Quality by Design. The AAPS Journal, 16, 771-783, 2014.
- [18] KALYAN, S. & PARLE, A.. Quality by Design: changing outlook of pharmaceutical development. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10, 4100-4108, 2019.
- [19] MAZUMDER, S., PAVURALA, N., MANDA, P., XU, X., CRUZI, C. N. & KRISHNAIAH Y. S. R.. Quality by Design approach for studying the impact of formulation and process variables on product quality of oral disintegrating. International Journal of Pharmaceutics, 527, 151-160, 2017.
- [20] MAGUIRE, J. & PENG D.. How to Identify Critical Quality Attributes and Critical Process Parameters. In: FDA/PQRI 2nd Conference, North Bethesda, Maryland, 6 de outubro de 2015. Disponível em: <https://pqri.org/wp-content/uploads/2015/10/01-How-to-identify-CQA-CPP-CMA-Final.pdf>. Acesso em: 26 Maio 2022.
- [21] VAN BUSKIRK, G. A., ASOTRA, S., BALDUCCI, C., BASU, P., DIDONATO, G., DORANTES, A., EICKHOFF, W. M., GHOSH, T., GONZÁLEZ, M. A., HENRY, T., HOWARD, M., KAMM, J., LAURENZ, S., MACKENZIE, R., MANNION, R., NOONAN, P. K., OCHEL TREE, T., PAI, U., POSKA, R. P., PUTNAM, M. L Raghavan RR, Ruegger C, Sánchez E, Shah VP, Shao ZJ, SOMMA R, TAMMARA V, THOMBRE AG, THOMPSON B, TIMKO RJ, UPADRASHTA S & VAITHIYALINGAM S.. Best Practices for the Development, Scale-up, and Post-

approval Change Control of IR and MR Dosage Forms in the Current Quality-by-Design Paradigm. *AAPS PharmSciTech*, 15, 665-693, 2014.

- [22] ISPE; PDA. ISPE – PDA Guide to Improving quality Culture in Pharmaceutical Manufacturing Facilities. International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE) e Parenteral Drug Association (PDA), 2019. Disponível em: <https://ispe.org/sites/default/files/regulatory/ispe-pda-guide-to-improving-quality-culture.pdf>. Acesso em 01 de junho 2022.
- [23] KOVÁCS, A., KIS, N., BUDAI-SZÚCS, M., GÁCSI, A., CSÁNYI, E., CSÓKA, I., & BERKÓ, S.. QbD-Based Investigation of Dermal Semisolid in situ Film-Forming Systems for Local Anaesthesia. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 5059-5076, 2020.
- [24] LIU, H., RIVNAY, B., AVERY, K., MYUNG, J. H., KOZAK, D., LANDRAU, N., NIVOROZHKIN, A., ASHRAF, M. & YOON, S.. Optimization of the manufacturing process of a complex amphotericin B liposomal formulation using quality by design approach. *International Journal of Pharmaceutics*, 585, 2020.
- [25] TESTAS, M. SAIS, T. C., MEDINILHA, L. P., NIWA, K. N. I., CARVALHO, L. S., MAIA, S. D., FLORES, A., BRAZ, P. L., MENEZES, J. C. & YAMAKAWA, C. Y.. An industrial case study: QbD to accelerate time-to-market of a drug product. *AAPS Open*, 7, 2021.
- [26] PALLAGI, E., JÓJÁRT-LACZKOVICH, O., NÉMETH, Z., SZABÓ-RÉVÉSZ, P., & CSÓKA, I.. Application of the QbD-based approach in the early development of liposomes for nasal administration. *International Journal of Pharmaceutics*, 562, 11-22, 2019.
- [27] FDA. Quality by Design for ANDAs: An Example for Immediate-Release Dosage Forms. U.S. Food and Drug Administration, abril 2012. Disponível em: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/quality-by-design-%28QbD%29-for-an-immediate-release.pdf>. Acesso em 06 de junho 2022.
- [28] FDA. Quality by Design for ANDAs: An Example for Modified Release Dosage Forms. U.S. Food and Drug Administration, dezembro 2011. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/82834/download>. Acesso em 08 de junho 2022.
- [29] PEREIRA FILHO, Edénir. Planejamento Fatorial em Química Maximizando a Obtenção de Resultados. São Carlos: Edufscar. 2015.
- [30] BAERTSCHI, S. W., ALSANTE, K. M., REED, Robert, A. R.. *Pharmaceutical Stress Testing Predicting Drug Degradation*. Londres: Informa Healthcare, 2011.
- [31] BRASIL, Resolução RDC Nº 53, de 4 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, DF*, n. 234, 8 de dezembro de 2015. Seção 1, 53.

-
- [32] Guia Anvisa, GUIA nº 4, versão 1, de 04 de dezembro de 2015. Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. Anvisa, 08 de dezembro de 2015.
- [33] BRASIL, Resolução RDC Nº 200, de 26 de dezembro de 2017. Dispõe sobre os critérios para a concessão e renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 20, 29 de janeiro de 2018. Seção 1, 63-71.
- [34] BRASIL, Resolução RDC Nº 37, de 03 de agosto de 2011. Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 150, 5 de agosto de 2011, Seção 1, 117.
- [35] ICH, Guideline. ICH Q14 Analytical Procedure Development, de 1 de novembro 2023," ICH Harmonised Tripartite Guideline,. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q14_Guideline_2023_1116.pdf. Acesso em 31 de maio 2023.
- [36] BRASIL, Resolução RDC Nº 166, de 24 Julho 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 141, 25 de julho de 2017, Seção 1, 141.
- [37] ROWE, Raymond; SHESKEY, Paul J; QUINN, Marian E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Londres: Pharmaceutical Press, 2009.
- [38] PEREIRA, F., PEREIRA-FILHO, E.. Aplicação de programa computacional livre em planejamento de experimentos: um tutorial. Química Nova 41, 1061-1071, 2018.
- [39] HILÁRIOA, Felipe F.; CASTROA, Jeyne P.; BARROSB, Tomas E.; PEREIRA-FILHO, Edenir. Planejamento de misturas e visualização da região ótima com planilhas no excel: um tutorial. Química Nova 44, 874-881, 2021.
- [40] FERREIRA, D. S.; RODRIGUES, L. S., PEREIRA, F.; PEREIRA-FILHO, E.. *Principal component analysis (PCA)* para a avaliação de dados químicos e geração de *heat maps*: um tutorial. Química Nova 46, 747-754, 2023.
- [41] ARAUJO, A. S., ANDRADE, D. F., BABOS, V., CASTRO, J. P., GARCIA, J. A., SPERANÇA, M. A., GAMELA, R. R., MACHADO, R. C., COSTA, V. C., GUEDES, W. N., PEREIRA-FILHO, E. R. & PEREIRA, F. M. V.. Key Information Related to Quality by Design (QbD) Applications in Analytical Methods Development. Brazilian Journal of Analytical Chemistry 2021, Volume 8, Issue 30, pp 14-28
- [42] BREITKREITZ, M. C. Analytical Quality by Design. Braz. J. Anal. Chem., 2021, 8 (32), pp 1-5.

-
- [43] BRASIL, Resolução RDC Nº 318, de 06 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 216, 7 de novembro de 2019, Seção 1, 97.
- [44] BRASIL, Resolução RDC Nº 34, de 07 de agosto de 2019. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Excipientes Farmacêuticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 151, 10 de agosto de 2015, Seção 1, 41.
- [45] BRASIL, Resolução RDC Nº 359, de 27 março 2020. Institui o Dossiê de Insumo Farmacêutico Ativo (DIFA) e a Carta de Adequação de Dossiê de Insumo Farmacêutico Ativo (CADIFA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 151, 1º de abril de 2020, Seção 1, 87.
- [46] Anvisa, Regularização de Produtos – Medicamentos. Alteração Pós-Registro. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/en/registros-e-autorizacoes/medicamentos/produtos/alteracao-pos-registro#:~:text=As%20mudan%C3%A7as%20p%C3%B3s%2Dregistro%20s%C3%A3o,acordo%20com%20a%20legisla%C3%A7%C3%A3o%20vigente.> Acesso em 28 Maio 2022.
- [47] BRASIL, Resolução RDC Nº 73, de 7 Abril 2016. Dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 67, 8 de abril de 2016, Seção 1, 32.

GLOSSÁRIO

Abordagem tradicional: abordagem de desenvolvimento de medicamentos onde os valores - alvos (*set points*) e intervalos de operação para os parâmetros de processo - são definidos para assegurar reprodutibilidade [6].

Atributo crítico da qualidade (*Critical Quality Attribute - CQA*): propriedade ou característica física, química, biológica ou microbiológica que deve estar dentro de um limite, faixa ou distribuição aprovados para garantir a qualidade desejada do produto [6].

Atributo crítico de material (*Critical Material Attribute, CMA*): uma propriedade ou característica física, química, biológica ou microbiológica de um material de entrada que deve estar dentro de um limite, faixa ou distribuição apropriados para garantir a qualidade desejada do material de saída [20].

Boas Práticas de Fabricação (BPF): é a parte do Gerenciamento da Qualidade que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e controlados, de acordo com os padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido pelo registro sanitário, autorização para uso em ensaio clínico ou especificações do produto [5].

Cuidados de Conservação: condições de temperatura e umidade recomendadas para conservação do IFA ou medicamento com base no Estudo de Estabilidade [43].

Ciclo da vida: todas as fases da vida útil de um produto, equipamento ou instalação, desde o desenvolvimento inicial ou até a descontinuação do uso [6].

Design space: combinação multidimensional e interação de variáveis de entrada, como atributos do material e parâmetros do processo, que demonstram fornecer garantia de qualidade [6].

Desvio: não cumprimento de requisitos determinados pelo Sistema de Gestão da Qualidade Farmacêutica ou necessários para a manutenção da qualidade, segurança e eficácia dos produtos [5].

Especificação: documento que descreve em detalhes os requisitos aos quais produtos ou materiais usados ou obtidos durante a fabricação devem atender, servindo de base para a avaliação da qualidade [5].

Estado de controle: condição em que os controles definidos proveem consistentemente garantia de que os processos são desempenhados adequadamente e os produtos têm qualidade [6].

Estratégia de controle: conjunto planejado de controles, derivado da compreensão atual do produto e do processo, que garante o desempenho do processo e a qualidade do produto, podendo incluir parâmetros e atributos relacionados ao insumo farmacêutico ativo ou a matérias-primas e materiais do medicamento, condições de operação de instalações e equipamentos, controles em processo, especificações de produtos terminados e os métodos associados e frequência de monitoramento e controle [6].

Excipiente farmacêutico: qualquer componente, que não seja substância ativa, adicionado intencionalmente à formulação de uma forma farmacêutica [44].

Gerenciamento de risco da qualidade: processo sistemático de avaliação, controle, comunicação e revisão do risco durante o ciclo de vida [6].

Insumo farmacêutico ativo (IFA): qualquer substância introduzida na formulação de uma forma farmacêutica que, quando administrada em um paciente, atua como ingrediente ativo, podendo exercer atividade farmacológica ou outro efeito direto no diagnóstico, cura, tratamento ou prevenção de uma doença, podendo ainda afetar a estrutura e funcionamento do organismo humano [45].

Medicamento similar: aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração,

posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca [33].

Mudança pós-registro: solicitação de mudança no registro do produto relacionados à qualquer modificação de fórmula, alteração dos elementos de composição ou de seus quantitativos, adição, subtração ou inovação introduzida na elaboração do produto ou da embalagem, dentre outras, de acordo com a norma da Anvisa que dispõe sobre pós-registro de medicamentos. As mudanças pós-registro são classificadas de acordo com o seu potencial impacto na qualidade, segurança e eficácia do medicamento, podendo ser de implementação imediata, com ou sem protocolo individual, ou depender de aprovação prévia da Anvisa, de acordo com a legislação vigente [46] [47].

Parâmetro crítico do processo (*Critical Process Parameter - CPP*): parâmetro de processo cuja variabilidade tem um impacto em um atributo crítico da qualidade e, portanto, deve ser monitorado ou controlado para garantir que o processo produza um produto com a qualidade desejada [6].

Perfil de Qualidade do Produto Alvo (*Quality Target Product Profile, QTPP*): Um resumo prospectivo das características de qualidade de um medicamento que idealmente serão alcançadas para garantir a qualidade desejada, levando em consideração a segurança e eficácia do medicamento (*ICH Q8(R2)* tradução livre) [10].

Produto intermediário: produto parcialmente processado que deve ser submetido a etapas subsequentes de fabricação antes de se tornar um produto a granel [5].

Quality by design (*QbD*): abordagem sistemática que se inicia com objetivos pré-definidos e enfatiza o conhecimento/entendimento dos produtos, dos processos e dos controles em processos, sendo baseada/suportada pela ciência e pelo gerenciamento de risco da qualidade [6].

Validação de processo: evidência documentada de que um processo, operado dentro dos parâmetros pré-estabelecidos, pode desempenhar suas funções efetivamente e reprodutivamente para a produção de um medicamento dentro de suas especificações e atributos de qualidade pré-estabelecidos [6].