



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS – FARMANGUINHOS**

Aplicação do princípio de *Quality by Design* no processo de desenvolvimento analítico de métodos indicativos de estabilidade

JULIANA ALVIM PAIXÃO CHAVES

RIO DE JANEIRO

2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS

Juliana Alvim Paixão Chaves

**Pós-Graduação em Tecnologia Industrial Farmacêutica do Instituto de
Tecnologia em Fármacos**

**ORIENTADORA:
Prof. Dra. Margareth Borges Coutinho Gallo**

**RIO DE JANEIRO
2017**



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



FICHA CATALOGRÁFICA

C512a Chaves, Juliana Alvim Paixão

Aplicação do princípio *Quality by Design* no processo de desenvolvimento analítico de métodos indicativos de estabilidade. / Juliana Alvim Paixão Chaves. – Rio de Janeiro, 2017.

xiv, 55 f. ; 30 cm.

Orientadora: Margareth Borges Coutinho Gallo

Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, 2017.

Bibliografia: f. 51-55

1. Desenvolvimento Analítico. 2. Analytical Quality By Design.
3. Controle de Qualidade. I. Título.

CDD 615.1



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



JULIANA ALVIM PAIXÃO CHAVES

Monografia apresentada junto ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, como requisito final à obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Margareth B. C. Gallo

Presidente da Banca (Orientadora). Farmanguinhos/FIOCRUZ

Prof. Dra. Karen Medeiros Gonçalves

Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Farmanguinhos/FIOCRUZ

MSc Carla Giordani Testa

Laboratório Farmacêutico da Marinha

Rio de Janeiro

2017



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Dedicatória

Este trabalho é dedicado às mulheres fortes da minha família: Minha mãe Adailza, minha vó Adahil, minha madrinha Leila (*in memoriam*), minhas tias Adahil e Lilian e minha sogra Joia. Vocês são muito especiais na minha vida e são mulheres tão belas, cada qual a sua maneira, que me inspiram a ser cada vez melhor. Amo muito todas vocês!



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus que me possibilitou persistir no caminho do saber para a conclusão de mais essa etapa importante da minha vida.

À minha família, sobretudo, minha mãe e minha avó, que sempre me possibilitaram uma vida cheia de carinho e que não mediram esforços para que eu pudesse alcançar todos os meus objetivos, sempre confiando na minha capacidade.

Ao meu esposo David que no início dessa especialização era meu namorado e nesse turbilhão de acontecimentos na minha vida sempre me ajudou com ideias, estando comigo em meus momentos de apreensão e dúvidas, me mostrando uma visão cada vez mais linda da vida, tornando tudo mais fácil.

À professora Margareth Gallo que confiou em meu trabalho desde o início e cujo incentivo e apoio foram fundamentais.

Às coordenadoras do curso, Elisabeth e Carmem pelo carinho e por tornarem essa caminhada muito mais agradável e feliz.

Aos amigos e colegas de turma pelos bons momentos de convívio.

Ao Laboratório Farmacêutico da Marinha, minhas chefes Fernanda Pereira e Patrícia Pires e meus colegas de trabalho que me incentivaram, permitiram minha liberação para realização da minha especialização e contribuíram para que fosse possível a conclusão desse curso com a dedicação necessária.

Por fim, agradeço à todas as outras pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho.



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



“A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos e ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar”.

Eduardo Galeano

RESUMO

CHAVES, Juliana Alvim Paixão. **APLICAÇÃO DO PRINCÍPIO DE QUALITY BY DESIGN NO PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO DE MÉTODOS INDICATIVOS DE ESTABILIDADE.** Rio de Janeiro, 2017. Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ.

As ciências analíticas são consideradas uma parte integrante do desenvolvimento farmacêutico, sendo etapa primordial do ciclo de vida do produto farmacêutico. O desenvolvimento de Métodos Indicativos de Estabilidade (MIEs) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando a abordagem tradicional (OFAT – *One-factor-at-time* - Um fator de cada vez), no qual um único parâmetro é otimizado para a resposta esperada enquanto os outros permanecem constantes é baseada no desenvolvimento empírico. Nessa abordagem, o desenvolvimento é impulsionado pelos dados obtidos e é realizado, geralmente, de forma retrospectiva, a variabilidade não é entendida e, portanto, não é evitada. Esse tipo de abordagem apresenta um risco elevado de falhas durante a transferência de metodologia, podendo levar a necessidade de desenvolvimento de um método alternativo e revalidação, aumentando o custo e tempo para o desenvolvimento de métodos. Abordagens mais atuais são baseadas em um novo paradigma onde a qualidade não deve ser testada nos produtos e sim planejada e construída durante os processos de desenvolvimento e de produção - *Quality by Design* (QbD). Esta monografia visa apresentar os conceitos do QbD no contexto analítico, conhecido como *Analytical Quality by Design* (AQbD).

Palavras Chave: Desenvolvimento Analítico, *Analytical Quality By Design* e Controle de Qualidade

ABSTRACT

CHAVES, Juliana Alvim Paixão. **APPLICATION OF THE PRINCIPLE OF QUALITY BY DESIGN IN THE PROCESS OF ANALYTICAL DEVELOPMENT OF INDICATIVE METHODS OF STABILITY.** Rio de Janeiro, 2017.

Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ.

The analytical sciences are considered an integral part of pharmaceutical development, being a primordial stage in the pharmaceutical product life cycle. The development of Stability-Indicating Methods (SIM) by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using the traditional one-factor-at-time (OFAT) approach, in which a single parameter is optimized for expected response while others remain constant, is based on empirical development. In this approach, development is driven by the data obtained and it is performed, generally, retrospectively; variability is not understood and, therefore, is not avoided. This type of approach presents a high risk of failures during technology transfer, which may lead to the need of developing an alternative method and revalidation, increasing the cost and time for the development of methods. Current approaches are based on a new paradigm where quality should not be tested on products but rather to build by design - Quality by Design (QbD). This monograph aims to present QbD concepts in the analytical context, in which it is being applied, known as Analytical Quality by Design (AQbD).

Key Words: Analytical Development, Quality By Design e Quality Control

ÍNDICE DE TABELA

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Comparação entre a abordagem tradicional e por AQbD | 17 |
| Tabela 2 - ATP para IFA e Produto (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017)..... | 20 |
| Tabela 3 - Atributos Potenciais mais comuns de um método | 21 |
| Tabela 4 - Análise de risco para o desenvolvimento de método analítico usando FMEA..... | 24 |
| Tabela 5 - Amostras avaliadas no estudo de degradação forçada | 33 |
| Tabela 6 – Reações de estresse realizadas durante um estudo de degradação forçada | 33 |
| Tabela 7 - Exemplo de softwares empregados no desenvolvimento e otimização de métodos por CLAE | 34 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Tipos de estabilidade e testes relacionados (Adaptado de SILVA et al., 2009) | 7 |
| Figura 2 - Recolhimentos de medicamentos relacionados à ocorrência de impurezas - FDA | 9 |
| Figura 3 – Os diferentes tipos de perfil de degradação (Adaptado de BRASIL, 2015b)..... | 13 |
| Figura 4 - Etapas seguidas durante o desenvolvimento de um método pela abordagem AQbD | 18 |
| Figura 5 - Diagrama de espinha de peixe mostrando a análise de causa e efeito para um método de RP-HPLC para substâncias relacionadas (Adaptado de JAYAGOPAL e SHIVASHANKAR, 2017)..... | 23 |
| Figura 6 - Representação do Espaço de Concepção com apenas um CQA – Resolução do IFA (Adaptado de KARMARKAR et al., 2011)..... | 30 |
| Figura 7 - Representação do Espaço de Concepção para vários CQAs (Adaptado de KARMARKAR et al., 2011) | 30 |
| Figura 8 - Fluxograma para o desenvolvimento analítico de MIEs por AQbD | 32 |

ÍNDICE DE SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ADS - *Analytical Design Space*

AQbD - *Analytical QbD*

ATP - *Analytical Target Profile*

RP-HPLC-UV/DAD - CLAE Por Fase Reversa Acoplado a um Detector de Fotodiodo

CP - Consulta Pública

CQA - *Critical Quality Attribute*

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DoE - *Design of Experiments*

DS - *Design Space*

EMA - *European Medicines Agency*

EDF - Estudo de Degradação Forçada

FMEA - *Failure Modes, Effects Analysis*

FDA - *Food and Drug Agency*

IFA - Insumo Farmacêutico Ativo

ICH - *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human*

MODR - *Method Operable Design Region*

MIE - Método Indicativo de Estabilidade

OMS - Organização Mundial de Saúde

PBSD - *Plackett Burman Screening Design*

PMA - *Potential Method Attributes*

PD - Produtos de Degradação

PAR - *Proven Acceptable Range*



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



QbD - *Quality by Design*

QbT - *Quality by Testing*

QTPP - *Quality Target Product Profile*

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

RPN – *Risk Priority Number*

OOS – *Out off Specification*

OOT – *Out off Tendency*

OFAT – *One-factor-at-time* - Um fator de cada vez



SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1 <i>Justificativa</i> | 3 |
| 1.2 <i>Objetivos</i> | 5 |
| 1.2.1 <i>Geral</i> | 5 |
| 1.2.2 <i>Específicos</i> | 5 |
| 1.3 <i>Metodologia</i> | 5 |
| 2. O CENÁRIO DA QUALIDADE NA INDÚSTRIA FARMACEUTICA | 6 |
| 2.1 <i>Histórico da Qualidade na Indústria Farmacêutica – Estabilidade de Medicamentos</i> | 6 |
| 2.2 <i>Desenvolvimento de Métodos Indicativos de Estabilidade por CLAE</i> | 10 |
| 3. QUALIDADE DESDE O PROJETO/Concepção – QUALITY BY DESIGN | 14 |
| 4. QUALIDADE ANALÍTICA BASEADA NO PROJETO (AQbD) - ANALYTICAL QUALITY BY DESIGN | 16 |
| 4.1 <i>Elementos da Qualidade Analítica por Concepção -AQbD</i> | 19 |
| 4.1.1 <i>Perfil Analítico Alvo - Analytical Target Profile (ATP)</i> | 19 |
| 4.1.2 <i>Atributo Crítico de Qualidade – Critical Quality Attribute (CQA)</i> | 21 |
| 4.1.3 <i>Análise de Risco - Risk Assessment</i> | 22 |
| 4.1.4 <i>Planejamento Experimental – Design of Experiments (DoE)</i> | 27 |
| 4.1.5 <i>Delineamento Espacial/Área de Concepção - Design Space (DS)</i> | 28 |
| 4.1.6 <i>Estratégia de Controle/Monitoramento - Analytical Control Strategy (ACS)</i> | 31 |
| 4.1.7 <i>Monitoramento Contínuo do Método (CMM)</i> | 31 |
| 4.2 <i>Amostras utilizadas no Desenvolvimento de MIEs</i> | 32 |
| 4.3 <i>Softwares utilizados no AQbD</i> | 33 |
| 5 CONCLUSÃO | 35 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS | 37 |

1. INTRODUÇÃO

Estudos de produtos de degradação (PD) e de impurezas em medicamentos têm sido exaustivamente discutidos pela área farmacêutica-industrial no Brasil desde a publicação da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 58 em 2013 (BRASIL, 2013) que estabeleceu parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de PD em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares.

Esta normativa tinha como prazo para entrar em vigor no final de dezembro de 2015. Porém, dada a complexidade que essa implementação requeria, a norma foi atualizada pela RDC nº 53 de 4 de dezembro de 2015 (BRASIL, 2015a) que estendeu os prazos para a implementação, de acordo com a classe farmacêutica do medicamento. Depois, os prazos e classes de medicamentos a terem seus estudos de degradação realizados foram novamente atualizados pela RDC 171 de 24 de agosto de 2017 (BRASIL, 2017a). Atrelada à RDC 53/2015, a ANVISA publicou o Guia nº04 - Guia para obtenção do perfil de degradação, identificação e qualificação de PD em medicamentos - em 04 de dezembro de 2015 (BRASIL, 2015b), o qual expressa o entendimento da Agência sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos na RDC nº 53/2015, mais especificamente, na realização de estudos de degradação forçada e estudos de perfil de degradação, na identificação e qualificação de PD (BRASIL, 2015b). Além desses tópicos, esse guia apresenta o estudo de degradação forçada como uma ferramenta para o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade (MIE), cuja definição está apresentada abaixo (BRASIL, 2015a):



“Métodos analíticos quantitativos indicados para análise de amostras de estabilidade, validados, capazes de detectar, ao longo do tempo, mudanças nas propriedades físicas, químicas ou microbiológicas de uma substância. Métodos específicos capazes de mensurar com exatidão o teor do insumo farmacêutico ativo, produtos de degradação e outros componentes de interesse, sem interferência. A classificação de um método como indicativo de estabilidade também depende da finalidade à qual ele é proposto. Um método pode ser indicativo de estabilidade somente para teor, sendo capaz de quantificar um IFA em meio aos seus produtos de degradação sem quantificar todos os produtos de degradação relevantes; ou somente para produtos de degradação, sendo capaz de quantificar todos os produtos de degradação relevantes, mas não o IFA; ou ainda indicativo de estabilidade para ambos os aspectos, ou seja, para teor e para produtos de degradação”.

Os MIE desempenham um papel chave na regulação farmacêutica atual e a necessidade de utilização desse tipo de método passou a ser uma exigência em contextos regulatórios diversos como, por exemplo, na obtenção de registro e em alterações pós-registro (BRASIL, 2014), em estudos de estabilidade, no desenvolvimento de métodos de dissolução, etc. No entanto, devido ao fato da ANVISA ter sido aceita como membro da *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human* (ICH), a partir de novembro de 2016, criou-se a Consulta pública (CP) 285/2017 (BRASIL, 2017b) para estimular o diálogo entre as várias partes interessadas a fim de alinhar as exigências da RDC 53/2015 ao que

é preconizado pela ICH, resultando na RDC 171/2017, a qual revisa a aplicabilidade da RDC 53/2015 em relação aos produtos já registrados.

Uma das abordagens mais atuais para o desenvolvimento de métodos segue a tendência de implementação do conceito de *Quality by Design* (QbD), o qual diz que a qualidade não deve ser testada nos produtos e sim planejada e construída durante os processos de desenvolvimento e de produção. No contexto analítico, esse conceito vem sendo ampliado e conhecido como *Analytical QbD* (AQbD). O conceito de QbD é abordado na ICH Q8 (R2) e explora o desenvolvimento sistemático, conduzido pelo conhecimento, realizado de forma prospectiva, baseado em ciência e na análise de riscos, onde a variabilidade explorada e entendida é focada na qualidade do produto e em um método mais robusto e econômico. Nesta conjuntura, a abordagem QbD pode ser uma estratégia preferida e recomendada a ser seguida no desenvolvimento de métodos analíticos de forma a obter flexibilidade regulatória, favorecer a transferência de tecnologia, reduzir os resultados fora de especificação (OOS) e fora de tendência (OOT), apresentar alto grau de robustez e melhor custo efetivo (ICH, 2009) O QbD é focado no desenvolvimento farmacotécnico e é obrigatório nos países que seguem o ICH.

1.1 Justificativa

Considerando que muitas metodologias serão desenvolvidas para atender à RDC nº 53 de 2015 (BRASIL, 2015a), a utilização de novas abordagens e ferramentas no desenvolvimento de métodos torna-se relevante, principalmente com o intuito de reduzir o tempo, custo, riscos e retrabalho, trazer maior flexibilidade regulatória e gerar uma documentação de melhor qualidade para auxiliar o desenvolvimento farmacotécnico. Com isso, o uso do conceito de *Analytical Quality by Design* será



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



apresentado nessa monografia com o objetivo de introduzir essa abordagem como uma abordagem útil no desenvolvimento de método analítico associado aos estudos de degradação forçada de fármacos e medicamentos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

- Realizar o levantamento bibliográfico acerca do tema *Quality by Design* e avaliar a sua aplicabilidade nos métodos analíticos, especialmente em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

1.2.2 Específicos

- Apresentar os elementos da Qualidade Analítica por Concepção.
- Apresentar um fluxograma para o desenvolvimento analítico de métodos indicativos de estabilidade baseado no conceito de AQbD;
- Identificar os principais softwares e abordagens aplicadas nas ciências analíticas;

1.3 Metodologia

A prospecção para o conceito QbD aplicado a métodos analíticos foi realizada em base de dados científicos com as seguintes palavras-chave, principalmente: *Quality by Design, Analytical Quality by Design, Stability Indicating Method, Automated Method Development*. Após análise dos artigos, livros e normas nacionais e internacionais, cerca de 40 documentos foram selecionados para constituir a amostra bibliográfica utilizada nesta monografia, baseado no seu grau de importância científica.

2. O CENÁRIO DA QUALIDADE NA INDÚSTRIA FARMACEUTICA

2.1 Histórico da Qualidade na Indústria Farmacêutica – Estabilidade de Medicamentos

A descoberta de novos fármacos no início do século XX veio acompanhada do conhecimento de diversos efeitos adversos a medicamentos que, no entanto, não eram claramente estudados e entendidos (HALEEM et al., 2015). Várias tragédias mundiais como, por exemplo, o caso da Talidomida, nas décadas de 60/70 estimularam um aumento substancial na publicação de leis, normas e diretrizes no âmbito de assegurar a qualidade, eficácia e segurança de medicamentos, indicando uma maior preocupação dos órgãos reguladores e maior controle do desenvolvimento e produção por parte das indústrias (HALEEM et al., 2015). Ainda naquela época, foram estabelecidas as primeiras normas de farmacovigilância e as primeiras alternativas para a previsão do prazo de validade de medicamentos. Na década de 90, Japão, EUA e União Europeia se reuniram na ICH gerando a harmonização da documentação acerca dos estudos de estabilidade com o melhor entendimento das diferentes zonas climáticas entre os países (CAPUCHO; MASTROIANNI; CUFFINI, 2008).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu estabilidade farmacêutica como a capacidade do produto farmacêutico manter as suas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e biofarmacêuticas dentro dos limites especificados durante todo o seu prazo de validade (BAJAJ et al., 2012).

A estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz, e de outros relacionados com o próprio produto, como propriedades físico-químicas de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades

dos materiais da embalagem (BRASIL, 2005).

Para garantir a integridade química, física, microbiológica, terapêutica e toxicológica do medicamento e do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) dentro dos limites de aceitação especificados são realizados estudos de estabilidade, onde são avaliadas as influências dos fatores ambientais em função do tempo na sua embalagem primária. As variáveis avaliadas nos estudos de estabilidade podem ser classificadas conforme demonstrado na Figura 1 (SILVA et al., 2009). A estabilidade química provavelmente é o aspecto mais importante da estabilidade farmacêutica, pois a sua falta pode ocasionar perda de pureza e potência, gerando perda de eficiência farmacêutica e o aparecimento de produtos de degradação tóxicos ou não, dentre outras consequências.

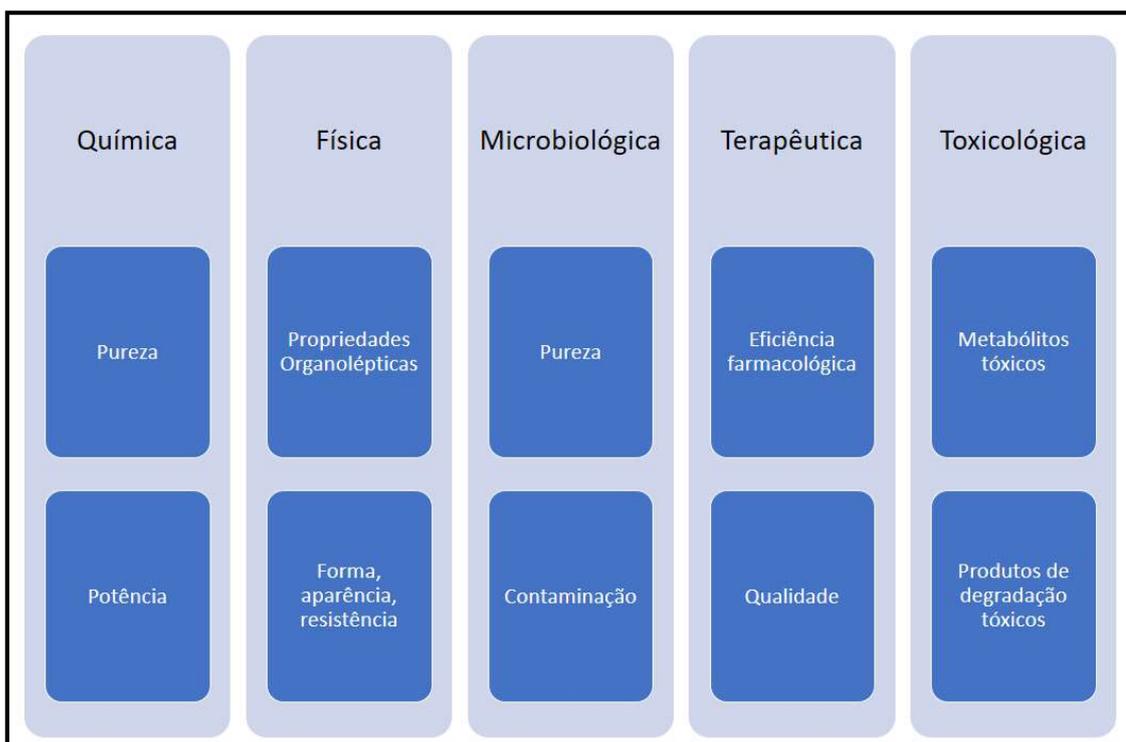


Figura 1 - Tipos de estabilidade e testes relacionados (Adaptado de SILVA et al., 2009)

A ANVISA publicou a Resolução RE nº 01/2005 (BRASIL, 2005) que contém o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. Esta regulamentação está

direcionada, principalmente, aos testes de estabilidade para determinação do prazo de validade dos medicamentos e período de utilização em embalagem e condições de armazenamento específicas. Estes testes podem ser realizados juntamente com os estudos de pré-formulação, sendo os estudos de incompatibilidade fármaco-excipientes e degradação forçada, assim como o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade, essenciais nessa etapa de desenvolvimento. Segundo a ANVISA, devem ser realizados 3 tipos de estudo de estabilidade: Acelerado, acompanhamento e longa duração.

– **ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO:** Estudo projetado para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento. Os dados assim obtidos, juntamente com aqueles derivados dos estudos de longa duração, podem ser usados para avaliar efeitos químicos e físicos prolongados em condições não aceleradas e para avaliar o impacto de curtas exposições a condições fora daquelas estabelecidas no rótulo do produto, que podem ocorrer durante o transporte.

– **ESTUDO DE ESTABILIDADE DE ACOMPANHAMENTO:** Estudo realizado para verificar se o produto farmacêutico mantém suas características físicas, químicas, biológicas, e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração.

– **ESTUDO DE ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO:** Estudo projetado para verificação das características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico durante e, opcionalmente, depois do prazo de validade esperado. Os resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade e recomendar as condições de armazenamento.

Entre os anos de 2013 e 2017, a ANVISA publicou diversas legislações tratando sobre produtos de degradação e métodos indicativos de estabilidade. Essa evolução dos regulamentos e diretrizes demonstra a preocupação das Agências reguladoras na garantia da segurança de medicamentos para a população.

No cenário mundial, o site do FDA reporta um crescente aumento no número de recolhimentos relacionados a impurezas, conforme o recorte apresentado na Figura 2 os dados foram retirados do site do FDA no recorte de tempo apresentado na figura.

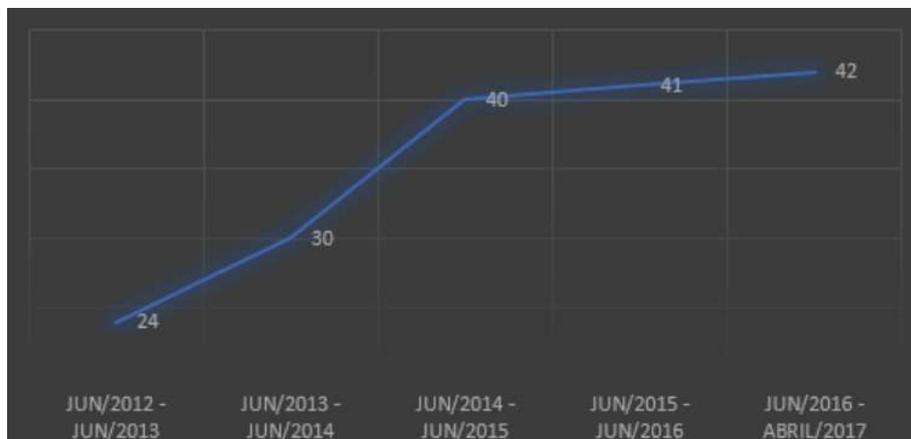


Figura 2 - Recolhimentos de medicamentos relacionados à ocorrência de impurezas - FDA

A realização do estudo de degradação forçada e o desenvolvimento de MIEs em paralelo ao processo de desenvolvimento de medicamentos leva a um melhor entendimento sobre a estabilidade da molécula e dos produtos, gerando subsídios para um melhor desenvolvimento da formulação, do processo de fabricação e das condições de armazenamento. Apesar de não haver um conjunto de condições padronizadas aplicável a todos os medicamentos e IFA, um estudo de degradação forçada e um desenvolvimento de métodos concebidos e executados de maneira organizada e sistemática com grande embasamento teórico traz celeridade, diminuição de falhas e maior garantia de qualidade e segurança.

2.2 Desenvolvimento de Métodos Indicativos de Estabilidade por CLAE

A cromatografia líquida foi definida no início dos anos 1900 pelo trabalho do botânico russo Mikhail S. Tswett. Seus experimentos se concentraram na separação de um extrato de planta em uma coluna de carbonato de cálcio usando éter de petróleo. Enquanto a amostra passava através da coluna por gravidade, bandas de diferentes cores iam se formando. Ele relacionou as faixas separadas aos compostos que poderiam estar originalmente contidos no extrato. Ele havia descoberto uma separação analítica desses compostos com base na força da atração química de cada composto em relação ao carbonato de cálcio (fase estacionária) ou ao éter (fase móvel). Os compostos que eram mais fortemente atraídos pela fase estacionária retardavam a sair, enquanto outros compostos mais fortemente atraídos pela fase móvel eram retirados mais rapidamente da coluna. Tswett nomeou a técnica descoberta de cromatografia (das palavras gregas *chroma*, que significa cor e gráfico, significando escrever literalmente, escrita de cor). Curiosamente, o nome russo Tswett significa cor. Hoje, a cromatografia líquida, em suas várias formas, tornou-se uma das ferramentas mais poderosas na química analítica (MALDANER; JARDIM, 2012).

A cromatografia moderna surgiu a partir de Martin e Synge, em 1941, quando concluíram que para o melhor desempenho da cromatografia líquida, era necessária uma fase estacionária com partículas de tamanho reduzido, sendo necessário o incremento de pressão para forçar a fase móvel a passar pela coluna, surgindo assim a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (MALDANER; JARDIM, 2009).

O desenvolvimento de MIE usando CLAE por fase reversa acoplado a um detector de fotodiodo (RP-HPLC-UV/DAD) tem sido largamente empregado (RIDDHIBEN et al., 2011; KAVITHA et al., 2013; BLESSY et al., 2014). A grande popularidade dessa técnica em estudos de estabilidade é devido a sua alta

capacidade de resolução, sensibilidade e seletividade. Além disso, as colunas cromatográficas e os equipamentos de alta tecnologia presentes no mercado impulsionam essa técnica para sua grande difusão, emprego e consolidação no mercado farmacêutico. Compostos não voláteis, termicamente instáveis e iônicos/polares podem ser analisados por essa técnica. A metodologia por RP-HPLC-UV/DAD permite a quantificação e determinação da pureza de pico. No entanto, a detecção por UV é limitada apenas a compostos que apresentem grupos cromóforos. Caso contrário, outros métodos de detecção devem ser utilizados (RIDDHIBEN et al., 2011).

Para o desenvolvimento do MIE, não é aconselhável utilizar apenas amostras do IFA ou medicamento no final do estudo de estabilidade de longa duração. Isto porque, em geral, a degradação é pequena, sendo passível de ocorrer dois tipos de problemas (BRASIL, 2015b):

1. Caso seja observada uma ligeira redução no resultado de teor sem observação de produtos de degradação, não é possível saber se a ligeira redução é somente uma variação intrínseca da análise ou se houve, de fato, degradação e o PD não está sendo detectado.
2. Caso não seja observada variação de teor, não é possível saber se realmente não houve degradação ou se não há separação entre o pico do IFA e de seus PD.

Por esses motivos, é necessário causar deliberadamente a degradação em maior escala do IFA e/ou medicamento, expondo-os a condições mais extremas que aquela praticada no estudo de estabilidade de longa duração. Ou seja, é necessário realizar o estudo de degradação forçada também chamado de estudo de estresse (BRASIL, 2015b). Nesse contexto, o estudo de degradação forçada (EDF) é a ferramenta utilizada para se obter um perfil de degradação para o desenvolvimento

do método indicativo de estabilidade com seletividade adequada. Além disto, o EDF fornece informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto, dependendo das condições de estresse às quais a substância em análise é submetida (BRASIL, 2015b).

Como o desenvolvimento analítico é também um processo, a aplicação dos conceitos de QbD podem ser implementados para o planejamento e desenvolvimento deste processo, sobretudo para métodos indicativos de estabilidade que utilizam um número elevado de amostras provenientes do EDF. Na prática, o perfil de degradação obtido no EDF, conhecido como “perfil potencial”, é diferente do perfil obtido no estudo de estabilidade, denominado de perfil de degradação “real”, tanto qualitativamente (compostos diferentes) quanto quantitativamente (concentrações diferentes), mas do ponto de vista qualitativo, o perfil “real” está contido no perfil “potencial”. Os perfis de degradação obtidos no estudo de estabilidade acelerada e de longa duração também podem ser qualitativa e quantitativamente diferentes, conforme exemplificado na Figura 3 (BRASIL, 2015b).

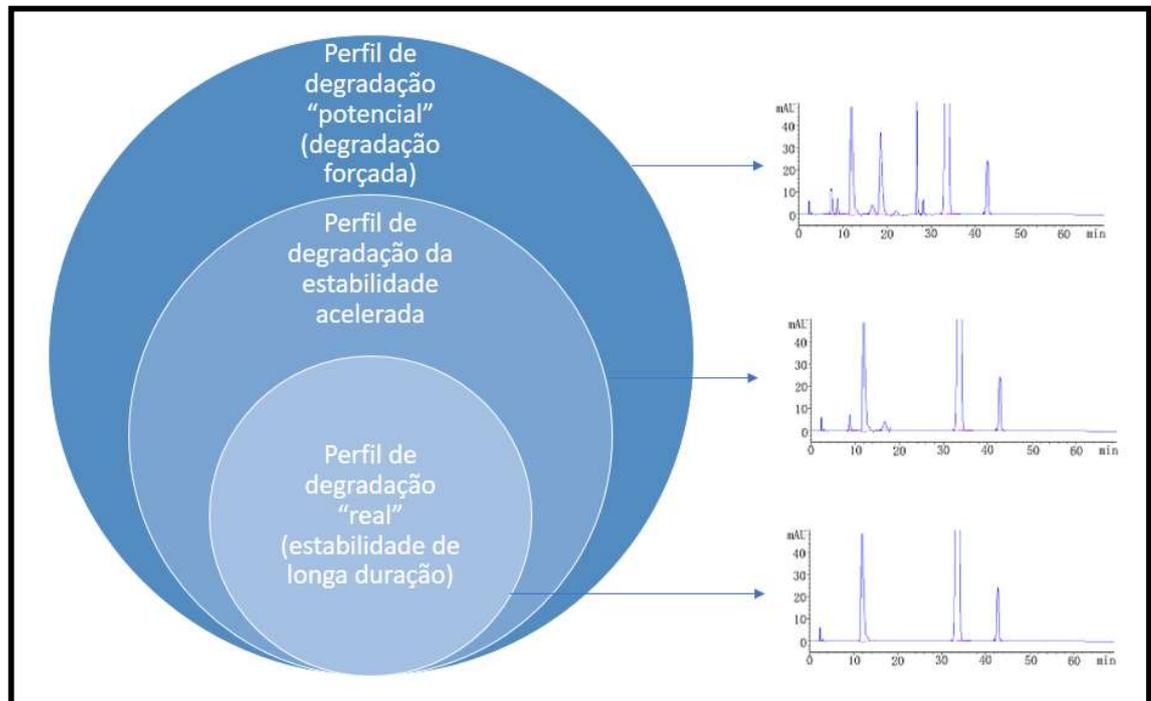


Figura 3 – Os diferentes tipos de perfil de degradação (Adaptado de BRASIL, 2015b)

Como o objetivo do MIE é separar com resolução e seletividade o IFA dos seus produtos de degradação e de possíveis excipientes, o grau de polaridade desses compostos pode ser muito variável, e, por esse motivo, a cromatografia no modo reverso é o tipo de técnica mais apropriada.

No entanto, a existência de múltiplas variáveis a serem consideradas, como proporção de fase móvel, colunas cromatográficas, concentrações, temperatura de análise, condições de degradação, etc, que resultem e garantam a qualidade final do método, torna o desenvolvimento mais eficiente e exige um planejamento de experimentos – *Design of experiments* (DoE) para que a aplicação do QbD (o DoE está incluído no QbD; corresponde a uma das etapas) e determinação do *design space* (DS) reduzam o risco de falhas, devido ao estudo das interações entre as variáveis possíveis, possibilitando uma estratégia de controle e monitoramento contínuo do método (TURPIN et al., 2008).

3. QUALIDADE DESDE O PROJETO/CONCEPÇÃO – QUALITY BY DESIGN

Segundo o ICH, QbD é definido como uma abordagem sistemática para o desenvolvimento que começa com objetivos predefinidos e enfatiza a compreensão de produtos e processos e o controle de processos, com base em ciências e gestão de risco de qualidade (ICH, 2009). O termo *Quality by Design*, cuja tradução é conhecida como: "Qualidade desde o projeto" ou "Qualidade por Concepção", foi criado na década de 1960 pelo engenheiro elétrico Joseph Moses Juran que acreditava que o produto deveria ser construído com qualidade, segurança e eficácia desde a sua concepção (YU, 2008). A qualidade deve ser controlada em cada etapa do processo para maximizar a probabilidade de que o produto final alcance seus atributos de qualidade e as suas especificações. A principal meta do QbD é incorporar qualidade em produtos farmacêuticos através de planejamento bem definido, tendo surgido pela necessidade de maior flexibilização nos processos de fabricação, pois apresenta-se como uma abordagem proativa, sistemática e científica, com base em análise de risco de desenvolvimento de um produto (RAMAN; MALLU; BAPATU, 2015).

A abordagem de desenvolvimento de produtos pelo QbD é uma alternativa à abordagem tradicional, a qual é realizada de forma empírica e baseada em testes, o que pode originar problemas de qualidade, reprodutibilidade e de fabricação de difícil identificação da causa raiz, gerando um aumento de custo, principalmente na fase de escalonamento devido ao desconhecimento das fontes de variabilidade (RATHORE; WINKLE, 2009).

A utilização do conceito de QbD reflete o grau de maturidade e de entendimento do processo fabril em todas as etapas, sua utilização requer o envolvimento de uma equipe multidisciplinar, onde os conhecimentos são interligados desde a concepção do produto e seu desenvolvimento até a etapa pós-regulatória (PRAMOD et al., 2016).

O guia ICH Q8(R2) introduziu o conceito de área do projeto (*design space*), que é a “combinação multidimensional e interação de variáveis de entrada e parâmetros de processo que proporcionam garantia de qualidade do medicamento”, sendo possível entender os efeitos de cada variável e suas interações criando uma região de trabalho para obter as condições mais eficientes e que não comprometam a qualidade do produto/metodologia, além de proporcionar uma flexibilidade regulatória para mudanças, pois mudanças concebidas dentro da *DS* não são consideradas mudanças, dessa forma não é necessário um processo de alteração regulatória pós-registro. Com isso, a realização de novos estudos e a otimização de projetos, principalmente nos processos de transferência de tecnologia, sem a aprovação formal dos órgãos reguladores, é uma oportunidade para a melhoria contínua (ICH, 2009).

De acordo com o ICH Q8(R2), os elementos de QbD são, resumidamente:

Quality Target Product Profile (QTPP) - Este elemento identifica quais os atributos são necessários para que se possa atingir a qualidade e segurança desejada do produto. Trata-se do escopo do produto. Relaciona o perfil de qualidade, os parâmetros que precisam ser alcançados para garantir a qualidade do produto.

Critical Quality Attribute (CQA) – São as propriedades ou características físico-químicas, biológicas ou microbiológicas do produto acabado que tem impacto direto no QTPP e que devem estar dentro de um limite apropriado, intervalo ou distribuição para garantir a qualidade desejada para o produto.

Risk Assessment (Análise de risco) – Gerenciamento do risco que identifica qual atributo do produto e parâmetros do processo que geram potencial efeito no CQA do produto.

Design Space (DS) – Combinação multidimensional da interação entre variáveis de entrada e parâmetros de processo que garantem a qualidade esperada do produto.

A utilização do QbD como ferramenta para o desenvolvimento de métodos é focada na qualidade dos resultados analíticos que, conseqüentemente, levam a uma maior qualidade do medicamento. A utilização dessa abordagem para o desenvolvimento de metodologias analíticas é relativamente mais nova e apresenta alguns desafios para a sua implementação, especialmente porque não é uma exigência regulatória ainda. Nos tópicos a seguir estão descritas a abordagem, os termos e o fluxo de trabalho referenciados na literatura científica e no programa piloto de pesquisa conjunta do FDA e EMA (*European Medicines Agency*), que visa realizar uma avaliação paralela de áreas relevantes nas indústrias que usam a abordagem QbD com o objetivo de facilitar o entendimento das duas agências acerca dos novos conceitos regulatórios que essa abordagem proporciona (ICH, 2009; GRAUL et al., 2011)

4. QUALIDADE ANALÍTICA BASEADA NO PROJETO (AQBD) - ANALYTICAL QUALITY BY DESIGN

O modelo tradicional de desenvolvimento de métodos é baseado na abordagem *Quality by Testing* (QbT). Nessa abordagem, o método preliminar é definido a partir de um método farmacopeico. Caso contrário, na inexistência daquele, a maioria dos pesquisadores realiza uma pesquisa bibliográfica para definir o método de partida ou realiza um gradiente exploratório usando CLAE no modo reverso acoplada a um detector UV/DAD, se o analito possuir grupamento cromóforo (RAMAN; MALLU; BAPATU, 2015).

A utilização da abordagem QbD para desenvolvimento analítico é conhecida como *Analytical Quality by Design* (AQbD) e segue a tendência descrita pelo ICH Q8 para o desenvolvimento farmacêutico, sendo ratificada pela publicação da USP de 2013, na qual é discutido o conceito moderno de um modelo de ciclo de vida (*lifecycle*

management of analytical procedures), baseado no QbD, descrito nas diretrizes Q8, Q9 e Q10 da ICH, aplicado a procedimentos analíticos. O FDA ressaltou os benefícios do QbD no contexto analítico no Fórum Internacional de Processos em Química Analítica - IFPAC 2013 (LIONBERGER et al., 2008; BONDI; DRENNEN, 2011; REID et al., 2013) e, de acordo com o ICH Q8, os dois tipos de abordagem são comparados na Tabela 1.

O conceito de ciclo de vida descrito no ICH Q8 é adaptável aos procedimentos analíticos se considerarmos um método analítico como um processo e o resultado desse processo como o resultado relatável, ou seja, o valor que será comparado ao critério de aceitação. O objetivo da aplicação dos princípios do QbD aos procedimentos analíticos é alinhar, de forma holística, a variabilidade do procedimento analítico com os requisitos do produto a ser testado e melhorar a confiabilidade do procedimento pela compreensão, redução e controle das fontes de variabilidade.

Tabela 1 - Comparação entre a abordagem tradicional e por AQbD

| TRADICIONAL | AQbD |
|---|--|
| Inicia com uma abordagem empírica de tentativa e erro | Inicia com uma abordagem baseada em ciência com objetivos definidos |
| Performance do método é avaliada durante a validação | A performance é avaliada durante o estabelecimento do ATP |
| Pouco entendimento das variáveis analíticas | Avaliação sistemática das variações individuais e suas interações |
| Qualidade do método baseada na validação | A qualidade é desenhada durante o desenvolvimento pela robustez e reprodutibilidade |
| Verificação e transferência do método são atividades separadas | Qualificação de desempenho e verificação são atividades contínuas durante o ciclo de vida |
| Não existe flexibilidade regulatória às mudanças | Alterações dentro do MODR não são consideradas mudanças e não exigem submissões pós-registro |
| Não há espaço para melhorias | Flexibilidade na implementação de melhorias |

O fluxo típico para o desenvolvimento de métodos por AqBd está demonstrado na Figura 4 e cada elemento será explicado com detalhes no tópico 4.1.

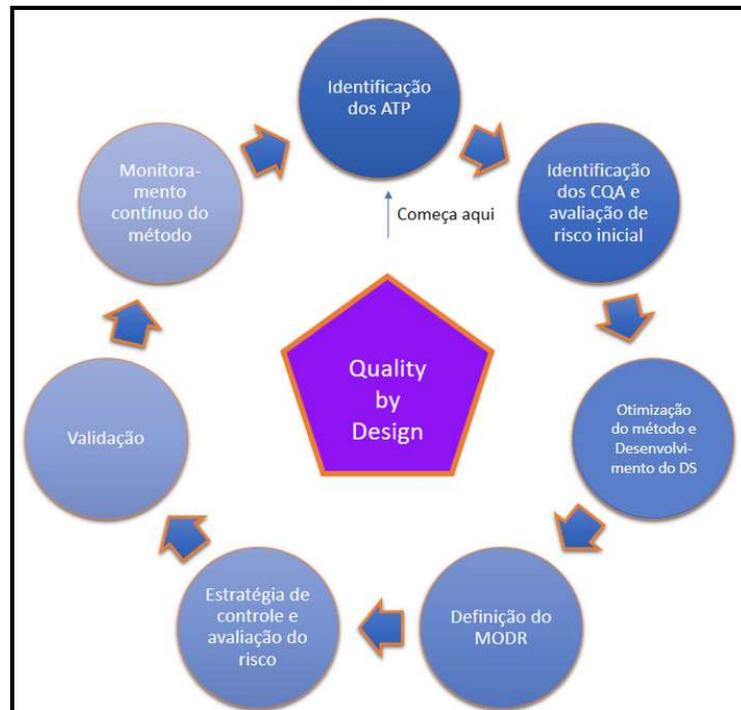


Figura 4 - Etapas seguidas durante o desenvolvimento de um método pela abordagem AqBd

A melhor compreensão das variáveis que afetam o desempenho de um procedimento analítico fornece maior garantia de que os atributos de qualidade do produto testado poderão ser avaliados de forma confiável. O método desenvolvido passa a ter um monitoramento contínuo para demonstrar que atende aos critérios predefinidos ao longo de seu uso. A implementação de mudanças no procedimento é baseada no conhecimento adquirido durante a vida útil do procedimento, o que garante que o procedimento permanece adequado para o uso pretendido. A chave para a abordagem geral é a compreensão da variabilidade geral, incluindo a variabilidade resultante do processo de fabricação, das amostras estressadas e contaminadas bem como o procedimento analítico. O entendimento da variabilidade do método permite que pequenas mudanças possam ser implementadas, o que favorece ajustes em transferências de metodologias (LLOYD; BERGUM, 2014).

Ao avaliar a robustez durante o desenvolvimento do método e através da interação de vários fatores simultaneamente, diferentemente do que é feito atualmente, onde o quesito robustez é avaliado através de variações individuais de parâmetros (BRASIL, 2017c), a compreensão da influência combinada de diferentes fatores no método e na sua resposta é muito melhor entendida, diminuindo as dificuldades em transferências de metodologias entre setores ou em diferentes laboratórios, o que poderia ocasionar a necessidade de revalidação (PERAMAN; BHADRAYA; PADMANABHA REDDY, 2015).

4.1 Elementos da Qualidade Analítica por Concepção -AQbD

4.1.1 Perfil Analítico Alvo - Analytical Target Profile (ATP)

O ATP é o equivalente ao QTPP no planejamento do processo, trata-se do escopo do método. É a etapa principal em AQbD, a qual se inicia com a definição do propósito/finalidade do método que, por conseguinte, estará fundamentado no conhecimento prévio das propriedades da molécula que será quantificada como, por exemplo, suas vias e mecanismos de degradação, suas impurezas processuais e produtos de degradação, suas interações com os excipientes contidos no produto final, a faixa de concentração juntamente com as características de desempenho desejadas – as especificações - e os limites de aceitação. Para isto, a pesquisa bibliográfica, denominada neste contexto de Estudo do Estado da Arte, é parte fundamental do ATP e vai definir os vários aspectos do método como a seleção das fases, do instrumento, a preparação do padrão e da amostra e etapas do procedimento como sonicação, centrifugação, agitação mecânica, entre outros, como exemplificado na Tabela 2 (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017).

Os critérios definidos no ATP referem-se aos atributos de dados de qualidade do resultado relatável, isto é, precisão e incerteza de medição, que incluem todas as fontes de variabilidade. Identificar o resultado do método como o resultado relatável fornece um alvo para o desenvolvimento e ajuda a assegurar que o procedimento é desenvolvido para requisitos de desempenho predeterminados que estão diretamente ligados à qualidade dos dados. A utilização do ATP introduz atributos de desempenho e altera a forma como atualmente definimos e avaliamos as características de desempenho analítico. O ATP serve como ponto de referência para avaliar a aptidão de um procedimento analítico não apenas na fase de desenvolvimento, mas também durante todas as mudanças dentro do ciclo de vida analítico (ROZET et al., 2012).

Tabela 2 - ATP para IFA e Produto (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017)

| ATP | Alvo | Justificativa |
|--|---|--|
| Amostra | IFA ou medicamento | Desenvolver um método analítico para Quantificação de determinada molécula no IFA ou medicamento, podendo ser o princípio ativo ou outros componentes |
| Tipo de Método | Fase reversa ou fase normal | Baseado na polaridade da molécula que influencia o alvo do método |
| Instrumento | CLAE, CG, potenciometria | Baseado na disponibilidade de grupamento cromóforos, volatilidade e outras características estruturais e moleculares do método que devem ser explicadas |
| Características da amostra | Forma farmacêutica - Sólido, Líquido, Supositórios, Comprimidos de liberação prolongada | A técnica de extração da amostra deve ser alvo, a necessidade de sonicação, agitação mecânica, centrifugação, filtração deve ser definida |
| Preparação do padrão e amostras | Diluyente | Justificado com base na solubilidade e pKa do IFA |
| Aplicação do método | Doseamento do IFA, produtos terminados ou intermediários | A aplicação do método é alvo do desenvolvimento de método como: doseamento de IFA, Produto Terminado, Produto intermediário, amostras de estabilidade, uniformidade de conteúdo. |

4.1.2 Atributo Crítico de Qualidade – Critical Quality Attribute (CQA)

Em paralelo com a definição do ICH para o desenvolvimento de produtos, os atributos críticos de qualidade no contexto analítico são os aspectos que afetam a segurança, desempenho e eficácia do método (ICH, 2009). Um CQA se refere às propriedades ou características do método que podem ter impacto direto no ATP e que devem estar dentro de um limite apropriado, intervalo ou distribuição para garantir o desempenho desejado, devendo ser controlado (LIONBERGER et al., 2008; YU, 2008). Logo, considerando o desenvolvimento de um método por CLAE, os parâmetros cromatográficos como assimetria, número de pratos teóricos, resolução entre os picos, pureza de pico, fator de capacidade, etc, são exemplos típicos de CQAs que se relacionam ao resultado desejado de um método seletivo (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017).

Em conjunto com o CQA, os atributos potenciais do método (*Potential Method Attributes* -PMAs), que incluem todas as características que podem impactar no desenvolvimento e desempenho do método como as relacionadas aos recursos humanos, equipamentos, materiais, ambiente, métodos e medidas, devem ser descritos para posterior análise de risco (KOCHLING et al., 2016). A Tabela 3 apresenta alguns destes atributos.

Tabela 3 - Atributos Potenciais mais comuns de um método

| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Recursos Humanos | Treinamento |
| | Comunicação |
| | Habilidades Individuais |
| Materiais | Pureza |
| | Armazenamento |
| | Manuseio |

Tabela 4 - Atributos Potenciais mais comuns de um método

| | |
|---------------------|---|
| Equipamentos | Detector |
| | Volume morto |
| | Método de eluição |
| | Tipo de Injetor |
| | Tipo de forno de coluna |
| | Fase estacionária |
| Método | Número de analitos |
| | Fase móvel |
| | Concentração |
| | Diluyente |
| | Estabilidade das soluções |
| | Processo de preparação das soluções |
| | Tempo de análise |
| | Fluxo |
| | Volume de Injeção |
| | Tipo de filtração |
| Medida | Tempo de retenção |
| | Parâmetros de adequabilidade do sistema |
| | Integração |
| | Limites de Detecção e Quantificação |
| Ambiente | Temperatura |
| | Umidade |

4.1.3 Análise de Risco - Risk Assessment

A identificação dos CQAs e PMAs faz parte do gerenciamento de risco. A aplicação do processo de gerenciamento de risco está descrita no ICH Q9. A definição dos atributos de qualidade críticos e a análise de risco desses atributos devem ser realizadas desde os estágios iniciais do desenvolvimento do método até ao monitoramento contínuo do método. Em geral, pode-se utilizar um diagrama de espinha de peixe (Ishikawa) para avaliação do risco. A Figura 5 demonstra um exemplo de identificação de riscos através de um diagrama de espinha de peixe para um método analítico típico (RAMAN; MALLU; BAPATU, 2015). O diagrama de Ishikawa

apresenta resultados voltados para a identificação e agrupamento dos riscos. Após a identificação dos riscos dos CQAs identificados, a análise de riscos pode ser realizada utilizando a ferramenta FMEA (*Failure Modes, Effects Analysis*), exemplificada na Tabela 5, de onde podem ser definidos quais atributos poderiam ser estudados e incluídos no planejamento e a categorização dos riscos para priorização das ações preventivas/corretivas, com o objetivo de analisar as falhas no planejamento e execução do processo de desenvolvimento de métodos e consequentemente melhorá-lo. O valor de RPN (*Risk Priority Number*) é uma multiplicação dos índices de severidade, ocorrência e detecção, que direcionam a tratativa dos riscos.

Nesse caso, sendo considerado de 0 – 100 – risco baixo, 100 – 200 – risco moderado e > 200 – risco alto.

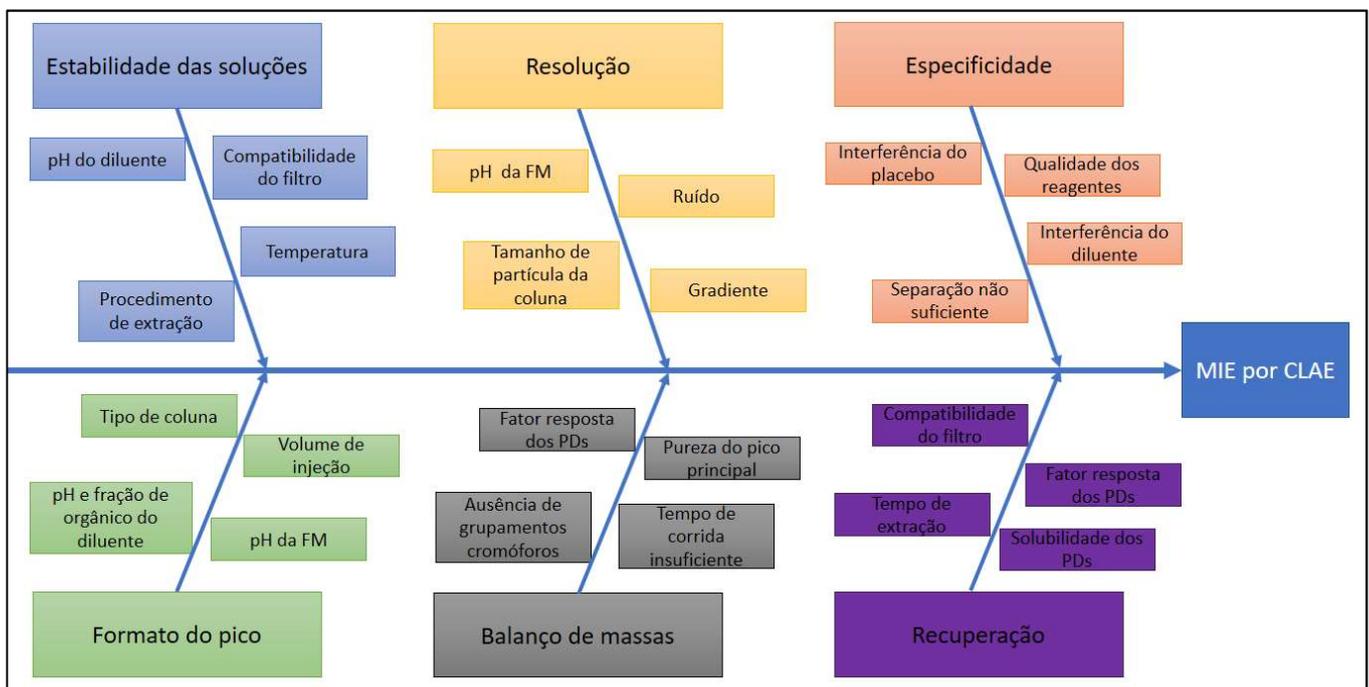


Figura 5 - Diagrama de espinha de peixe mostrando a análise de causa e efeito para um método de RP-HPLC para substâncias relacionadas (Adaptado de JAYAGOPAL e SHIVASHANKAR, 2017)

Tabela 5 - Análise de risco para o desenvolvimento de método analítico usando FMEA

| Objeto de Estudo: Desenvolvimento de Método Analítico por RP-HPLC-UV/DAD | | | | | | | |
|--|--------------------------------|---|--|----------------|----------------|-------------|-----|
| Parâmetro | Falha Potencial | Dano ou Efeito | Causa da falha | Ocorrência (O) | Severidade (S) | Deteção (D) | RPN |
| Seletividade | Interferência do placebo | Deteção e quantificação incorreta do IFA | Desenvolvimento do método. Método de eluição (gradiente ou isocrático) não adequado. | 2 | 8 | 2 | 32 |
| | Qualidade dos reagentes | Deteção incorreta de impurezas | Não utilização de reagentes de grau HPLC | 1 | 8 | 4 | 32 |
| | Separação não suficiente | Deteção e quantificação incorreta do IFA. Deteção incorreta de impurezas. Balanço de massas inconsistente | Desenvolvimento do método. | 5 | 10 | 6 | 300 |
| | Interferência do diluente | Deteção e quantificação incorreta do IFA | Desenvolvimento do método. Diluente não adequado. | 1 | 8 | 2 | 16 |
| Resolução | pH da Fase móvel | Ionização de componentes da mistura. Alteração nos tempos de retenção. Não deteção de impurezas. Balanço de massas inconsistente. | Desenvolvimento do método. Erro de preparo pelo analista. Equipamento não calibrado corretamente. | 4 | 8 | 3 | 96 |
| | Tamanho de partícula da coluna | Alteração nos tempos de retenção. Não deteção de impurezas. Balanço de massas inconsistente. | Desenvolvimento do método. Coluna com armazenamento incorreto. | 4 | 6 | 5 | 120 |
| | Ruído | Dificuldade na deteção de impurezas. Dificuldade na integração dos picos. | CLAE sem qualificação ou com lavagem do sistema deficiente. Lâmpadas com número de horas acima do recomendado. | 1 | 5 | 1 | 5 |
| | Gradiente | Alteração no tempo de retenção. Modificação na separação, especificidade e seletividade dos picos. Não deteção de impurezas. | Desenvolvimento. CLAE sem qualificação. Erro na configuração do método pelo analista. | 4 | 6 | 3 | 72 |



Objeto de Estudo: Desenvolvimento de Método Analítico por RP-HPLC-UV/DAD

| Parâmetro | Falha Potencial | Dano ou Efeito | Causa da falha | Ocorrência (O) | Severidade (S) | Deteção (D) | RPN |
|---------------------------|-------------------------------------|---|--|----------------|----------------|-------------|-----|
| Estabilidade das soluções | pH do diluente | Degradação do pico principal. Aumento de impurezas potenciais. | Desenvolvimento do método. Erro de preparo pelo analista. Equipamento não calibrado corretamente. | 3 | 5 | 1 | 15 |
| | Compatibilidade do filtro | Alteração na recuperação. Aparecimento de picos que podem ser confundidos com impurezas. | Teste de filtro não realizado ou realizado incorretamente. Troca de material pelo analista. | 1 | 5 | 1 | 5 |
| | Temperatura | Degradação dos analitos. Aumento de impurezas potenciais. Evaporação do diluente. Precipitação do analito. | Armazenamento das soluções não estabelecido ou estabelecido incorretamente. Erro de armazenamento pelo analista. Falta de controle de temperatura. | 1 | 5 | 1 | 5 |
| | Procedimento de extração | Degradação dos analitos. Aumento de impurezas potenciais. Evaporação do diluente. Precipitação do analito. Modificação na separação e na recuperação. | Desenvolvimento do método. Ausência de definição no método. Erro do analista. | 2 | 6 | 3 | 36 |
| Formato do pico | Tipo de coluna | Altera as interações analito x fase estacionária. Mudança na resolução e tempo de análise. | Desenvolvimento do método. Troca de material. | 5 | 10 | 3 | 150 |
| | pH e fração de orgânico do diluente | Incompatibilidade com a fase móvel. Precipitação. Solubilidade do analito. Mudança na resolução e inconsistência no balanço de massas. | Desenvolvimento do método. Erro de preparo pelo analista. | 4 | 7 | 4 | 112 |
| | pH da Fase móvel | Ionização dos componentes da mistura. Alteração da separação, resolução e balanço de massas. | Desenvolvimento do método. Erro de preparo pelo analista. | 3 | 8 | 3 | 72 |
| | Volume de injeção | Ultrapassa os limites de absorção. Dificulta a detecção de PD em baixas concentrações | Desenvolvimento. CLAE sem qualificação. Erro na configuração do método. | 2 | 5 | 1 | 10 |



| Objeto de Estudo: Desenvolvimento de Método Analítico por RP-HPLC-UV/DAD | | | | | | | |
|--|-------------------------------|---|---|----------------|----------------|-------------|-----|
| Parâmetro | Falha Potencial | Dano ou Efeito | Causa da falha | Ocorrência (O) | Severidade (S) | Deteção (D) | RPN |
| Balanço de massas | Fator resposta dos PDs | Falta de entendimento sobre a degradação e aparecimento de impurezas. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. Ausência da identificação de impurezas. | 6 | 10 | 6 | 360 |
| | Pureza do pico principal | Falta de especificidade e seletividade dos picos. Não detecção de impurezas. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. Ausência da identificação de impurezas. | 6 | 10 | 6 | 360 |
| | Ausência de grupos cromóforos | Não detecção de impurezas. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. Ausência da identificação de impurezas. | 4 | 6 | 2 | 48 |
| | Tempo de corrida insuficiente | Não detecção de impurezas. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. Ausência da identificação de impurezas. | 4 | 6 | 2 | 48 |
| Recuperação | Compatibilidade do filtro | Alteração na recuperação. Aparecimento de picos que podem ser confundidos com impurezas. Não detecção de impurezas. | Teste de filtro não realizado ou realizado incorretamente. Troca de material pelo analista. | 1 | 5 | 1 | 5 |
| | Fator resposta dos PDs | Falta de entendimento sobre a degradação e aparecimento de impurezas. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. Ausência da identificação de impurezas. | 6 | 10 | 6 | 360 |
| | Solubilidade dos PDs | Não aparecimento de PDs. Balanço de massas inconsistente. | Desenvolvimento de métodos. Pesquisa bibliográfica. | 6 | 10 | 6 | 360 |
| | Tempo de extração | Balanço de massas inconsistente. | Desenvolvimento do método. Ausência de definição no método. Erro do analista. | 2 | 6 | 3 | 36 |

4.1.4 Planejamento Experimental – Design of Experiments (DoE)

Em geral, o planejamento, delineamento ou desenho experimental engloba todo o percurso desde a colocação de um problema à interpretação de resultados, visando atingir eficiência estatística bem como economia de recursos. Assim, e tendo em consideração a finalidade do estudo a realizar, existem vários modelos de desenho experimental que podem ser seguidos.

Segundo o ICH Q8 (R2), o delineamento experimental é um método estruturado e organizado para determinar a relação entre os fatores que afetam um processo e os resultados desse processo (ICH, 2009). A utilização do DoE organiza e estrutura a quantidade de informação coletada, criando um racional para os experimentos e minimizando a quantidade de experimentos a ser executado (WEISSMAN, 2014). Esta definição pode ser aplicada para o desenvolvimento analítico para determinar a relação entre os parâmetros instrumentais do método e o desempenho do método. O DoE pode ser realizado com uma variável por vez (isoladas - os intervalos de aceitação) ou com várias variáveis (multifatorial, em conjunto – a área de concepção) e suas relações e respostas.

O planejamento multifatorial permite verificar várias condições num mínimo de experimentos e as variáveis críticas do método são identificadas com a ajuda de dados estatísticos obtidos com o auxílio de softwares e com a área multidimensional estabelecida (*Method Operable Design Region - MODR*) (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017). Como exemplo, o modelo de Plackett-Burman (*Plackett-Burman Screening Design (PBSD)*), que é um planejamento investigativo em dois níveis fracionários fatoriais (estuda N-1 variáveis usando N experimentos, onde N é um múltiplo de 3), permite a identificação de fatores críticos em um número mínimo de experimentos.

tiplo de 4), identifica principalmente os fatores relevantes, ou principais efeitos; interações entre os fatores são geralmente consideradas insignificantes e são negligenciadas. Ao permitir estudar um grande número de fatores, o PBSD identifica os fatores a serem examinados de forma mais intensa, permitindo a tomada de decisão inteligente para futuras pesquisas e desenvolvimento (HEYDEN et al., 2001).

4.1.5 Delineamento Espacial/Área de Concepção - Design Space (DS)

O principal componente do desenvolvimento de um método cromatográfico por AQbD é o DS (ROZET et al., 2013). Esse conceito também pode ser relatado como MODR ou *Analytical Design Space* (ADS) ou *Proven Acceptable Range* (PAR) que designa a combinação multidimensional e interação de variáveis de entrada e parâmetros de processo que proporcionam a garantia de qualidade do resultado analítico (LIONBERGER et al., 2008; TURPIN et al., 2008; SCHMIDT; MOLNÁR, 2013; LLOYD; BERGUM, 2014; PERAMAN; BHADRAYA; PADMANABHA REDDY, 2015). O método é delineado em uma área na qual são delimitadas as zonas de robustez. O DS fornece flexibilidade regulatória frente a pequenas alterações no método, em outras palavras, apenas as alterações realizadas fora do DS são consideradas mudanças passíveis de gerar a necessidade de alteração pós-registro (NADPARA et al., 2012).

O DS é um domínio multivariado de fatores de entrada, onde as respostas obtidas estão dentro dos limites predefinidos, com um nível aceitável de probabilidade. Nas Figura 6 e Figura 7 estão exemplificados diferentes DS para melhor entendimento desse conceito. A região em branco é a região em que as condições cromatográficas atendem aos parâmetros de adequabilidade do sistema predefinidos, é uma região comum para faixas de operação de múltiplos CQAs (ICH, 2009).

O DS é gerado a partir da realização dos experimento práticos, segundo o DoE, e através da avaliação das interações e respostas da combinação dos CQAs, gerando, desta forma, faixas aceitáveis para essas variáveis, obtendo a região de robustez para os atributos críticos do método (RAMAN; MALLU; BAPATU, 2015). Para definir o DS é preciso implementar modelos estatísticos como a modelagem bayesiana, as simulações de Monte-Carlo ou as técnicas de *bootstrapping*. Esses modelos permitem a inclusão da incerteza dos parâmetros e estimam a probabilidade de encontrar as especificações delimitadas (ROZET et al., 2013). Através de um DoE baseado no modelo PBSD, a análise dos resultados, os efeitos médios, o desvio padrão e os erros para geração do DS podem ser calculados usando os métodos estatísticos de Youden e Steiner, Vander Heyden e Waters e Dovetoglou (WATERS e DOVLETOGLOU, 2006; HEYDEN et al., 2001; VANAJA e SHOBHA RANI, 2007).

Na Figura 6, temos a representação de um Espaço de Concepção com apenas um CQA – Resolução do IFA em função do pH e da temperatura da coluna e na Figura 7, o espaço de concepção com vários atributos representados. As áreas hachuradas indicam as regiões que não atendem os requerimentos inseridos no software. A área em branco representa as regiões onde as condições indicadas nas colunas podem ser alteradas sem que se percam os requerimentos especificados.

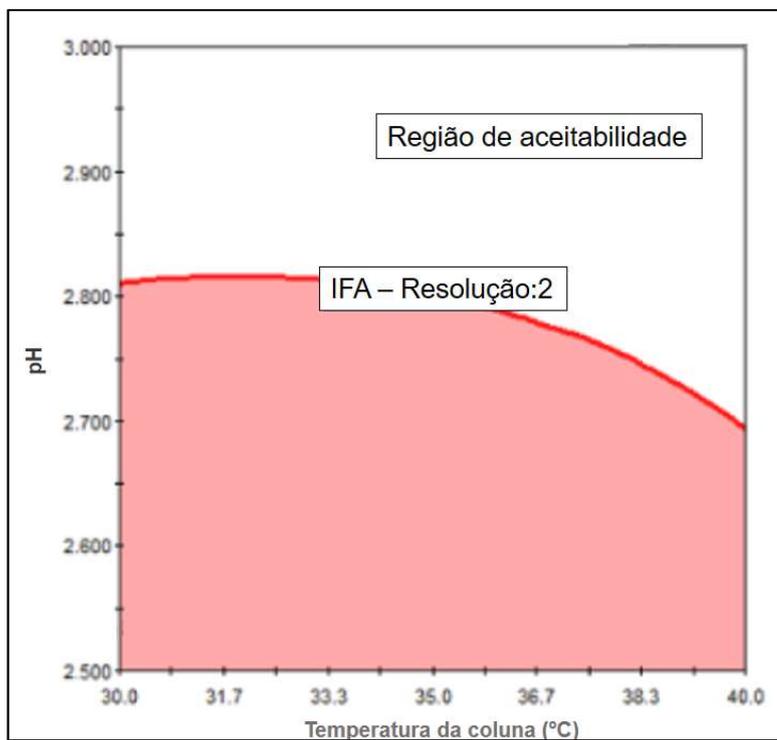


Figura 6 - Representação do Espaço de Concepção com apenas um CQA – Resolução do IFA (Adaptado de KARMARKAR et al., 2011)

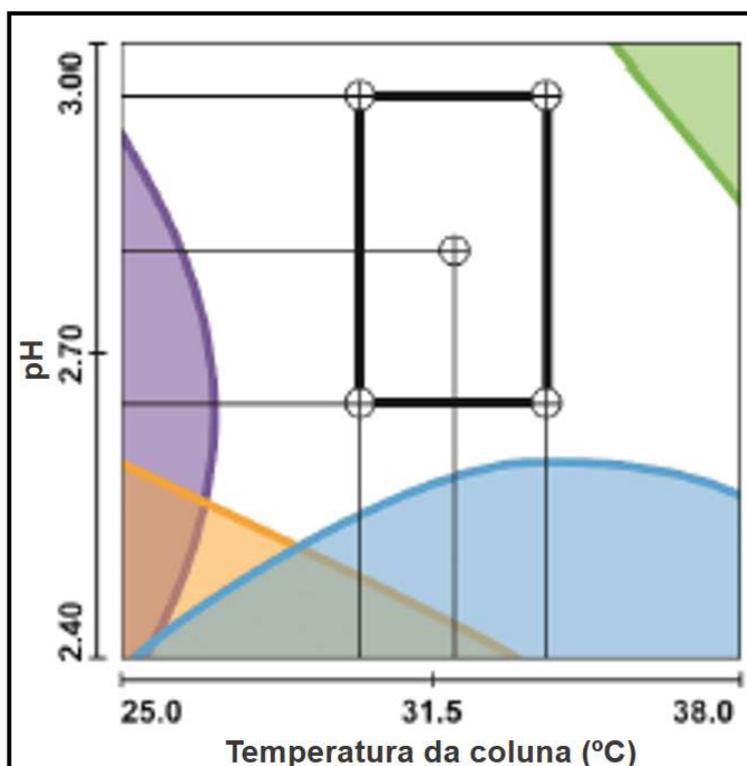


Figura 7 - Representação do Espaço de Concepção para vários CQAs (Adaptado de KARMARKAR et al., 2011)

A definição do DS é a etapa final de desenvolvimento do método. Todo conhecimento obtido através da pesquisa bibliográfica e do planejamento do estudo realizado anteriormente é computado para a realização dos experimentos e, por fim, para definir o melhor DS.

4.1.6 Estratégia de Controle/Monitoramento - Analytical Control Strategy (ACS)

Em AQbD, a estratégia de controle é planejada para garantir que o desempenho do método venha de encontro aos pré-requisitos do ATP. É obtida através dos vários dados coletados durante a fase de desenvolvimento do método, dos dados estatísticos obtidos no DoE, MODR, nos estudos de robustez, nos estudos de degradação forçada, nos estudos de estabilidade e de compatibilidade e no processo de verificação do método. Dessa forma, a estratégia de controle pode fornecer notas e comentários de prevenção a respeito dos cuidados com o grau do reagente, marca do equipamento, tipo de coluna, sensibilidade com respeito ao pH, proporção de orgânico na fase móvel, etc (JAYAGOPAL; SHIVASHANKAR, 2017).

4.1.7 Monitoramento Contínuo do Método (CMM)

O CMM é a fase final da AQbD e segue a mesma abordagem do que já é estabelecido para um método analítico de rotina, ou seja, o desempenho do método deve ser monitorado ao longo do seu tempo de vida para assegurar que o método permaneça em conformidade com os critérios pré-definidos. Na indústria farmacêutica, é representado usando cartas de controle ou outras ferramentas para rastrear dados de adequação do sistema e investigações relacionadas ao método. Esse monitoramento contínuo permite que um analista detecte, identifique e corrija qualquer desempenho anormal ou fora da tendência do método analítico (RAMAN; MALLU; BAPATU, 2015).

A Figura 8 exemplifica um fluxograma proposto para o desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade usando a abordagem AQbD, contemplando todos os seus elementos.

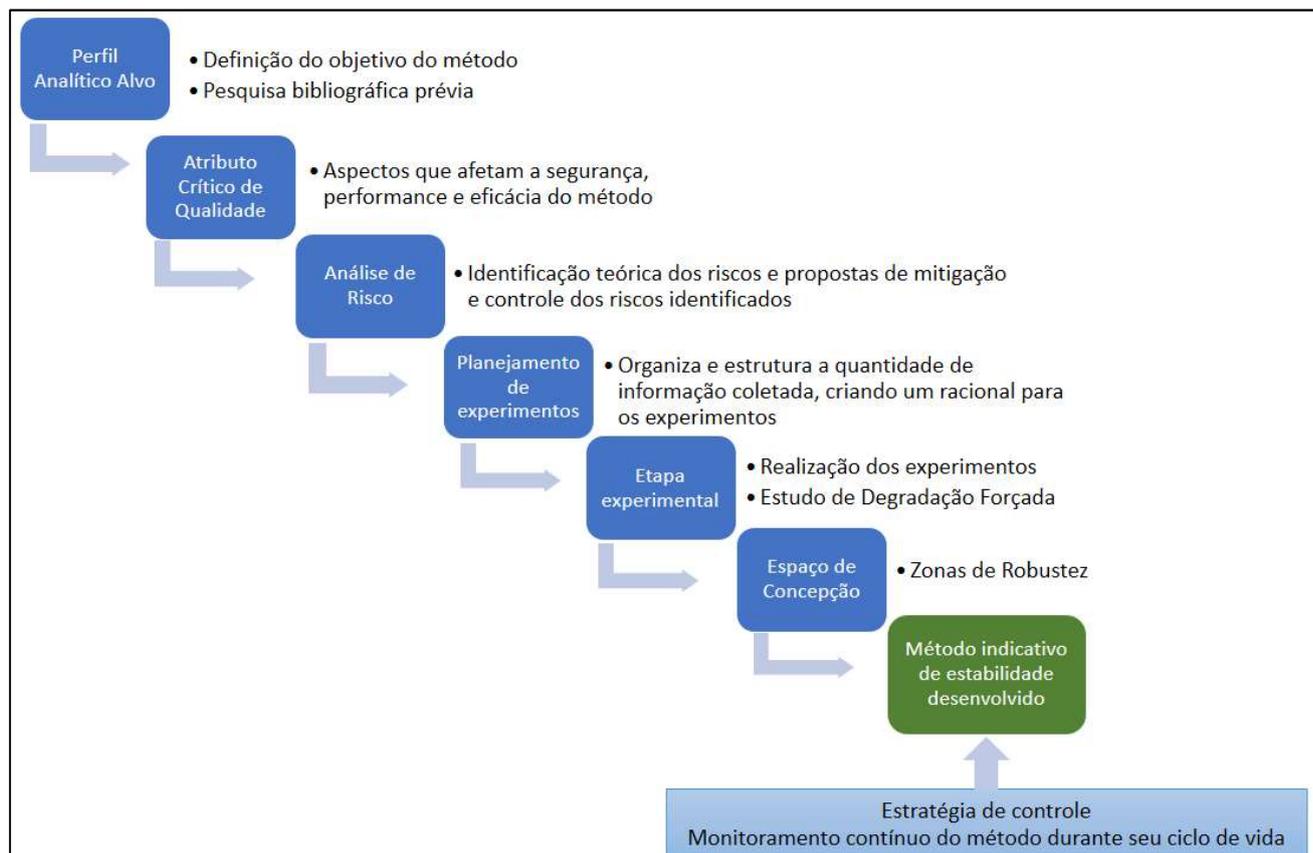


Figura 8 - Fluxograma para o desenvolvimento analítico de MIEs por AQbD

4.2 Amostras utilizadas no Desenvolvimento de MIEs

A parte experimental do desenvolvimento de um MIE difere dos demais métodos principalmente sobre o tipo de amostra que será utilizada. Para o desenvolvimento de um MIE é necessária a realização do EDF. Segundo o Guia nº 4/2015 (BRASIL, 2015b), o EDF deverá ser conduzido nas amostras determinadas na Tabela 6, com seus respectivos controles nas mesmas condições experimentais de degradação forçada/estresse exemplificadas na Tabela 7 (BAERTSCHI, 2011).

Tabela 6 - Amostras avaliadas no estudo de degradação forçada

| | |
|-----------------------|--|
| Padrões de referência | IFA e Impurezas conhecidas disponíveis |
| Branco | Branco submetido ao estresse |
| Placebo | Placebo submetido ao estresse |
| Fármaco | Fármaco submetido ao estresse |
| Formulação | Formulação submetida ao estresse |

Tabela 7 – Reações de estresse realizadas durante um estudo de degradação forçada

| Condição de estresse | Procedimento comumente utilizado |
|----------------------|---|
| Ácida | HCl 0,1 – 1 M, temperatura ambiente até uso de refluxo |
| Alcalina | NaOH 0,1 – 1 M, temperatura ambiente até uso de refluxo |
| Oxidante | H ₂ O ₂ 3 – 30%, temperatura ambiente até 80°C |
| Aquecimento | 50 – 150°C, em umidade mais baixa possível |
| Umidade | 50 – 150°C, em umidade controlada (usualmente 75% UR) |
| Fotolítica | Exposição à luz conforme o ICH (>1.200.000 lux/hora) Irradiação em UV com lâmpada de mercúrio (254 e 365 nm) Expor o material à luz fluorescente do laboratório, monitorando a temperatura ou utilizando-se uma amostra controle |
| Íons metálicos | Soluções de sais de Ferro III ou Cobre II. |

Para a aplicação do AQbD, recomenda-se o uso da amostra oriunda do EDF cujo pico do IFA tenha atingido uma redução entre 10 a 30 % da sua área (para evitar a ocorrência de degradação secundária) e que apresentou a formação de maior quantidade de produtos de degradação e/ou com baixa resolução entre os picos, considerada o pior caso, para a avaliação dos experimentos propostos no DoE.

4.3 Softwares utilizados no AQbD

Geralmente, a indústria farmacêutica utiliza softwares específicos ou ferramentas estatísticas e computacionais para criar um DS e um DoE para o desenvolvimento, a otimização e a transferência de métodos cromatográficos baseado nas determinações dos requisitos. Os softwares buscam a melhor condição cromatográfica para atender os requisitos exigidos para o método par a criação do

DoE que define os experimentos de triagem, variando principalmente os fatores que tem maior influência sobre a seletividade como, por exemplo, coluna, pH e modificador orgânico. A partir dos resultados obtidos na triagem, realiza-se o refinamento do método para obtenção da melhor condição cromatográfica. Diferentes fatores secundários são avaliados no refinamento como, por exemplo, vazão, temperatura, volume de injeção, inclinação do gradiente. Os dados obtidos na otimização fazem parte da avaliação de robustez do método. Diversos softwares, como os listados na Tabela 8, permitem a utilização do conceito de AQbD. A literatura demonstra que o desenvolvimento de métodos através da utilização de softwares automatizados pode ser realizado em um tempo total de até 30 horas. A diminuição no tempo de desenvolvimento de métodos impacta diretamente no tempo de resposta e no custo operacional. A criação do DS, que relaciona todos os fatores definidos no planejamento do experimento, fornece um ganho expressivo de eficiência cromatográfica, gerando condições cromatográficas ideais e minimizando o risco de falhas na etapa de avaliação da robustez durante a validação do método e também de ocorrência de problemas no método durante a sua vida útil e transferência (BHATT; RANE, 2011; KARMARKAR et al., 2011; PATIL; PETHE, 2013; REID et al., 2013; SCHMIDT; MOLNÁR, 2013; WOLF-DIETER et al., 2014; KOCHLING et al., 2016).

Tabela 8 - Exemplo de softwares empregados no desenvolvimento e otimização de métodos por CLAE

| | |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| ChromSword® (Merck, Alemanha) | Pesos (Perkin-Elmer Corp., EUA) |
| DryLab® (Instituto Molnár, Alemanha) | Diamond (ATI, EUA) |
| LC-Simulator® (ACD Labs, Canadá) | Osiris (Datalys, França) |
| Fusion® (Smatrix, EUA) | Prisma (GraphPad Software, EUA) |
| Umetrics™ Suite (MKS, Suíça) | ISOS (Agilent, EUA) |
| Statistica (Statsoft, EUA) | MatLab (MathWorks, EUA) |

5 CONCLUSÃO

A implementação da abordagem AQbD é relativamente nova nas ciências analíticas e não é um processo simplório, uma vez que necessita de mudança de cultura da empresa e de investimento inicial direto (compra de softwares e equipamentos) e indireto (qualificação e/ou contratação de recursos humanos) para sua implementação. Os desafios são muitos e exigem grande envolvimento e interesse da alta direção da empresa. De maneira global, a harmonização das terminologias e conceitos precisa ser revista, assim como uma maior qualificação dos profissionais e grupos de pesquisas atuantes na área analítica.

Os resultados obtidos a partir da aplicação da abordagem AQbD, ainda que seja difícil o entendimento de forma clara perante os colaboradores, incluem métodos mais robustos e desenvolvidos de maneira sistemática, com melhor conhecimento sobre o processo de desenvolvimento e o entendimento das interações das variáveis analíticas, o que possibilita ajustes focados no aprimoramento dos métodos, baseados em ciência e gestão de riscos. Portanto, qualidade é agregada não só ao desenvolvimento analítico, como também, aos produtos farmacêuticos de modo geral. Em uma análise de custo-benefício, os elementos da AQbD geram economia e trazem celeridade ao desenvolvimento de métodos, além de diminuir a necessidade de redesenvolvimento ao longo do ciclo de vida do método.

A abordagem AQbD deverá continuar a crescer dentro da indústria farmacêutica e é possível que ela seja utilizada como requisito regulatório, uma vez que suas bases teóricas e regulatórias estão descritas de forma consistente no panorama farmacêutico global, inclusive por órgãos renomados como ICH, FDA, WHO, USP e EMA.

A utilização da AQbD apresenta uma mudança de paradigma dentro de uma empresa, promovendo o desenvolvimento tecnológico, a melhora na transferência de tecnologia, contribuindo na produção de medicamentos com qualidade, segurança e eficácia e facilitando os processos de registro no que concerne o desenvolvimento de metodologias para o controle físico-químico, sobretudo, no desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

BAERTSCHI, S. W. **Pharmaceutical Stress Testing: Predicting Drug Degradation.**

1. ed. Pharmaceutical Science and Technology, 2011.

BAJAJ, S.; SAKHUJA, N.; SINGLA, D.; BAJAJ PRINCIPAL, S. Stability Testing of Pharmaceutical Products. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 2012, p. 129–138, 2012.

BHATT, D. A.; RANE, S. I. QbD approach to analytical RP-HPLC method development and its validation. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 1, p. 179–187, 2011.

BLESSY, M.; PATEL, R. D.; PRAJAPATI, P. N.; AGRAWAL, Y. K. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs - A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n. 3, p. 159–165, 2014.

BONDI, R. W.; DRENNEN, J. K. Quality by Design and the Importance of PAT in QbD. **Separation Science and Technology**, v. 10, n. C, p. 195–224, 2011.

BRASIL, 2017a. **RDC 171 de 24 de agosto de 2017.** Revisa a aplicabilidade da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 53, de 4 de dezembro de 2015, para alterações pós-registro e os prazos desta Resolução para produtos já registrados. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: http://www.lex.com.br/legis_27495934_RESOLUCAOC_N_171_DE_22_DE_AGOSTO_DE_2017.aspx.

Acesso em: 25/08/2017.

BRASIL, 2017b. **CP 285/2017.** Proposta de Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) que altera os prazos relacionados à Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 53/2015. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: http://www.lex.com.br/legis_27277328_CONSULTA_PUBLICA_N_285_DE_16_DE_JANEIRO_DE_2017.aspx.

Acesso em: 25/08/2017.

BRASIL, 2017c. **RDC 166 de 25 de julho de 2017.** Estabelece critérios para a validação de métodos analíticos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>. Acesso em: 09/09/2017.

BRASIL, 2005. **Resolução - RE Nº 1 de 29 De Julho de 2005.** Guia para a realização de estudos de estabilidade. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf.

Acesso em: 22/05/2017.

BRASIL, 2013. **Resolução - RDC Nº 58 de 20 de dezembro de 2013.** 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. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0058_20_12_2013.pdf. Acesso em: 19/05/2017.

BRASIL, 2014. **Resolução - RDC Nº 60 de 10 de outubro de 2014.** Dispõe sobre os critérios para a concessão renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: http://www.poderesaude.com.br/novosite/images/publicacoes_13.10.2014-III.pdf. Acesso em: 19/05/2017.

BRASIL, 2015a. **Resolução - RDC Nº 53 de 04 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. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe_eletronico/2015/iels.dez.15/lcls227/U_RS-MS-ANVISA-RDC-53-REP_041215.pdf. Acesso em: 22/05/2017.

BRASIL, 2015b. **Guia nº4 de 08 de dezembro de 2015. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária.** Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2738062>. Acesso em: 30/05/2017.

CAPUCHO, H. C.; MASTROIANNI, P. C.; CUFFINI, S. Farmacovigilância no Brasil: A relação entre polimorfismo de fármacos, efetividade e segurança dos medicamentos. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 277–283, 2008.

HALEEM, R. M.; SALEM, M. Y.; FATAHALLAH, F. A.; ABDELFATTAH, L. E. Quality in the pharmaceutical industry - A literature review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, n. 5, p. 463–469, 2015.

HEYDEN, Y. . Vander; NIJHUIS, A.; SMEYERS-VERBEKE, J.; VANDEGINSTE, B. G.

M.; MASSART, D. L. Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, n. 5–6, p. 723–753, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00529-X](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00529-X)>.

ICH, 2009. ICH Q8(R2) Pharmaceutical Development. **ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE**, v. 8, p. 28, 2009.

JAYAGOPAL, B.; SHIVASHANKAR, M. Analytical Quality by Design – A Legitimate Paradigm for Pharmaceutical Analytical Method Development and Validation . **Mechanics, Materials Science & Engineering Journal**, v. 9, p. 10, 2017.

KARMARKAR, S.; GARBER, R.; GENCHANOK, Y.; GEORGE, S.; YANG, X.; HAMMOND, R. Quality by design (QbD) based development of a stability indicating HPLC method for drug and impurities. **Journal of chromatographic science**, v. 49, n. 6, p. 439–446, 2011.

KAVITHA, K. Y.; GEETHA, G.; HARIPRASAD, R.; KAVIARASU, M.; VENKATNARAYANAN, R. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for the simultaneous estimation of linagliptin and metformin in pure and pharmaceutical dosage form. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 230–235, 2013.

KOCHLING, J.; WU, W.; HUA, Y.; GUAN, Q.; CASTANEDA-MERCEDES, J. A platform analytical quality by design (AQbD) approach for multiple UHPLC-UV and UHPLC-MS methods development for protein analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 125, p. 130–139, 2016.

LIONBERGER, R. A.; LEE, S. L.; LEE, L.; RAW, A.; YU, L. X. Quality by Design: Concepts for ANDAs. **The AAPS Journal**, v. 10, n. 2, p. 268–276, 2008.

LLOYD, D. K.; BERGUM, J. Application of quality by design (QbD) to the development and validation of analytical methods. **Specification of Drug Substances and Products**, p. 29–72, 2014.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. UHPLC – Uma abordagem atual: desenvolvimentos e desafios recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 197–207, 2012.

NADPARA, N. P.; THUMAR, R. V.; KALOLA, V. N.; PATEL, P. B. Quality by design (QBD): A complete review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 17, n. 2, p. 20–28, 2012.

PATIL, A. S.; PETHE, A. M. Quality by design (QbD): A new concept for development

- of quality pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance**, v. 4, n. 2, p. 13–19, 2013.
- PERAMAN, R.; BHADRAYA, K.; PADMANABHA REDDY, Y. Analytical quality by design: A tool for regulatory flexibility and robust analytics. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2015, 2015.
- PRAMOD, K.; TAHIR, M. A.; CHAROO, N. A.; ANSARI, S. H.; ALI, J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach. **International journal of pharmaceutical investigation**, v. 6, n. 3, p. 129–38, 2016.
- RAMAN, N. V. V. S. ; MALLU, U. R.; BAPATU, H. R. Analytical Quality by Design Approach to Test Method Development and Validation in Drug Substance Manufacturing. **Journal of Chemistry**, v. 2015, n. 1–8, 2015.
- RATHORE, A. S.; WINKLE, H. Quality by design for biopharmaceuticals. **Nature Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 26–34, 2009.
- REID, G. L.; MORGADO, J.; BARNETT, K.; HARRINGTON, B.; WANG, J.; HARWOOD, J.; FORTIN, D. Analytical quality by design (AQbD) in pharmaceutical development. **American Pharmaceutical Review**, v. 16, n. 5, 2013.
- RIDDHIBEN, P.; PIYUSHBHAI, P.; NATUBHAI, P.; SHAH, S. B. M. Stability indicating HPLC method development- A review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n. 25, p. 79–87, 2011.
- ROZET, E.; LEBRUN, P.; HUBERT, P.; DEBRUS, B.; BOULANGER, B. **Design Spaces for analytical methods** TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 2013.
- ROZET, E.; ZIEMONS, E.; MARINI, R. D.; BOULANGER, B.; HUBERT, P. Quality by design compliant analytical method validation. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 106–112, 2012.
- SCHMIDT, A. H.; MOLNÁR, I. Using an innovative Quality-by-Design approach for development of a stability indicating UHPLC method for ebastine in the API and pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 78–79, p. 65–74, 2013.
- SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES, M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A. R.; ROLIM NETO, P. J. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 129–135, 2009.
- TURPIN, J.; LUKULAY, P. H.; VERSEPUT, R.; SWARTZ, M.; KNILL, I. A Quality-by-

Design Methodology for Rapid LC Method Development, Part I. **LCGC North America**, v. 26, n. 12, p. 48–61, 2008.

VANAJA, K.; SHOBHA RANI, R. H. DESIGN OF EXPERIMENTS: CONCEPT AND APPLICATIONS OF PLACKETT BURMAN DESIGN. **Clinical Research and Regulatory Affairs**, v. 24, n. 1, p. 1–23, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/10601330701220520>>.

WATERS, R. B.; DOVLETOGLOU, A. Evaluating HPLC Assay Robustness with Experimental Design. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 26, n. 18, p. 2975–2985, 2006 (2006 ou 2016?). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1081/JLC-120025411%0D>>.

WOLF-DIETER, B.; VOLKER, E.; SERGEJ, GALUSHKO, VSEVOLOD, T.; IRINA, S. Automated HPLC Method Development: A Step Forward with Innovative Software Technology. **Statistics and data analysis**, v. 1, p. 34–38, 2014.

YU, L. X. Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 4, p. 781–791, 2008.