

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Programa de Pós-Graduação em Estatística

Johnes Geraldo dos Santos

**ANÁLISE DAS MÉDIAS DE TEOR DO FÁRMACO CITRATO DE FENTANILA EM
LOTES DO MEDICAMENTO INJETÁVEL CITRATO DE FENTANILA 0,05
MG/ML VOLUME 10 ML**

Belo Horizonte

2023

Johnes Geraldo dos Santos

**ANÁLISE DAS MÉDIAS DE TEOR DO FÁRMACO CITRATO DE FENTANILA EM
LOTES DO MEDICAMENTO INJETÁVEL CITRATO DE FENTANILA 0,05
MG/ML VOLUME 10 ML**

Monografia apresentada ao Programa de Especialização em Estatística do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Estatística, com ênfase em Indústria e Mercado.

Orientador: Prof. Dr. Roberto da Costa Quinino

Belo Horizonte

2023

Santos, Johnes Geraldo dos.

S237a Análise das médias de teor do fármaco citrato de fentanila em lotes do medicamento injetável citrato fentanila 0,05 mg/ml volume 10ml [manuscrito] / Johnes Geraldo dos Santos – 2023. 35 f. il.

Orientador: Roberto da Costa Quinino

Monografia (especialização) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Estatística.

Referências: f. 29-30

1. Estatística. 2. Análise de variância. 3. Indústria Farmacêutica – COVID-19 (Doença). I. Quinino, Roberto da Costa. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Estatística. III. Título.

CDU 519.2(043)



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Estatística
Programa de Pós-Graduação / Especialização
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
31270-901 – Belo Horizonte – MG

E-mail: pgest@ufmg.br
Tel: 3409-5923 – FAX: 3409-5924

ATA DO 285ª. TRABALHO DE FIM DE CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM ESTATÍSTICA DE JOHNES GERALDO DOS SANTOS.

Aos dezessete dias do mês de abril de 2023, às 15:00 horas, com utilização de recursos de videoconferência a distância, reuniram-se os professores abaixo relacionados, formando a Comissão Examinadora homologada pela Comissão do Curso de Especialização em Estatística, para julgar a apresentação do trabalho de fim de curso do aluno **Johnes Geraldo dos Santos**, intitulado: “Análise das médias de teor do fármaco citrato de fentanila em lotes do medicamento injetável citrato de fentanila 0,05 mg/ml volume 10ml”, como requisito para obtenção do Grau de Especialista em Estatística. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Professor Roberto da Costa Quinino – Orientador, após dar conhecimento aos presentes do teor das normas regulamentares, passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa do candidato. Após a defesa, os membros da banca examinadora reuniram-se sem a presença do candidato e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foi atribuída a seguinte indicação: o candidato foi considerado Aprovado condicional às modificações sugeridas pela banca examinadora no prazo de 30 dias a partir da data de hoje por unanimidade. O resultado final foi comunicado publicamente o candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente Ata, que será assinada por todos os membros participantes da banca examinadora. Belo Horizonte, 17 de abril de 2023.

Roberto da Costa
Quinino:8087129
1720

Assinado de forma digital por
Roberto da Costa
Quinino:80871291720
Dados: 2023.04.17 16:27:23
-03'00'

Prof. Roberto da Costa Quinino (Orientador)
Departamento de Estatística / ICEX / UFMG

ANDERSON LAECIO
GALINDO
TRINDADE:00954199
693

Assinado de forma digital por
ANDERSON LAECIO GALINDO
TRINDADE:00954199693
Dados: 2023.04.19 13:10:26
-03'00'

Prof. Anderson Laécio Galindo Trindade
DEP/UFMG

RESUMO

A indústria farmacêutica passou por um grande desafio recentemente com a pandemia do Covid-19 (SARS-CoV-2). As áreas de garantia da qualidade e validação de processos e qualificação de equipamentos e sistemas tiveram que garantir o aumento da produção de medicamentos sem a perda da qualidade do produto e visando a segurança do paciente. Um medicamento muito utilizado para analgesia de curta duração durante o período anestésico e outros procedimentos clínicos é o Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml. O citrato de fentanila é o sal de ácido cítrico da fentanila que é composto por quantidades equimolares desses. A fentanila possui em sua estrutura uma amida, dois anéis benzila e um análogo da piperidina, que, nesse caso, ela pode ser classificada como uma amina terciária. Dentre as várias análises físico-químicas realizadas no controle de qualidade dos medicamentos, a análise de doseamento (teor) do fármaco tem grande importância, visando a entrega da dose correta do medicamento e, conseqüentemente, uma melhor eficácia do produto. Neste contexto, este estudo buscou realizar uma análise da variância das médias dos 11 lotes amostrados de Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml que foram produzidos durante o ano de 2021 em uma indústria farmacêutica localizada na cidade de Montes Claros-MG.

Palavras-chaves: Citrato de Fentanila, Análise de Variância, ANOVA, Verificação Continuada, Indústria Farmacêutica.

ABSTRACT

The pharmaceutical industry has experienced a major challenge recently with the Covid-19 (SARS-CoV-2) pandemic. The areas of quality assurance and validation of processes and qualification of equipment and systems had to guarantee an increase in the production of medicines without loss of product quality and with a view to patient safety. A drug widely used for short-term analgesia during the anesthetic period and other clinical procedures is Fentanyl Citrate 0.05 mg/ml. Fentanyl citrate is the citric acid salt of fentanyl which is composed of equimolar amounts of these. Fentanyl has in its structure an amide, two benzyl rings and a piperidine analogue, which, in this case, can be classified as a tertiary amine. Among the various physical-chemical analyzes carried out in the quality control of medicines, the analysis of the dosage (content) of the drug is of great importance, aiming at delivering the correct dose of the medicine and, consequently, a better efficacy of the product. In this context, this study sought to perform a variance analysis of the means of the 11 sampled batches of Fentanyl Citrate 0.05 mg/ml - volume 10 ml that were produced during the year 2021 in a pharmaceutical industry located in the city of Montes Claros- MG.

Keywords: Fentanyl Citrate, Analysis of Variance, ANOVA, Continuous Verification, Pharmaceutical Industry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tabela ANOVA saída do software estatístico minitab.....	15
Figura 2: Histograma dos resíduos dos lotes amostrados de Citrato de Fentanila – 10 ml – Ano 2021.....	20
Figura 3: Gráfico de Probabilidade Normal dos Resíduos.....	21
Figura 4: Teste de Cochran utilizando o software R.....	22
Figura 5: Gráficos dos dados de Teor em sequência de análise	22
Figura 6: Informações do fator analisado na ANOVA	23
Figura 7: Tabela da Análise de Variância (ANOVA) – Teor versus Lotes	23
Figura 8: Agrupamento usando o método LSD de Fisher	24
Figura 9: Tabela dos Testes Individuais de Fisher para Diferenças de Médias	25
Figura 10: Gráfico Boxplot do Teor por lote do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml	26
Figura 11: Gráfico ANOM das médias de Teor dos lotes	27
Figura 12: Condições cromatográficas do método analítico	33
Figura 13: Parâmetros de adequabilidade do sistema	33
Figura 14: Cromatograma representativo do padrão primário de citrato de fentanila	34
Figura 15: Cromatograma representativo da amostra de citrato de fentanila injetável	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	10
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1	INTRODUÇÃO	11
3.2	VALIDAÇÃO	11
3.3	PLANEJAMENTO E ANÁLISE DE EXPERIMENTOS COM UM ÚNICO FATOR: A VARIÂNCIA (ANOVA) 12	
3.3.1	PLANEJAMENTO DO EXPERIMENTO	12
3.3.2	ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA).....	13
4	MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1	MATERIAIS E RECURSOS.....	16
4.2	TÉCNICA DE ANÁLISE DE DOSEAMENTO DO FÁRMACO CITRATO DE FENTANILA (TEOR) UTILIZADA NA OBTENÇÃO DOS DADOS DO ESTUDO	16
4.3	DADOS COLETADOS	16
4.4	ANÁLISE DOS DADOS.....	18
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS	29
	APÊNDICES	31

1 INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica passou por um grande desafio recentemente com a pandemia do Covid-19 (SARS-CoV-2). As farmacêuticas tiveram que aumentar sua produção de medicamentos utilizados no tratamento do Covid-19, garantindo os níveis de qualidade exigidos pelas agências reguladoras e visando garantir a qualidade do produto, segurança do paciente/cliente e a integridade dos dados dos processos produtivos e analíticos.

A área de garantia da qualidade na indústria farmacêutica possui, dentre outras, as atividades de validação de processos e verificação continuada do processo. As quais visam garantir que o processo de produção de um determinado medicamento, operando dentro dos parâmetros pré-estabelecidos, consegue desempenhar suas funções efetivamente e reprodutivamente para a produção do medicamento dentro de suas especificações e atributos de qualidade pré-estabelecidos (ANVISA, 2022).

A produção de medicamentos injetáveis utilizados no processo de tratamento dos pacientes infectados com o Covid-19 e com sintomas graves, que necessitaram de internação em UTI, foi aumentada substancialmente para evitar uma escassez destes medicamentos no mercado. Uma indústria farmacêutica localizada na cidade de Montes Claros-MG, teve sua demanda de produtos aumentada repentinamente, entre os medicamentos mais requisitados, o Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml se destacou pela grande procura. O citrato de fentanila é o sal de ácido cítrico da fentanila que é composto por quantidades equimolares desses. Cada ampola do produto Citrato de Fentanila com volume de 10 ml é composto, teoricamente, por 0,785 mg do princípio ativo (citrato de fentanila), 9,00 mg do agente isotonzante (cloreto de sódio) e 10,00 ml de veículo (água para injetáveis). A fentanila possui em sua estrutura uma amida, dois anéis benzila e um análogo da piperidina, que, nesse caso, ela pode ser classificada como uma amina terciária. Este medicamento é muito utilizado para analgesia de curta duração durante o período anestésico e outros procedimentos clínicos.

Com o aumento da produção do medicamento, também foi necessária uma maior demanda das análises no controle de qualidade. Dentre as várias análises físico-químicas realizadas no controle de qualidade dos medicamentos, a análise de doseamento do fármaco tem grande importância, visando a entrega da dose correta do medicamento e, conseqüentemente, uma melhor eficácia do produto.

Este estudo visa uma análise dos resultados da análise de teor (doseamento) do fármaco citrato de fentanila do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml, referente a alguns lotes produzidos durante o ano de 2021 em uma indústria de medicamentos genéricos localizada na cidade de Montes Claros-MG. As análises de doseamento do princípio ativo do medicamento foram realizadas no laboratório físico-químico do controle de qualidade da própria indústria e as análises presentes neste estudo, foram realizadas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo realizar um levantamento sobre os resultados das análises físico-químicas de doseamento do fármaco citrato de fentanila no produto injetável Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml - volume 10 ml, com foco em analisar a variância entre as médias dos lotes produzidos no ano de 2021 por uma indústria farmacêutica localizada na cidade de Montes Claros-MG.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos neste estudo são:

- Levantar os resultados de, no mínimo 10 amostras, das análises de doseamento do princípio ativo (citrato de fentanila) dos lotes do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml fabricado no ano de 2021 da indústria em questão;
- Avaliar se há diferença estatística entre as médias de teor do fármaco (citrato de fentanila) em relação ao fator lotes amostrados;
- Avaliar os resultados da análise de doseamento de cada lote por ciclo de esterilização do produto;
- Discutir os resultados da análise estatística realizada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Introdução

A indústria farmacêutica no Brasil é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e as fabricantes de medicamentos são reguladas pela resolução RDC N° 658, de 30 de março de 2022 (antiga RDC 301/2019), que dispõe sobre as diretrizes gerais de Boas Práticas de Fabricação (BPF) de medicamentos.

De acordo com a ANVISA (2022, Art. 1º), esta Resolução possui o objetivo de adotar as diretrizes gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos do Esquema de Cooperação em Inspeção Farmacêutica (PIC/S), como requisitos mínimos a serem seguidos na fabricação de medicamentos.

Além da RDC 658/2022, existe ainda as Instruções Normativas (IN) que visam complementar certas atividades. A IN 138 de 30 de março de 2022, dispõe sobre as boas práticas de fabricação complementares às atividades de qualificação e validação.

Este estudo pode ser visto com uma atividade da verificação continuada do processo de fabricação do medicamento Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – envasado com volume de 10 ml da indústria farmacêutica de Montes Claros-MG.

O fármaco citrato de fentanila é classificado com um opióide primariamente agonista de receptor μ , e como analgésico, estima-se que seja de 50 a 100 vezes mais potente do que a morfina (MASSONE, 2008).

De acordo com Aulton (2016, cap. 22),

o projeto de um regime de dose determina o benefício terapêutico para os pacientes. Os princípios de farmacocinética clínica são aplicados na elaboração de um regime de dose para um paciente que garanta que a formulação adequada do fármaco seja escolhida para uma via apropriada de administração.

3.2 Validação

De acordo com a ANVISA (2022), validação é a ação de provar, de acordo com os princípios das Boas Práticas de Fabricação (BPF), que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, atividade ou sistema realmente leva aos resultados esperados.

Ainda de acordo com a ANVISA (2022), a validação de processo é a 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. Já a verificação continuada do processo é a evidência documental de que o processo é mantido dentro do estado de controle durante a produção comercial. O processo de verificação continuada do processo, pode ser visto como uma avaliação periódica do processo produtivo de determinado medicamento e as informações geradas nesta avaliação deve ser usada para melhoria contínua do processo de fabricação dos medicamentos.

Neste contexto ainda temos a atividade de qualificação, que tem o foco em verificar de forma documental que determinado equipamento e/ou sistema é adequado ao seu fim estabelecido e cumpre conforme especificações do fabricante e os requisitos dos usuários. O processo de qualificação de equipamentos tem grande importância na indústria farmacêutica, visto que possibilita um maior controle dos equipamentos e instrumentos utilizados no processo produtivo, nas análises do controle de qualidade e nas áreas de armazenamento dos medicamentos.

3.3 Planejamento e Análise de Experimentos com um Único Fator: A Variância (ANOVA)

3.3.1 Planejamento do Experimento

Um experimento pode ser definido como um procedimento planejado para obter novos fatos, negar ou confirmar hipóteses ou resultados obtidos anteriormente.

Para Montgomery (2012, pag. 338) técnicas de planejamento de experimentos, com base em estatística, são particularmente úteis no mundo da engenharia, a fim de resolver muitos problemas importantes. Estes planejamentos de experimentos podem ser aplicados em diversas áreas buscando uma melhora em vários processos.

Experimentos planejados são geralmente empregados sequencialmente, ou seja, o primeiro com um sistema complexo, que tenha muitas variáveis controláveis, é frequentemente um experimento exploratório projetado para identificar quais variáveis são mais importantes. Os experimentos subsequentes são usados para refinar essa informação e determinar quais

ajustes são requeridos nessas variáveis críticas, de modo a aprimorar o processo. Finalizando, o experimentalista tem o objetivo de otimizar, ou seja, determinar quais os níveis resultantes das variáveis críticas no melhor desempenho do processo (MONTGOMERY, 2012).

Cada experimento envolve uma sequência de atividades:

1. Conjectura – a hipótese original que motiva o experimento.
2. Experimento – o teste feito para investigar a conjectura.
3. Análise – a análise estatística dos dados do experimento.
4. Conclusão – o que se aprendeu acerca da conjectura original do experimento. Frequentemente, o experimento conduzirá a uma conjectura revisada e a um novo experimento, e assim por diante (MONTGOMERY, 2012, pag. 339).

Conforme Montgomery (2012, pag. 339), “todos os experimentos são planejados, infelizmente, alguns deles são pobremente planejados e, como resultado, fontes valiosas são usadas ineficientemente”. Experimentos projetados estatisticamente permitem maior eficiência e economia no processo experimental, e o uso de métodos estatísticos para examinar dados ao tirar conclusões leva à objetividade científica (MONTGOMERY, 2012).

É importante fazer uma análise detalhada dos dados do experimento planejado, incluindo uma interpretação gráfica dos dados. “Diagramas de caixas mostram a variabilidade das observações dentro de um tratamento (nível de fator) e a variabilidade entre os tratamentos” (MONTGOMERY, 2012, pag. 340).

3.3.2 Análise de Variância (ANOVA)

A Análise de Variância (ANOVA) de um fator ou de uma via é um teste estatístico univariado adequado para estudar situações com variáveis independentes e outras variáveis dependentes. Este teste nos dá o valor F, que determinará se existe diferença significativa entre os grupos analisados.

Imagine que tenhamos n níveis diferentes de um fator único o qual queremos comparar. Cada nível de fator, às vezes, é chamado de tratamento, um termo muito geral que remonta à aplicação inicial de métodos de planejamento experimental na ciência agrícola. A resposta a cada um dos n tratamentos é uma variável aleatória (MONTGOMERY, 2012).

Para Montgomery (2012, pag. 340), podemos descrever observações pelo modelo linear estatístico que pode ser visto logo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \begin{cases} i = 1, 2, 3, \dots, a \\ j = 1, 2, 3, \dots, n \end{cases}$$

Onde:

Y_{ij} = é uma variável aleatória denotando a ij -ésima observação;

μ = é um parâmetro comum a todos os tratamentos, também chamado de média global ou geral;

τ_i = é um parâmetro associado com o i -ésimo tratamento (efeito do i -ésimo tratamento);

ϵ_{ij} = é um componente do erro aleatório que supõem-se normalmente distribuído e com variância constante.

A definição das hipóteses na ANOVA fica da seguinte forma:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n$$

H_1 : Nem todas as médias populacionais são iguais.

A ANOVA de uma via ou fator único analisa a variância entre os grupos comparados, bem como a variância dentro de cada grupo (WITZ, 1990).

A aplicação do teste da Anova com base no método F de Fisher é realizada mediante a seguinte fórmula, $F = SQ_{trat}/SQ_{erro}$, em que SQ_{trat} é igual a dispersão entre os grupos e SQ_{erro} é igual a dispersão dentro dos grupos.

A variação total pode ser dada por: $SQ(\text{total}) = SQ(\text{dentro}) + SQ(\text{entre})$ ou:

$$SQ(\text{total}) = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - x_{\mu})^2$$

Onde:

k = número de amostras (tratamentos)

n_j = número de observações na amostra j

X_{ij} = i -ésima observação da amostra j

X_{μ} = média de todos os valores (grande média)

Uma tabela de análise de variância (ANOVA) separa as somas dos quadrados em diferentes componentes que descrevem a variação devido a diferentes fontes. A soma dos quadrados ajustada para um termo é o aumento na soma dos quadrados da regressão em relação ao modelo apenas com os outros termos. A soma dos erros quadrados é a soma dos quadrados dos resíduos. Ele quantifica a variação nos dados que não é explicada pelos preditores. A soma total dos quadrados é a soma da soma dos quadrados do termo e a soma dos quadrados dos erros. A tabela abaixo, demonstra a saída do software estatístico a ser utilizado na análise dos dados deste estudo.

Figura 1: Tabela ANOVA saída do software estatístico minitab

Análise de Variância					
Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Paint	3	281,7	93,90	6,02	0,004
Erro	20	312,1	15,60		
Total	23	593,8			

Fonte: Site de suporte do minitab, 2023

Os resultados apresentados na Figura 1 são válidos se as hipóteses em relação a componente aleatória ϵ_{ij} sejam verificadas. Esta verificação é realizada por meio dos resíduos do modelo que não devemos rejeitar que possuem distribuição normal; variância constante e que são independentes. Caso rejeitemos a hipótese H_0 então deveremos realizar as comparações múltiplas. Neste trabalho utilizamos o Teste de Anderson-Darling para avaliação da normalidade e o Teste de Cochran para avaliação da variância constante (homocedasticidade) dos resíduos. A independência dos resíduos foi verificada por meio de um gráfico sequencial. As comparações múltiplas foram avaliadas utilizando o método de Fisher da mínima diferença significativa (MDS). Detalhes podem ser encontrados em Montgomery&Runger(2012) e Costa Neto (2002).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e Recursos

Os materiais/recursos utilizados para a coleta dos dados utilizados neste estudo foram:

- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) qualificado e apto a realização de análise no ano de 2021. Equipamento identificado com o TAG: HPFQ-016; Marca: Waters; Modelo: Alliance e2695;
- Software de Cromatografia: Empower 3 versão FR4.
- Software estatísticos: Minitab e Software R.

4.2 Técnica de Análise de Doseamento do Fármaco Citrato de Fentanila (Teor) Utilizada na Obtenção dos Dados do Estudo

A técnica de análise utilizada neste estudo para a obtenção dos resultados de doseamento do fármaco citrato de fentanila está descrita no apêndice A deste trabalho.

4.3 Dados Coletados

Durante o ano de 2021, foram produzidos 167 lotes do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml, envasado com volume de 10 ml, na unidade industrial de Montes Claros-MG. Destes, foram amostrados 11 lotes aleatoriamente e os dados dos mesmos encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 1: Dados de Teor dos Lotes Amostrados

Lotes	Ciclo	Teor (%)
AS-002/21M	1	99,090
AS-002/21M	2	100,070
AS-002/21M	3	100,290
AS-002/21M	4	100,080
AS-018/21M	1	99,788
AS-018/21M	2	98,875
AS-018/21M	3	99,078
AS-018/21M	4	99,770
AS-032/21M	1	100,773
AS-032/21M	2	99,918

Lotes	Ciclo	Teor (%)
AS-032/21M	3	101,055
AS-032/21M	4	99,998
AS-051/21M	1	100,234
AS-051/21M	2	100,198
AS-051/21M	3	100,869
AS-051/21M	4	100,291
AS-070/21M	1	99,863
AS-070/21M	2	100,748
AS-070/21M	3	100,370
AS-070/21M	4	100,255
AS-113/21M	1	100,123
AS-113/21M	2	100,218
AS-113/21M	3	100,078
AS-113/21M	4	99,738
AS-157/21M	1	100,173
AS-157/21M	2	99,718
AS-157/21M	3	100,955
AS-157/21M	4	99,998
AS-186/21M	1	99,673
AS-186/21M	2	99,687
AS-186/21M	3	99,690
AS-186/21M	4	99,564
AS-255/21M	1	100,109
AS-255/21M	2	100,256
AS-255/21M	3	100,318
AS-255/21M	4	100,075
AS-320/21M	1	101,548
AS-320/21M	2	101,483
AS-320/21M	3	101,498
AS-320/21M	4	101,424
AS-339/21M	1	99,806
AS-339/21M	2	99,683
AS-339/21M	3	99,885
AS-339/21M	4	99,873

Fonte: Elaborada pelo Autor

As amostras retiradas dos lotes foram realizadas por ciclo de esterilização do produto. O ponto definido para amostragem foi o ponto de maior temperatura (ponto quente) registrado no processo de qualificação térmica realizado anualmente da autoclave utilizada. Cada lote do produto gerou um total de 4 ciclos de esterilização e conseqüentemente 4 amostras por lote.

4.4 Análise dos Dados

Após a revisão bibliográfica e o levantamento dos dados (amostras), deverá ser iniciada a aplicação da ferramenta definida para análise dos dados. A análise será realizada pelo software estatístico Minitab e as informações da análise deverão possibilitar a conclusão do estudo.

A ferramenta estatística a ser utilizada para a análise dos dados coletados será a ANOVA de um fator. Os requisitos para utilização da ANOVA devem ser satisfeitos, como normalidade e homoscedasticidade dos resíduos e independência e aleatoriedade das amostras. Inicialmente serão definidas as hipóteses nula (H_0) e alternativa (H_1) e após será realizada a Análise de Variância (ANOVA) e em posse do valor do teste F calculado, será avaliada as hipóteses definidas na análise. As informações que resultarão da análise estatística dos dados serão apresentadas em figuras e gráficos. O nível de confiança utilizado nas análises foi de 95%, ou seja, com $\alpha = 0,05$ (nível de significância).

Para a comparação de todos os pares de médias será utilizado o método de Fisher. Esse método é chamado de teste da diferença mínima significativa (*least significant difference (LSD) test*). Este método de Fisher usa a taxa de erro individual e o número de comparações para calcular o nível de confiança simultâneo para todos os intervalos de confiança. Esse nível de confiança simultâneo é a probabilidade de que todos os intervalos de confiança contenham a verdadeira diferença.

Uma análise adicional a ser realizada neste estudo será a avaliação das médias em relação aos ciclos de esterilização realizados em cada lote produzido. Isso visa verificar se há diferença significativa entre os ciclos de esterilização, demonstrando a existência de uma possível interferência durante o processo de esterilização dos lotes, visto que o fator temperatura pode interferir no teor da amostra.

Com as informações originadas da análise de dados a ser realizada, espera-se atingir os objetivos definidos para este estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os dados coletados, foi realizado o lançamento dos mesmos no software de análise estatística Minitab e software R, e iniciou-se pela avaliação da suposição de normalidade e homocedasticidade dos resíduos. Ajustando os dados e calculando os resíduos, conseguimos obter a tabela a seguir:

Tabela 2 : Dados ajustados e resíduos calculados para os lotes amostrados de Citrato de Fentanila – 10 ml – Ano 2021

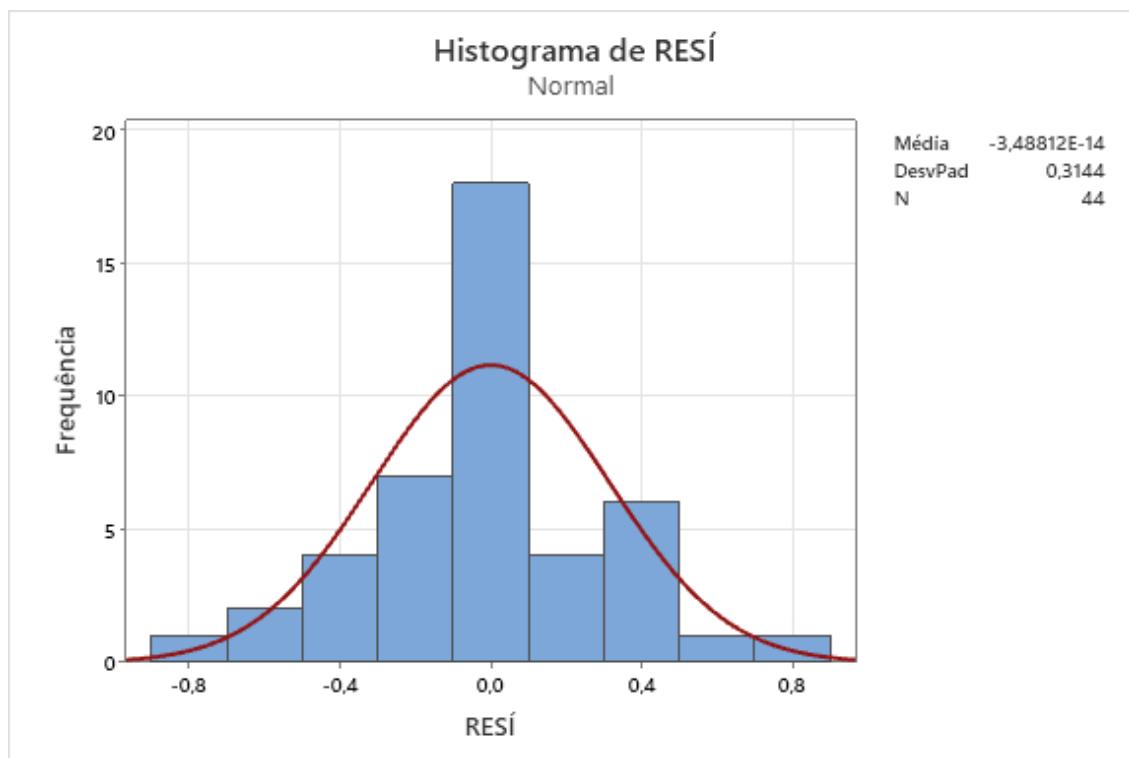
Linha	Lotes	Ciclo	Teor (%)	AJUSTES	Resíduos
1	AS-002/21M	1	99,090	99,883	-0,792500
2	AS-002/21M	2	100,070	99,883	0,187500
3	AS-002/21M	3	100,290	99,883	0,407500
4	AS-002/21M	4	100,080	99,883	0,197500
5	AS-018/21M	1	99,787	99,378	0,410000
6	AS-018/21M	2	98,875	99,378	-0,502500
7	AS-018/21M	3	99,078	99,378	-0,300000
8	AS-018/21M	4	99,770	99,378	0,392500
9	AS-032/21M	1	100,772	100,436	0,336875
10	AS-032/21M	2	99,918	100,436	-0,518125
11	AS-032/21M	3	101,055	100,436	0,619375
12	AS-032/21M	4	99,998	100,436	-0,438125
13	AS-051/21M	1	100,233	100,398	-0,164375
14	AS-051/21M	2	100,198	100,398	-0,199875
15	AS-051/21M	3	100,869	100,398	0,471375
16	AS-051/21M	4	100,291	100,398	-0,107125
17	AS-070/21M	1	99,863	100,309	-0,446250
18	AS-070/21M	2	100,748	100,309	0,438750
19	AS-070/21M	3	100,370	100,309	0,061250
20	AS-070/21M	4	100,255	100,309	-0,053750
21	AS-113/21M	1	100,122	100,039	0,083750
22	AS-113/21M	2	100,218	100,039	0,178750
23	AS-113/21M	3	100,078	100,039	0,038750
24	AS-113/21M	4	99,737	100,039	-0,301250
25	AS-157/21M	1	100,172	100,211	-0,038125
26	AS-157/21M	2	99,718	100,211	-0,493125
27	AS-157/21M	3	100,955	100,211	0,744375
28	AS-157/21M	4	99,998	100,211	-0,213125
29	AS-186/21M	1	99,673	99,653	0,019562
30	AS-186/21M	2	99,687	99,653	0,033312
31	AS-186/21M	3	99,690	99,653	0,036312
32	AS-186/21M	4	99,564	99,653	-0,089188

Linha	Lotes	Ciclo	Teor (%)	AJUSTES	Resíduos
33	AS-255/21M	1	100,109	100,189	-0,080438
34	AS-255/21M	2	100,256	100,189	0,066812
35	AS-255/21M	3	100,318	100,189	0,128562
36	AS-255/21M	4	100,075	100,189	-0,114938
37	AS-320/21M	1	101,548	101,488	0,059875
38	AS-320/21M	2	101,483	101,488	-0,005625
39	AS-320/21M	3	101,498	101,488	0,009875
40	AS-320/21M	4	101,424	101,488	-0,064125
41	AS-339/21M	1	99,806	99,811	-0,005625
42	AS-339/21M	2	99,683	99,811	-0,128625
43	AS-339/21M	3	99,885	99,811	0,073125
44	AS-339/21M	4	99,873	99,811	0,061125

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabelado os dados com os seus respectivos resíduos, foi realizada a análise gráfica dos mesmos. A primeira ferramenta gráfica utilizada para esta análise foi o histograma, que pode ser visto na figura 6 a seguir:

Figura 2: Histograma dos resíduos dos lotes amostrados de Citrato de Fentanila – 10 ml – Ano 2021

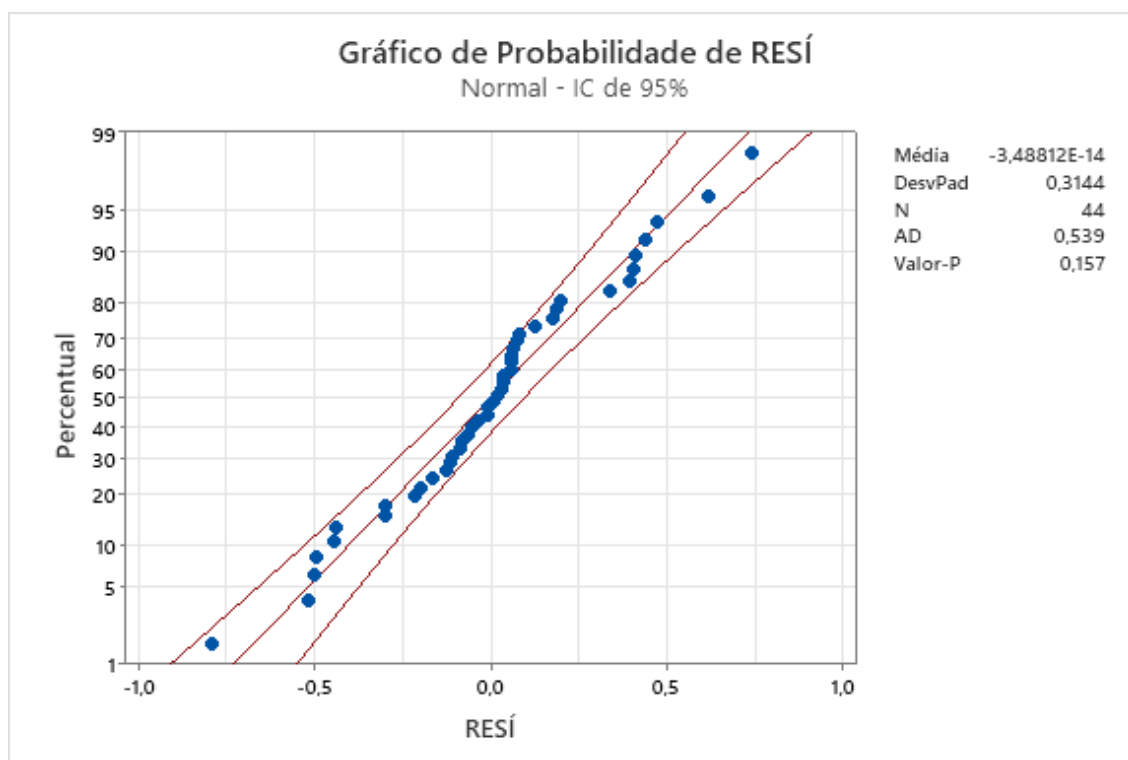


Fonte: Elaborado pelo Autor

Conforme pode ser visto no histograma dos resíduos dos dados apresentados na figura

6, podemos verificar, um suposto, ajuste a curva normal, nos indicando que a suposição de normalidade dos resíduos dos dados em análise é verdadeira. Para uma melhor tomada de decisão, foi elaborado o gráfico de probabilidade dos resíduos. Este gráfico nos informa o valor-p para compararmos com o nível de significância e verificarmos se os mesmos seguem uma distribuição normal. O gráfico de probabilidade dos resíduos dos dados encontra-se na figura 7 a seguir:

Figura 3: Gráfico de Probabilidade Normal dos Resíduos



Fonte: Elaborado pelo Autor

Analisando o gráfico de probabilidade na figura 7 acima, é possível ver um ajuste a distribuição normal dos resíduos dos dados de teor dos lotes amostrados de Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – 10 ml produzidos no ano de 2021 da indústria em questão. O valor-p encontrado de 0,157 é maior que o nível de significância adotado que é de 0,05, indicando que não podemos rejeitar que os resíduos dos dados seguem uma distribuição normal ao nível de significância 5%. Para verificar a homocedasticidade dos resíduos foi utilizado o software R, mas precisamente o pacote “outliers” e especificamente o teste de Cochran. A Figura 8 ilustra o resultado obtido com o software R e podemos observar um p-valor igual a 0.5581 indicando que rejeitamos a hipótese de variância constante dos resíduos ao nível de confiança 95%.

Figura 4: Teste de Cochran utilizando o software R

```

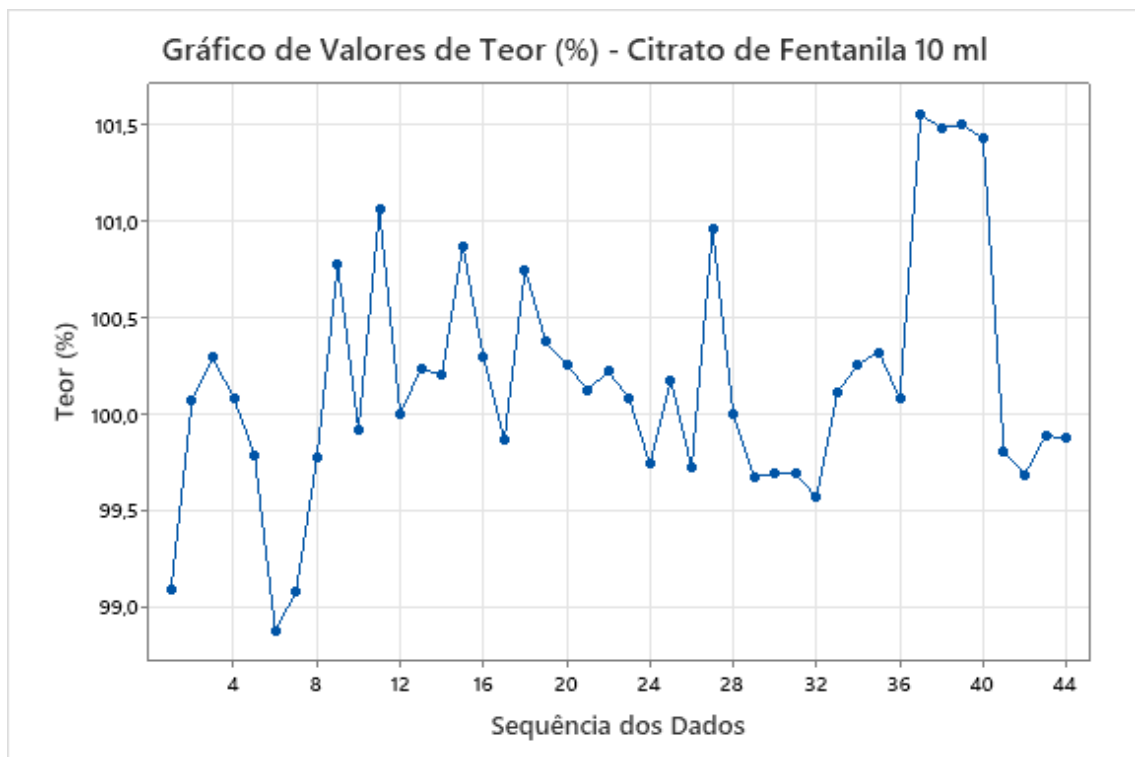
> library(readxl)
> teor <- read_excel("teor_oficial_11lotes_.xlsx")
> teor<-data.frame(teor=teor$`Teor (%)`,lote=teor$Lotes)
> test_Cochran<-cochran.test(teor~lote,teor)
> test_Cochran

      Cochran test for outlying variance

data:  teor ~ lote
C = 0.22532, df = 4, k = 11, p-value = 0.5581
alternative hypothesis: Group AS-032/21M has outlying variance
sample estimates:
 AS-002/21M  AS-018/21M  AS-032/21M  AS-051/21M  AS-070/21M  AS-113/21M  AS-157/21M
0.289425000 0.221554167 0.319172396 0.100213104 0.132760417 0.043739583 0.281380729
 AS-186/21M  AS-255/21M  AS-320/21M  AS-339/21M
0.003588474 0.013557682 0.002608729 0.008553188

```

Figura 5: Gráficos dos dados de Teor em sequência de análise



Fonte: Elaborado pelo Autor

A verificação de independência dos dados analisados, pode ser vista na figura 9, onde os dados se comportam de forma aleatória. As observações na sequência amostrada não indicam uma tendência dos resultados coletados.

Satisfeitas as premissas de independência dos dados, normalidade e homoscedasticidade dos resíduos dos dados, partimos para a formulação das hipóteses a serem analisadas. As hipóteses nula (H_0) e alternativa (H_1) para o teste da ANOVA formuladas são:

$$H_0 = \text{todas as médias de Teor dos lotes são iguais}$$

$$H_1 = \text{pelo menos uma média de Teor de um lote difere significativamente das demais}$$

Após a formulação das hipóteses a serem analisadas, foi realizada a elaboração da tabela ANOVA com uso do software Minitab e obtivemos as seguintes informações disponíveis:

Figura 6: Informações do fator analisado na ANOVA

Informações dos Fatores

Fator	Níveis	Valores
Lotes	11	AS-002/21M; AS-018/21M; AS-032/21M; AS-051/21M; AS-070/21M; AS-113/21M; AS-157/21M; AS-186/21M; AS-255/21M; AS-320/21M; AS-339/21M

Fonte: Elaborada pelo Autor

Figura 7: Tabela da Análise de Variância (ANOVA) – Teor versus Lotes

Análise de Variância

Fonte	GL	SQ (Aj.)	QM (Aj.)	Valor F	Valor-P
Lotes	10	12,019	1,2019	9,33	0,000
Erro	33	4,250	0,1288		
Total	43	16,269			

Fonte: Elaborada pelo Autor

Após análises das informações geradas na análise de variância (ANOVA) é possível verificar que o valor-p encontrado foi 0,000 e o valor F de 9,33, indicando que existe evidências para a rejeição da hipótese nula (H_0) com nível de significância de 0,05. Esta hipótese indica

que há evidências de que existe diferença significativa de pelo menos uma média de algum lote de teor do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml.

Aplicando o método de Fisher (LSD) por meio do software Minitab é possível ver o agrupamento das médias dos lotes analisados. O resultado do teste de Fisher para os dados analisados encontra-se na figura 12 a seguir:

Figura 8: Agrupamento usando o método LSD de Fisher

Informações de Agrupamento Usando o Método LSD de Fisher e 95% de Confiança

Lotes	N	Média	Agrupamento
AS-320/21M	4	101,488	A
AS-032/21M	4	100,436	B
AS-051/21M	4	100,398	B C
AS-070/21M	4	100,309	B C D
AS-157/21M	4	100,211	B C D
AS-255/21M	4	100,189	B C D
AS-113/21M	4	100,039	B C D E
AS-002/21M	4	99,883	C D E F
AS-339/21M	4	99,8114	D E F
AS-186/21M	4	99,6534	E F
AS-018/21M	4	99,377	F

Médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.

Fonte: Elaborada pelo Autor

Para garantir a correta identificação dos intervalos de confiança individuais para verificar as diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos grupos encontrados e para determinar as, prováveis, faixas para as diferenças que são significativas, foi criada a tabela de testes individuais de Fisher que exhibe um conjunto de intervalos de confiança para a diferença entre as médias dos grupos. A figura 13 a seguir ilustra a tabela criada no minitab no teste realizado.

Figura 9: Tabela dos Testes Individuais de Fisher para Diferenças de Médias

Testes Individuais de Fisher para Diferenças de Médias

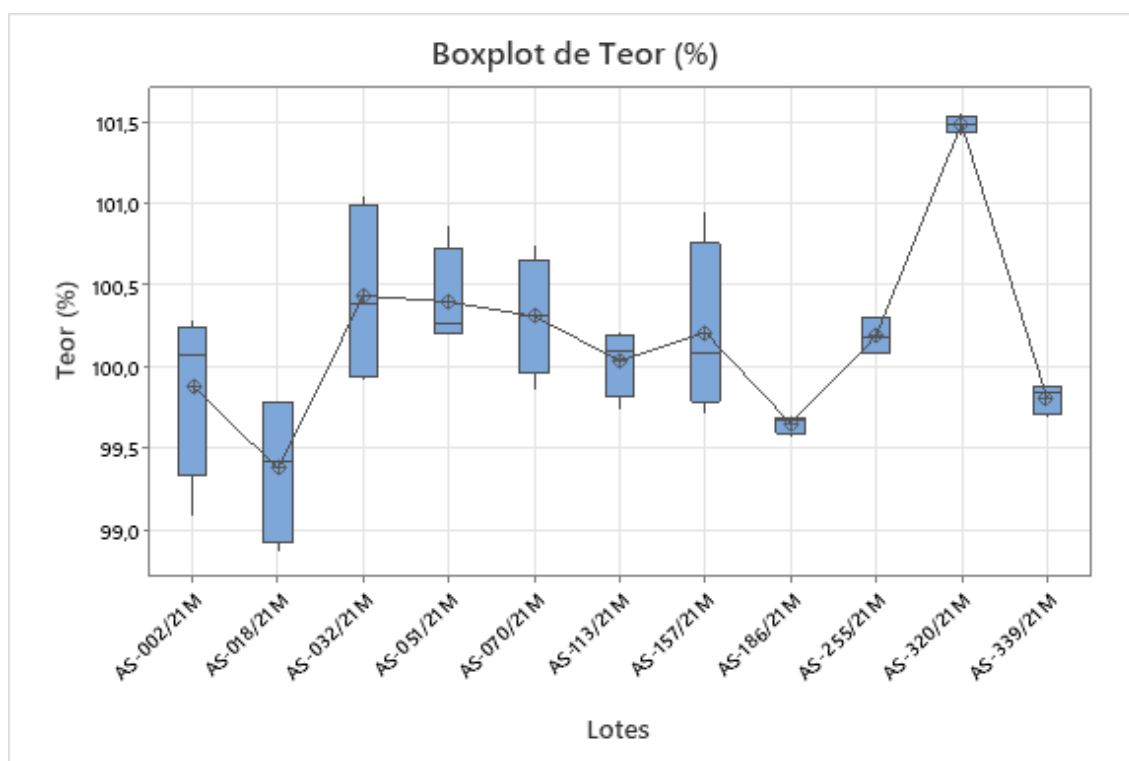
Diferença de Níveis	Diferença de Médias	EP da Diferença	IC de 95%	Valor-T	Valor-P Ajustado
AS-018/21M - AS-002/21M	-0,505	0,254	(-1,021; 0,011)	-1,99	0,055
AS-032/21M - AS-002/21M	0,553	0,254	(0,037; 1,069)	2,18	0,037
AS-051/21M - AS-002/21M	0,515	0,254	(-0,001; 1,032)	2,03	0,050
AS-070/21M - AS-002/21M	0,426	0,254	(-0,090; 0,943)	1,68	0,102
AS-113/21M - AS-002/21M	0,156	0,254	(-0,360; 0,673)	0,62	0,542
AS-157/21M - AS-002/21M	0,328	0,254	(-0,188; 0,844)	1,29	0,205
AS-186/21M - AS-002/21M	-0,229	0,254	(-0,745; 0,287)	-0,90	0,373
AS-255/21M - AS-002/21M	0,307	0,254	(-0,209; 0,823)	1,21	0,235
AS-320/21M - AS-002/21M	1,606	0,254	(1,090; 2,122)	6,33	0,000
AS-339/21M - AS-002/21M	-0,071	0,254	(-0,587; 0,445)	-0,28	0,781
AS-032/21M - AS-018/21M	1,058	0,254	(0,542; 1,574)	4,17	0,000
AS-051/21M - AS-018/21M	1,020	0,254	(0,504; 1,537)	4,02	0,000
AS-070/21M - AS-018/21M	0,931	0,254	(0,415; 1,448)	3,67	0,001
AS-113/21M - AS-018/21M	0,661	0,254	(0,145; 1,178)	2,61	0,014
AS-157/21M - AS-018/21M	0,833	0,254	(0,317; 1,349)	3,28	0,002
AS-186/21M - AS-018/21M	0,276	0,254	(-0,240; 0,792)	1,09	0,285
AS-255/21M - AS-018/21M	0,812	0,254	(0,296; 1,328)	3,20	0,003
AS-320/21M - AS-018/21M	2,111	0,254	(1,595; 2,627)	8,32	0,000
AS-339/21M - AS-018/21M	0,434	0,254	(-0,082; 0,950)	1,71	0,097
AS-051/21M - AS-032/21M	-0,038	0,254	(-0,554; 0,479)	-0,15	0,883
AS-070/21M - AS-032/21M	-0,127	0,254	(-0,643; 0,389)	-0,50	0,620
AS-113/21M - AS-032/21M	-0,397	0,254	(-0,913; 0,119)	-1,56	0,127
AS-157/21M - AS-032/21M	-0,225	0,254	(-0,741; 0,291)	-0,89	0,382
AS-186/21M - AS-032/21M	-0,782	0,254	(-1,298; -0,266)	-3,08	0,004
AS-255/21M - AS-032/21M	-0,246	0,254	(-0,762; 0,270)	-0,97	0,339
AS-320/21M - AS-032/21M	1,053	0,254	(0,536; 1,569)	4,15	0,000
AS-339/21M - AS-032/21M	-0,624	0,254	(-1,141; -0,108)	-2,46	0,019
AS-070/21M - AS-051/21M	-0,089	0,254	(-0,605; 0,427)	-0,35	0,728
AS-113/21M - AS-051/21M	-0,359	0,254	(-0,875; 0,157)	-1,42	0,166
AS-157/21M - AS-051/21M	-0,187	0,254	(-0,704; 0,329)	-0,74	0,466
AS-186/21M - AS-051/21M	-0,744	0,254	(-1,261; -0,228)	-2,93	0,006
AS-255/21M - AS-051/21M	-0,208	0,254	(-0,725; 0,308)	-0,82	0,417
AS-320/21M - AS-051/21M	1,090	0,254	(0,574; 1,607)	4,30	0,000
AS-339/21M - AS-051/21M	-0,587	0,254	(-1,103; -0,070)	-2,31	0,027
AS-113/21M - AS-070/21M	-0,270	0,254	(-0,786; 0,246)	-1,06	0,295
AS-157/21M - AS-070/21M	-0,098	0,254	(-0,614; 0,418)	-0,39	0,701
AS-186/21M - AS-070/21M	-0,655	0,254	(-1,172; -0,139)	-2,58	0,014
AS-255/21M - AS-070/21M	-0,119	0,254	(-0,636; 0,397)	-0,47	0,641
AS-320/21M - AS-070/21M	1,180	0,254	(0,663; 1,696)	4,65	0,000
AS-339/21M - AS-070/21M	-0,497	0,254	(-1,014; 0,019)	-1,96	0,058
AS-157/21M - AS-113/21M	0,172	0,254	(-0,344; 0,688)	0,68	0,503
AS-186/21M - AS-113/21M	-0,385	0,254	(-0,902; 0,131)	-1,52	0,138
AS-255/21M - AS-113/21M	0,151	0,254	(-0,366; 0,667)	0,59	0,557
AS-320/21M - AS-113/21M	1,450	0,254	(0,933; 1,966)	5,71	0,000
AS-339/21M - AS-113/21M	-0,227	0,254	(-0,744; 0,289)	-0,90	0,377
AS-186/21M - AS-157/21M	-0,557	0,254	(-1,073; -0,041)	-2,20	0,035
AS-255/21M - AS-157/21M	-0,021	0,254	(-0,537; 0,495)	-0,08	0,934
AS-320/21M - AS-157/21M	1,278	0,254	(0,761; 1,794)	5,04	0,000
AS-339/21M - AS-157/21M	-0,399	0,254	(-0,916; 0,117)	-1,57	0,125
AS-255/21M - AS-186/21M	0,536	0,254	(0,020; 1,052)	2,11	0,042
AS-320/21M - AS-186/21M	1,835	0,254	(1,319; 2,351)	7,23	0,000
AS-339/21M - AS-186/21M	0,158	0,254	(-0,358; 0,674)	0,62	0,538
AS-320/21M - AS-255/21M	1,299	0,254	(0,783; 1,815)	5,12	0,000
AS-339/21M - AS-255/21M	-0,378	0,254	(-0,894; 0,138)	-1,49	0,146
AS-339/21M - AS-320/21M	-1,677	0,254	(-2,193; -1,161)	-6,61	0,000

Nível de confiança simultâneo = 37,21%

Fonte: Elaborada pelo Autor

Com base nos resultados do teste usando o método LSD de Fisher com intervalo de 95% de confiança e analisando a figura 13, podemos verificar que o lote AS-320/21M é o único lote presente em seu respectivo grupo (A), indicando que ele difere significativamente dos demais lotes que compartilham os outros grupos.

Figura 10: Gráfico Boxplot do Teor por lote do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml

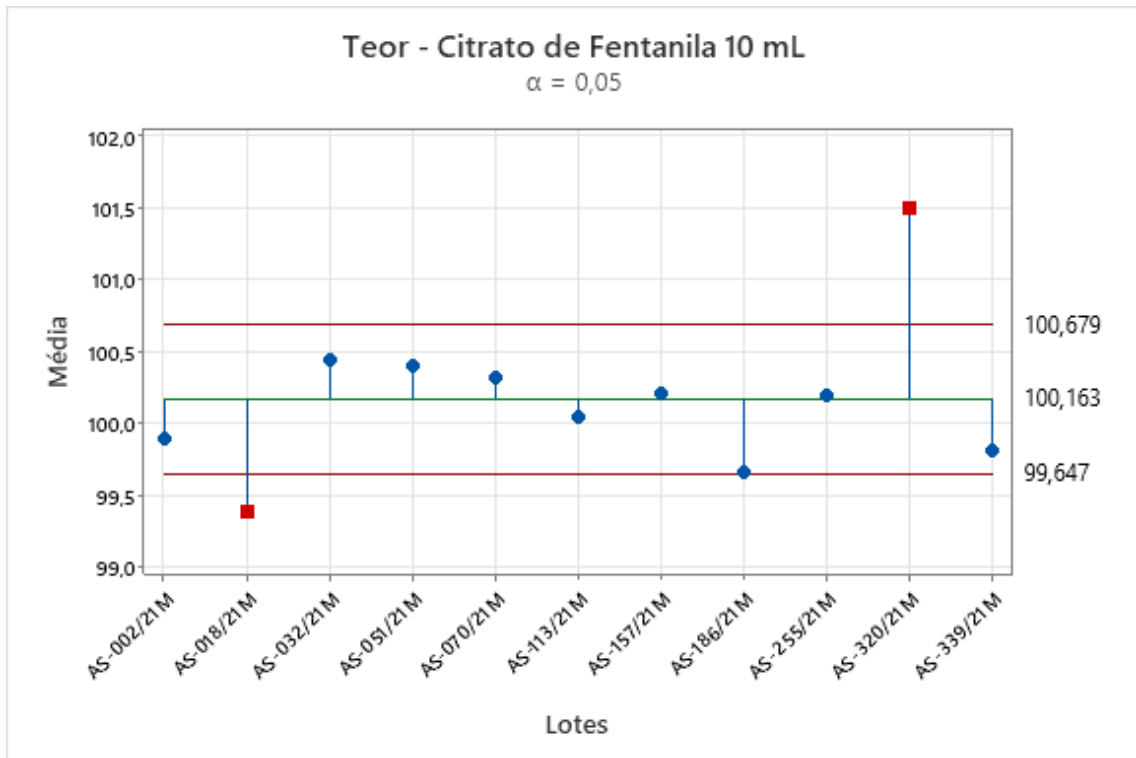


Fonte: Elaborada pelo Autor

No gráfico boxplot da figura 14 fica destacada a discrepância da média do lote AS-320/21M em comparação com as médias dos demais lotes, confirmando o resultado do teste LSD de Fisher.

Para última verificação das médias que diferem das médias gerais (também conhecida como média global), foi elaborado o gráfico ANOM. O mesmo pode ser visto na Figura 15, abaixo. Este gráfico confirma o que já foi verificado anteriormente, que a média do lote AS-320/21M diferem da média geral e acusa que o lote AS-018/21M também tem sua média divergente da média global.

Figura 11: Gráfico ANOM das médias de Teor dos lotes



Fonte: Elaborado pelo Autor

Após a análise de todas as informações geradas neste tópico, podemos elaborar uma conclusão do estudo e esta conclusão encontra-se no tópico a seguir.

6 CONCLUSÃO

Com base nas informações geradas durante a análise dos dados de teor dos 11 lotes amostrados do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml, produzidos no ano de 2021, na indústria farmacêutica de Montes Claros-MG, foi possível verificar que nem todas as médias dos lotes são iguais de acordo com a análise de variância realizada. Há evidências para rejeitar a hipótese nula (H_0) com uma significância de 5%, pois o valor-p é menor que 0,05 (valor encontrado: 0,000).

Após a análise com o método de Fisher (LSD) e o gráfico ANOM conseguimos identificar os lotes que tiveram as médias divergentes das demais com nível de confiança de 95%. Os lotes identificados (AS-018/21M e AS-320/21M) não são considerados como lotes fora da conformidade no processo de produção, visto que o teor encontrado em todos os ciclos amostrados, estão dentro das especificações da análise técnica utilizada e conforme as monografias adotadas de referência pela indústria farmacêutica em questão. Visando a melhoria contínua do processo, seria de grande valia a análise do processo de fabricação destes lotes, visando encontrar as possíveis causas que possam ter geradas as divergências das médias de teor de citrato de fentanila dos lotes.

Neste contexto, podemos concluir que mais estudos podem ser feitos sobre o teor dos demais excipientes do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml - volume 10 ml, principalmente nos lotes que apresentaram divergência das médias de teor do princípio ativo.

Diante da evidência de que médias de dois lotes divergiram das demais, para uma melhor análise em relação ao teor do princípio ativo citrato de fentanila no produto em questão, é aconselhável um estudo de capacidade e performance do processo de produção, avaliando o teor do princípio ativo de todos os lotes produzidos no ano 2021 do produto Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml – volume 10 ml. Este estudo demonstraria, com todos os dados de teor dos lotes produzidos, se o processo de produção atender aos limites estabelecidos, tanto pela farmacopeia brasileira 6ª edição e demais monografias (90 a 110%), quanto pelos adotados pela empresa no controle de qualidade (95 a 105%), sendo estes um pouco mais restritos.

REFERÊNCIAS

AULTON, MICHAEL E. Aulton delineamento de formas farmacêuticas / Michael E. Aulton, Kevin M. G. Taylor; [tradução Francisco Sandro Menezes]. - 4 ed. – Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 658, de 30 de março de 2022, dispõe sobre Boas Práticas de fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de março de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – IN n° 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, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de março de 2022.

Costa Neto, Pedro Luiz de Oliveira. Estatística. 2º edição. Editora Edgard Blucher Ltda. 2002.

MASSONE, F. Anestesiologia Veterinária: farmacologia e técnicas. 5. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008.

MINITAB®, Suporte ao Minitab® 20, 2023. Disponível em: <https://support.minitab.com/pt-br/minitab/20/help-and-how-to/statistical-modeling/anova/how-to/one-way-anova/interpret-the-results/all-statistics-and-graphs/analysis-of-variance-table/#:~:text=Na%20tabela%20de%20an%C3%A1lise%20de, varia%C3%A7%C3%A3o%20devida%20a%20v%C3%A1rias%20fontes.&text=A%20soma%20dos%20quadrados%20ajustada%20para%20um%20termo%20%C3%A9%20o,com%20apenas%20os%20outros%20termos>. Acesso em: 20/03/2023.

MONTGOMERY, DOUGLAS C. & RUNGER, GEORGE C. Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros. 5ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

WITZ, K. Applied statistics for behavioral sciences. Journal of Educational Statistics, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 84-87, 1990.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TÉCNICA DE ANÁLISE DE DOSEAMENTO DO FÁRMACO CITRATO DE FENTANILA (TEOR) UTILIZADA NA OBTENÇÃO DOS DADOS DO ESTUDO

CITRATO DE FENTANILA (C₂₂H₂₈N₂O. C₆H₈O₇)

Forma farmacêutica: SOLUÇÃO INJETÁVEL

Composição: contém 0,05 mg de FENTANILA / ml

Embalagem Primária: Ampolas de vidro âmbar de 2 ml, 5 ml e 10 ml.

Ampolas de vidro incolor de 5ml e 10ml.

Cuidados de conservação: Manter em temperatura ambiente (15° a 30°C). Proteger da luz.

Prazo de Validade: 24 MESES a partir da data de fabricação impressa na embalagem (vidro âmbar)

12 MESES a partir da data de fabricação impressa na embalagem (vidro incolor).

Doseamento: MÉTODO: CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Especificação: mínimo 90,0 % e no máximo 110,0 % do valor rotulado ou contém no mínimo 0,045 mg / ml e no máximo 0,055 mg / ml de Fentanila.

Padrões

Citrato de fentanila: CAS 990-73-8

Preparo das soluções

Nota1: A solução padrão foi estável por um período de 96 horas.

Nota2: As amostras foram estáveis por um período de 24 horas.

Nota3: As soluções amostradas devem ser injetadas diretamente, sem diluição prévia, apenas filtrar as soluções utilizando

filtro PTFE hidrofílico 0,45 µm

Nota4: Volumes diferentes das soluções podem ser preparados, desde que a proporção entre os componentes seja mantida.

Solução Ácido Perclórico 0,23%(P/V):

Pipetar 1,3 ml de ácido perclórico e transferir para balão volumétrico de 1000 ml, com auxílio de 380 ml de água osmotizada, medidos em proveta. Complete o volume com água osmotizada e homogeneize.

Fase móvel:

Transferir para béquer de 1000 ml, 550 ml da solução de ácido perclórico 0,23% p/v, medidos em proveta. Adicionar 450 ml de acetonitrila e homogeneizar.

Filtrar a fase móvel em membrana PVDF 0,45 µm. Desgaseifique a solução durante 15 minutos em ultrassom.

Notas: O volume final da solução poderá ser ajustado de acordo com a necessidade, desde que a proporção dos componentes seja mantida.

Preparação padrão (Conc. 0,05 mg/ml de Fentanila)

Preparar em duplicata.

Pesar analiticamente, cerca de 39,3 mg do padrão de citrato de fentanila (equivalente a 25,0 mg de Fentanila) e transferir para balão volumétrico de 100,0 ml com auxílio de 70 ml de água osmotizada medidos em proveta. Solubilizar em banho de ultrassom por 10 minutos ou até completa solubilização. Completar o volume com água osmotizada e homogeneizar.

Pipetar 20,0 ml desta solução para balão volumétrico de 100 ml. Completar o volume com água osmotizada. Homogeneizar. Filtrar a solução anterior utilizando filtro PTFE hidrofílica 0,45 µm acoplado a seringa.

Solução Amostra (Conc. 50 µg/ml) - Ampola

Preparar em duplicata.

Transferir o conteúdo de 20 ampolas para um béquer de volume adequado e homogeneizar. Filtrar a solução com filtro de membrana PTFE hidrofílica 0,45 µm acoplado à seringa, descartando os primeiros 2 ml do filtrado, e transferir para o vial.

Solução Amostra (Conc. 50 µg/ml) – Frasco Ampola

Preparar em duplicata.

Transferir o conteúdo de 20 frascos ampolas para um béquer de volume adequado e homogeneizar.

Filtrar a solução com filtro de membrana PTFE hidrofílica 0,45 µm acoplado à seringa, descartando os primeiros 2 ml do filtrado, e transferir para o vial.

Figura 12: Condições cromatográficas do método analítico

Parâmetro	Especificação
Coluna cromatográfica	C8, Betasil (250 mm x 4,6mm - 5 μ m)
Eluição	Isocrático Solução Ácido Perclórico 0,23% : Acetonitrila (55:45)
Fluxo	2,0 mL/minuto
Volume de injeção	100 μ L
Temperatura da coluna	25°C
Temperatura da amostra	ambiente
Comprimento de onda de detecção	206 nm
Concentração de trabalho	50 μ g/mL
Tempo de retenção (aproximado)	\pm 4,0 minutos para Citrato de Fentanila
Tempo de corrida	10 minutos

Fonte: Técnica de Análise do Produto Acabado – Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml, Industria Farmacêutica, 2020

Nota6: A temperatura da coluna deve ser cuidadosamente controlada visto que o método não foi robusto para o aumento da temperatura da coluna.

Adequação do sistema:

Figura 13: Parâmetros de adequabilidade do sistema

Parâmetro	Especificação
DPR (área)	\leq 2,0%
Pratos teóricos	\geq 1000
Assimetria	\leq 2,5
Recuperação	98,0% a 102,0% (variação \leq 2,0%)

Fonte: Técnica de Análise do Produto Acabado – Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml, Industria Farmacêutica, 2020

Procedimentos

- Seguir as condições cromatográficas descritas anteriormente.
- Estabilizar o sistema e a coluna cromatográfica durante 60 minutos em fluxo de 2,0 ml/min com a própria fase móvel.
- Injetar em unicata, quando aplicável, o diluente (utilizado no preparo do padrão).
- Injetar a solução padrão 1 em quintuplicata e avaliar os parâmetros de adequabilidade do sistema, conforme especificação.
- Preparar uma nova solução padrão 1 (padrão de confirmação) e injetar em duplicata. Determinar a média e o desvio padrão relativo (DPR%) da área do pico do analito.
- Calcular a porcentagem de recuperação conforme fórmula:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(A_{pd1} \times M_{pd2})}{(A_{pd2} \times M_{pd1})} \times 100$$

Onde:

A_{pd1} : média das áreas dos picos do analito obtidos nos cromatogramas da primeira preparação da solução padrão;

A_{pd2} : média das áreas dos picos do analito obtidos nos cromatogramas da segunda preparação da solução padrão (padrão de confirmação);

M_{pd1} : massa pesada do analito para a primeira preparação da solução padrão (mg);

M_{pd2} : massa pesada do analito para a segunda preparação da solução padrão (mg) (padrão de confirmação);

- Injetar a amostra em duplicata.
- Anotar os valores obtidos no registro de análise.
- Calcular o teor do analito na amostra aplicando a fórmula:

$$\text{Teor} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{A_u \times C \times 336,47}{A_s \times 528,59}$$

$$\text{Teor (\%)} = \frac{\text{Teor} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) \times 100}{0,05}$$

Onde:

A_u : área do pico de resposta obtido com a preparação amostra

A_s : área do pico de resposta obtido com a preparação padrão

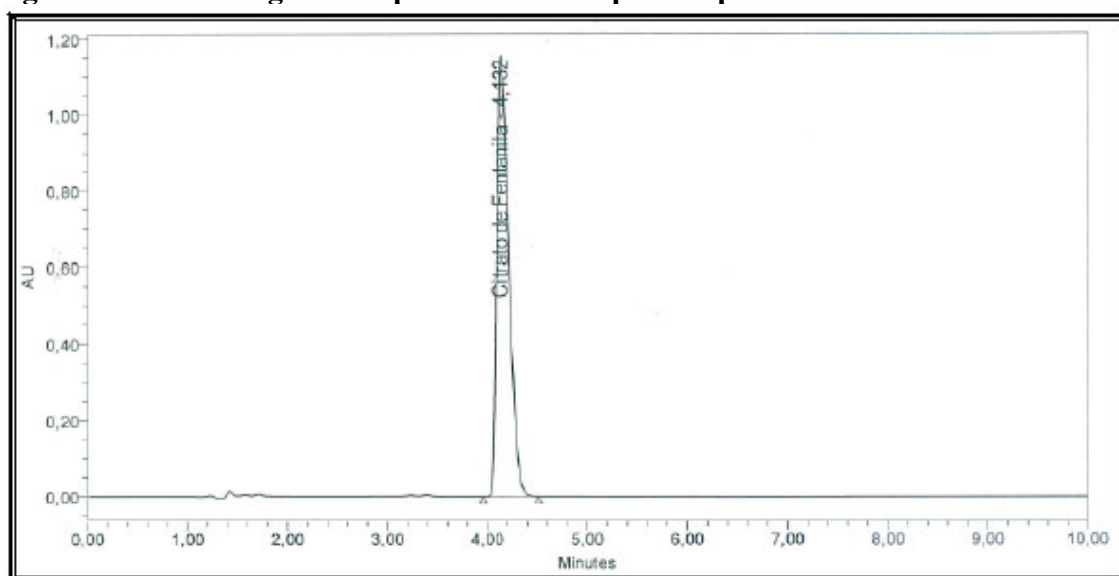
C : concentração de citrato de fentanila da preparação padrão (mg/ml)

336,47: peso molecular Fentanila

528,59: peso molecular Citrato de Fentanila

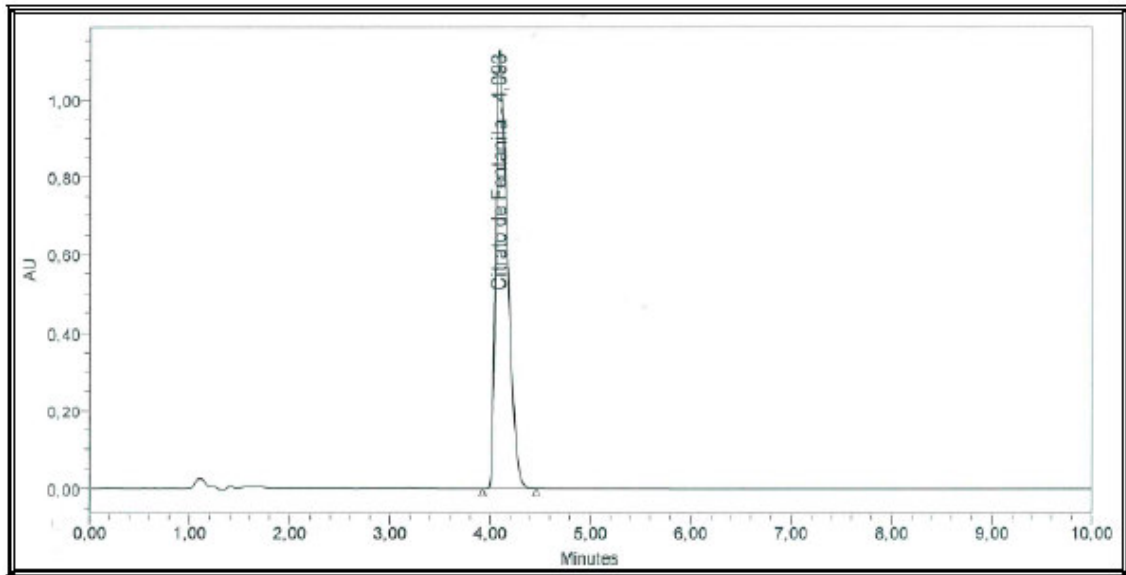
0,05: valor rotulado de fentanila na amostra (mg/ml)

Figura 14: Cromatograma representativo do padrão primário de citrato de fentanila



Fonte: Técnica de Análise do Produto Acabado – Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml, Industria Farmacêutica, 2020

Figura 15: Cromatograma representativo da amostra de citrato de fentanila injetável



Fonte: Técnica de Análise do Produto Acabado – Citrato de Fentanila 0,05 mg/ml, Industria Farmacêutica, 2020