



UNIVERSIDADE
FERNANDO
PESSOA

USO DA *QUALITY-BY-DESIGN* NO DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS

[Use of *quality-by-design* in the development of lipid-based nanosystem formulations]

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Ricardo Lopes Guerra

Orientadora:

Professora Doutora Ana Catarina da Cruz Rodrigues da Silva

Janeiro 2025

**USO DA *QUALITY-BY-DESIGN* NO DESENVOLVIMENTO DE
FORMULAÇÕES DE NANOSSISTEMAS LIPÍDICOS**

[Use of *quality-by-design* in the development of lipid-based nanosystem formulations]

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Ricardo Lopes Guerra

Orientadora:

Professora Doutora Ana Catarina da Cruz Rodrigues da Silva

Janeiro 2025

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, à Professora Doutora Ana Catarina da Cruz Rodrigues da Silva, orientadora deste projeto, pela sua sabedoria, disponibilidade e confiança. A sua orientação foi essencial para que pudesse dar o melhor de mim e escrever esta dissertação da melhor forma possível.

Aos professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Fernando Pessoa, deixo o meu reconhecimento e gratidão por transmitirem conhecimento de forma tão inspiradora e por contribuírem significativamente para a minha formação académica e profissional.

Não posso deixar de agradecer aos meus colegas e amigos, pelos momentos partilhados e pela troca de ideias enriquecedoras ao longo destes cinco anos de curso, tornando esta jornada ainda mais especial.

Deixo um agradecimento especialmente dedicado à minha namorada, Débora Sousa, por tudo o que fez por mim. Para além de todo o conhecimento que adquiri, este curso deu-me uma prenda muito especial, que foi ter o prazer de a conhecer e a possibilidade de passar a partilhar a minha vida com ela. Assim como poderemos partilhar todas as minhas conquistas e derrotas. Não há ninguém com quem queira mais festejar a conclusão desta etapa, na qual teve um enorme impacto, e o início de todas as outras que estarão para vir.

Por fim, um agradecimento profundo aos meus pais, Paulo Santos e Ana Cristina, cujo amor incondicional e apoio inabalável foram fundamentais para que eu pudesse alcançar este e tantos outros momentos importantes na minha vida. São e sempre serão quem me motiva para querer fazer melhor dia após dia. Sei o quanto lutaram e lutam diariamente para me proporcionarem as condições necessárias para realizar os meus objetivos e por isso serei sempre imensamente grato.

Resumo

A aplicação da abordagem da qualidade pelo *design* (*quality-by-design* - QbD) no desenvolvimento farmacêutico tem sido solicitada pelas autoridades reguladoras (*Food and Drug Administration* – FDA e *European Medicines Agency* – EMA), devido à possibilidade de simplificação e redução dos custos dos processos de fabrico. Na QbD, os objetivos de cada processo são definidos inicialmente, o que facilita o controlo e análise dos seus riscos, permitindo a obtenção de produtos seguros e de elevada qualidade. Nas últimas décadas, as investigações na área dos nanossistemas lipídicos, designadamente das nanopartículas de lípidos sólidos (SLN), dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) e das nanoemulsões (NE) permitiram o desenvolvimento de novas formulações. Muitos investigadores têm aplicado a QbD na otimização dessas formulações, através da análise dos fatores que interferem com a composição e/ou com os métodos de fabrico, que são críticos para os diferentes parâmetros que caracterizam os nanossistemas. Na primeira parte deste trabalho de revisão, apresentam-se os diferentes conceitos da QbD aplicados ao desenvolvimento de formulações baseadas em nanossistemas lipídicos, bem como as suas características e requisitos gerais. De seguida, são apresentados exemplos de estudos publicados nos últimos anos nesta área. Os resultados obtidos a partir da análise desses estudos demonstram que a aplicação da QbD no desenvolvimento de formulações de nanossistemas lipídicos permitiu obter um maior controlo sobre os atributos críticos da qualidade (CQA) e os parâmetros críticos do processo (CPP). Este controlo resultou na obtenção de formulações com tamanhos de partícula reduzidos e uniformes, elevada eficácia de encapsulação (EE) e boa estabilidade. Foram também identificadas melhorias significativas na reprodutibilidade e na capacidade de otimizar os métodos de fabrico, contribuindo para a redução de custos e aumento da qualidade final dos produtos desenvolvidos. Com base nos estudos analisados, é evidente que o uso da QbD no desenvolvimento de formulações de nanossistemas lipídicos é uma estratégia promissora para enfrentar os desafios atuais da indústria farmacêutica. Esta abordagem facilita a identificação e minimização dos riscos associados à produção, além de permitir a adaptação eficiente às exigências regulatórias.

Palavras-chaves: *Quality-by-design*; Nanossistemas lipídicos; Desenvolvimento farmacêutico.

Abstract

The use of the quality-by-design (QbD) approach in pharmaceutical development has been requested by regulatory authorities (Food and Drug Administration – FDA and European Medicines Agency – EMA) due to its potential to simplify and reduce manufacturing costs. In QbD, the objectives of each process are defined from the beginning, facilitating risk control and analysis and enabling the production of safe and high-quality pharmaceutical products. Over the past decades, research in the field of lipid-based nanocarriers, namely solid lipid nanoparticles (SLN), nanostructured lipid carriers (NLC), and nanoemulsions (NE), has driven the development of new formulations. Many researchers have applied the QbD principles to optimize these formulations by analyzing factors that influence composition and/or manufacturing methods, which are critical to the various parameters characterizing nanocarriers. The first part of this review work presents the different QbD concepts applied to the development of formulations based on lipid nanosystems, as well as their characteristics and general requirements. Subsequently, are presented examples from studies published in recent years in this field. The results obtained from the bibliographic analysis demonstrated that the application of QbD in lipid nanosystem formulations enabled greater control over critical quality attributes (CQA) and critical process parameters (CPP). This control resulted in the production of formulations with reduced particle sizes, high encapsulation efficiency, and good stability. Significant improvements were also identified in reproducibility and the ability to optimize manufacturing methods, contributing to cost reduction and an overall increase in the quality of the final developed products. Based on the results of these studies, it is evident that the application of the QbD in the development of lipid nanosystem formulations is a promising strategy to address the current challenges of the pharmaceutical industry. This approach facilitates the identification and minimization of risks associated with production while enabling efficient adaptation to regulatory requirements.

Keywords: Quality-by-design; Lipid Nanosystems; Pharmaceutical Development.

Índice geral

Resumo	ix
Abstract	xi
Índice de figuras.....	xv
Índice de gráficos.....	xvii
Índice de tabelas.....	xix
1. Introdução	1
1.1 Motivação	3
1.2 Objetivos	3
1.3 Metodologia	4
2. Ferramentas da quality-by-design	5
3. Implementação da quality-by-design no desenvolvimento farmacêutico.....	7
3.1 Identificação do perfil do produto alvo de qualidade	11
3.3 Definição dos atributos críticos da qualidade	11
3.4 Avaliação de risco, desenho de experiências e tecnologia analítica de processo..	12
3.4.1 Avaliação de risco.....	12
3.4.2 Desenho de experiências	14
3.4.3 Estratégia de controlo e tecnologia analítica de processo	15
3.5 Execução do <i>design</i>	17
3.6 Recolha de dados	18
4. Nanossistemas lipídicos	19
4.1 Nanopartículas lipídicas.....	19
4.2 Nanoemulsões	22
5. Desenvolvimento de nanossistemas lipídicos usando a <i>quality-by-design</i>	25
5.1 Casos de estudo.....	27
5.1.1 Nanopartículas lipídicas	28

5.1.1.1 Via oral	28
5.1.1.2 Via intranasal	34
5.1.1.3 Administração cutânea.....	41
5.1.2. Nanoemulsões	45
5.1.2.1 Administração oral.....	45
5.1.2.2 Administração oftálmica.....	49
5.1.2.3 Administração transdérmica	52
6. Conclusão	55
7. Bibliografia.....	57

Índice de figuras

Figura 1. Esquema representativo das principais etapas da aplicação prática da quality-by-design (QbD) no desenvolvimento de produtos farmacêuticos.	9
Figura 2. Diagrama de Ishikawa que ilustra a relação causa-efeito entre os atributos críticos da qualidade (CQA) e a formulação dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.....	31
Figura 3. Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da formulação dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC).....	37
Figura 4. Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da formulação para nanopartículas de lípidos sólidos (SLN).....	43
Figura 5. Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat. 48	

Índice de gráficos

Gráfico 1. Análise dos parâmetros críticos de processo (CPP) e dos atributos críticos dos materiais (CMA) a partir do número de prioridade de risco (RPN), pelo método da análise de modos e efeitos de falha (FMEA).....	44
--	----

Índice de tabelas

Tabela 1. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação.....	29
Tabela 2. Resumo dos atributos críticos da qualidade (CQA), limite e respetiva justificação da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.....	30
Tabela 3. Matriz de avaliação de risco (RAM) para identificar variáveis experimentais críticas no desenvolvimento da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.....	33
Tabela 4. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregada com diazepam.....	35
Tabela 5. Matriz de avaliação de risco (RAM) das variáveis independentes - atributos materiais críticos (CMA) e parâmetros críticos de processo (CPP) - nas respostas (atributos críticos da qualidade (CQA)).....	39
Tabela 6. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação de nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) carregados com L-arginina.....	42
Tabela 7. Atributos críticos da qualidade (CQA), objetivos e respetiva justificação para a formulação de nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) carregadas com L-arginina....	42
Tabela 8. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat.....	46
Tabela 9. Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat e respetivas justificações.....	47
Tabela 10. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com timoquinona.....	50
Tabela 11. Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com timoquinona e respetivas justificações.....	51

Tabela 12. Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com tartarato de tolterodina. 53

Tabela 13. Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com com tartarato de tolterodina e respetivas justificações. 53

Lista de abreviaturas

A/O – Água-em-óleo

CMA – Atributos críticos dos materiais (do inglês *Critical Material Attributes*)

CPP – Parâmetros críticos de processo (do inglês *Critical Process Parameters*)

CQA – Atributos críticos de qualidade (do inglês *Critical Quality Attributes*)

DoE – Desenho de experiências (do inglês *Design of Experiments*)

EE – Eficácia de encapsulação

EMA – *European Medicines Agency*

FDA – *Food and Drug Administration*

FMEA – Análise de modos e efeitos de falha (do inglês *Failure Modes and Effects Analysis*)

GRAS – Substâncias seguras para uso farmacêutico (do inglês *Generally Recognized as Safe*)

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

HPH – Homogeneização a alta pressão (do inglês *High Pressure Homogenization*)

ICH – *International Council for Harmonisation*

NE – Nanoemulsões

NLC – Vetores lipídicos nanoestruturados (do inglês *Nanostructured Lipid Carriers*)

O/A – Óleo-em-água

PAT – Tecnologia analítica de processo (do inglês *Process Analytical Technology*)

PDI – Índice de polidispersão (do inglês *Polydispersity Index*)

QbD – Qualidade pelo *design* (do inglês *Quality-by-Design*)

QbT – Qualidade por teste (do inglês *Quality-by-Testing*)

QTPP – Perfil do produto alvo de qualidade (do inglês *Quality Target Product Profile*)

RAM – Matriz de avaliação de risco

RPN – Número de prioridade de risco (em inglês *Risk Priority Number*)

SLN – Nanopartículas de lípidos sólidos (do inglês *Solid Lipid Nanoparticules*)

SNC – Sistema nervoso central

ZP – Potencial zeta (do inglês *Zeta Potential*)

1. Introdução

Nos últimos anos, o desenvolvimento de medicamentos passou por uma transformação significativa, impulsionada pela necessidade de um maior controlo da qualidade e eficácia dos processos de produção. Durante décadas, a indústria farmacêutica utilizou o modelo da qualidade por teste (do inglês *quality-by-testing-QbT*) no qual a garantia da qualidade do produto final era assegurada por uma sequência de etapas, incluindo testes de matérias-primas, um processo fixo de fabrico e testes do produto final. Embora esse modelo tenha desempenhado um papel crucial na produção farmacêutica, este apresentava limitações, uma vez que os testes finais não garantiam o entendimento completo do processo de fabrico e das variáveis que poderiam afetar a qualidade do produto final (Zhang & Mao, 2017).

No modelo da QbT, os processos eram frequentemente empíricos e baseados em tentativas e erros, o que resultava em inconsistências e variações entre lotes, além de altos custos relacionados com a necessidade de repetir o processamento de produtos farmacêuticos que não atendiam às especificações da qualidade (Cunha *et al.*, 2020). Esta abordagem de correção de falhas dependia fortemente de inspeções e testes de controlo da qualidade realizados apenas no produto final. No entanto, esta metodologia apresentava limitações, pois não abordava adequadamente as causas das falhas durante o processo de fabrico, o que impedia um controlo mais preciso e eficiente das etapas do desenvolvimento de medicamentos (Costa *et al.*, 2020).

Em resposta às limitações da QbT, surgiu o conceito da qualidade pelo *design* (do inglês *quality-by-design - QbD*), que foi originalmente proposto por Joseph M. Juran, um dos principais pioneiros na área de gestão da qualidade. Juran introduziu a ideia de que a qualidade do produto não deve ser verificada apenas no final do processo de produção, através de inspeções e testes, mas sim planeada desde o início (Costa *et al.*, 2020).

A utilização da QbD foi promovida pela *Food and Drug Administration* (FDA), no início dos anos 2000, especialmente com o lançamento da iniciativa *Pharmaceutical Current Good Manufacturing Practices for the 21st Century*, em 2002. Este programa visava incentivar a indústria farmacêutica a adotar práticas modernas de gestão da qualidade, integrando a QbD para construir a qualidade diretamente no processo de desenvolvimento do produto, ao invés de depender apenas de testes finais. Nesse sentido, a FDA introduziu as diretrizes definidas na *International Council for Harmonisation* (ICH) Q8, que

estabelecem a QbD como uma abordagem científica sistemática, incluindo o uso de ferramentas como o desenho de experiências (do inglês *design of experiments* - DoE) e a tecnologia analítica de processos (do inglês *process analytical technology* - PAT) para monitorização em tempo real e controlo rigoroso dos parâmetros críticos da qualidade ao longo do ciclo de vida do produto (Namjoshi *et al.*, 2020; Nasr, 2011). Ao mesmo tempo, a *European Medicines Agency* (EMA) alinou-se com as diretrizes das ICH Q8, Q9 e Q10, que descrevem a QbD como uma abordagem essencial para o auxílio do desenvolvimento industrial de medicamentos. Essas diretrizes estabeleceram marcos importantes para a definição dos atributos críticos da qualidade (do inglês *critical quality attributes* - CQA) e dos parâmetros críticos do processo (do inglês *critical process parameters* - CPP), além de introduzirem o conceito de espaço de *design* (do inglês *design of space*), permitindo fazer ajustes dentro dos limites estabelecidos sem a necessidade de novas aprovações por parte das entidades reguladoras (Correia *et al.*, 2023).

A colaboração entre a FDA e a EMA, consolidada pelas diretrizes ICH, tornou a QbD uma prática globalmente reconhecida, elevando os padrões da qualidade e reduzindo a variabilidade nos processos de fabrico de medicamentos. A sua implementação reflete uma transformação na indústria farmacêutica, garantindo produtos mais seguros e eficazes, e incentivando a inovação baseada na ciência e no controlo rigoroso dos processos (Cunha *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, o desenvolvimento de nanossistemas tornou-se uma prioridade para os investigadores da área dos sistemas de entrega de fármacos. Entre os diferentes tipos desenvolvidos, os nanossistemas lipídicos, como nanoemulsões (NE), os vetores lipídicos nanoestruturados (do inglês *nanostructured lipid carriers* - NLC) e as nanopartículas de lípidos sólidos (do inglês *solid lipid nanoparticles* - SLN), destacam-se como tecnologias altamente eficientes para a entrega de fármacos lipofílicos, promovendo a proteção contra degradação e melhorias na biodisponibilidade (Li *et al.*, 2017).

O desenvolvimento de processos de fabrico industrial de nanossistemas lipídicos ainda se encontra numa fase inicial, evidenciando a necessidade da aplicação de abordagens estruturadas, como a QbD. Entre os principais desafios enfrentados estão a destabilização das estruturas dos nanossistemas durante o período de armazenamento e a compreensão incompleta dos seus processos de produção, fatores que comprometem a eficácia e a reprodutibilidade das formulações. A QbD destaca-se por melhorar a compreensão detalhada dos produtos e processos, com o objetivo de garantir o controlo rigoroso da

qualidade em conformidade com os padrões regulatórios estabelecidos. A sua adoção no desenvolvimento de nanossistemas lipídicos para uso farmacêutico tem potencial para trazer benefícios relevantes tanto para a indústria quanto para os reguladores. Esta metodologia facilita a criação de formulações mais eficazes e inovadoras, agilizando o processo de desenvolvimento e garantindo conformidade com os padrões exigidos. Além disso, a QbD contribui para aprimorar os resultados clínicos e otimizar o desempenho dos nanossistemas (Simoes *et al.*, 2018).

1.1 Motivação

A motivação para a elaboração da presente dissertação surge do aumento da necessidade de melhoria das estratégias para a formulação e produção de nanossistemas lipídicos, com o intuito de obter produtos farmacêuticos mais eficazes, seguros e de qualidade controlada. A aplicação da QbD tem sido amplamente recomendada pelas entidades reguladoras como um método sistemático para otimizar processos e minimizar riscos. Assim, esta dissertação pretende analisar como a QbD pode ser aplicada no desenvolvimento de formulações novas, contribuindo desta forma para o progresso científico e tecnológico na área farmacêutica. A utilização de nanossistemas lipídicos como transportadores de fármacos apresenta uma série de benefícios, como o aumento da biodisponibilidade, proteção das degradações e direcionamento para o local alvo da ação. No entanto, o desenvolvimento e a produção destes sistemas ainda estão sujeitos a numerosos desafios, como a estabilidade e a reprodutibilidade. A motivação para a realização desta dissertação reside ainda na possibilidade de abordar algumas dessas lacunas, destacando a relevância da QbD como instrumento chave para a garantia da qualidade de formulações farmacêuticas.

1.2 Objetivos

Esta dissertação teve como objetivo destacar a importância da aplicação da abordagem da QbD no desenvolvimento farmacêutico, com ênfase na produção de formulações de nanossistemas lipídicos.

1.3 Metodologia

Foi realizada uma revisão da literatura de forma a encontrar e selecionar todos os artigos científicos relevantes para a aplicação da QbD no desenvolvimento de formulações de nanossistemas lipídicos. A pesquisa foi realizada nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct* e Google Académico.

Inicialmente, efetuou-se uma pesquisa mais abrangente sobre o tópico, sem qualquer restrição de data de publicação ou língua, usando os termos “QbD” e “*Lipid nanosystems*” e combinado os termos com os operadores booleanos “AND” e “OR”. De seguida, com base nos resultados da pesquisa inicial, foram identificados os principais estudos apresentados nesta dissertação. As pesquisas seguintes foram mais direcionadas, tendo sido utilizados os seguintes critérios de inclusão: artigos disponíveis na íntegra, publicados entre 01/01/2014 a 31/12/2024, escritos em português e inglês. Relativamente aos critérios de exclusão, não foram considerados artigos que não respeitassem a temática do presente estudo.

Para a última parte da dissertação, onde são referidos casos práticos da aplicação da QbD na formulação de nanossistemas lipídicos, foram utilizadas as palavras-chave “SLN”, “NLC”, “NE”, “*Topical delivery*”, “*Nose-to-brain*”, “*Oral delivery*”, “*Transdermal delivery*” e “*Ocular delivery*”, articuladas com os operadores booleanos “AND” e “OR”.

2. Ferramentas da *quality-by-design*

Segundo a diretriz ICH Q8, a QbD é uma abordagem de desenvolvimento sistemática que se inicia com objetivos pré-definidos e valoriza a compreensão do produto e do processo de fabrico, assim como o controlo desse processo com base em conhecimentos científicos e na gestão do risco de qualidade. Deste modo, a QbD baseia-se na importância de desenvolver uma estratégia que garanta a qualidade do produto desde o início da produção, aplicando conceitos fundamentais definidos na diretriz ICH Q8 (R2) sobre o desenvolvimento farmacêutico, tais como (Correia *et al.*, 2023; Cunha *et al.*, 2020; ICH, 2009):

- **Perfil do produto alvo de qualidade** (do inglês *quality target product profile* - QTPP): refere-se às características necessárias para obter um produto final de elevada qualidade, segurança e eficácia. Incluem a indicação terapêutica, via de administração, forma farmacêutica, dosagem, tipo de libertação do fármaco, embalagem, estabilidade durante o armazenamento, esterilidade, entre outros.
- **Atributos críticos da qualidade** (do inglês *critical quality attributes* - CQA): são os fatores que afetam diretamente o QTPP e que devem estar dentro de determinados limites para garantir a qualidade do produto final. Os CQA podem incluir parâmetros do fármaco e dos excipientes, como propriedades físico-químicas (por exemplo, solubilidade, viscosidade ou pH), microbiológicas (por exemplo, contagem total de determinados microrganismos) ou biológicas (por exemplo, permeabilidade ou mucoadesão).
- **Atributos críticos dos materiais** (do inglês *critical material attributes* - CMA): são os parâmetros relacionados com os materiais utilizados durante o processo de desenvolvimento do produto, como a solubilidade do fármaco nos lípidos, compatibilidade entre lípidos sólidos e líquidos ou as proporções de agentes emulsivos e de conservantes.
- **Atributos críticos do processo** (do inglês *critical process parameters* - CPP): incluem os parâmetros de produção cuja variabilidade tem impacto nos CQA. Os CPP podem incluir a temperatura, velocidade ou pressão e devem ser controlados para garantir a qualidade do processo de fabrico.

3. Implementação da *quality-by-design* no desenvolvimento farmacêutico

O objetivo do desenvolvimento farmacêutico é criar uma formulação e um processo de fabrico que garantam a produção consistente de um produto final de alta qualidade (ICH, 2009).

A implementação da QbD na produção farmacêutica representa uma transição importante em relação aos métodos tradicionais, que se tratavam de métodos empíricos baseados em tentativa e erro, que dependiam inteiramente de testes de controlo da qualidade do produto final. Nesta abordagem, o controlo da qualidade é garantido desde a conceção da formulação, o que aumenta significativamente a eficácia e a consistência do processo de fabrico (Costa *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2020; Kovacs *et al.*, 2021).

As informações e os conhecimentos adquiridos por meio dos estudos de desenvolvimento farmacêutico e da experiência de fabrico fornecem uma base científica que apoia a definição do espaço de *design*, das especificações e dos controlos de produção, podendo essas informações ser utilizadas na gestão de risco de qualidade. Adicionalmente, é fundamental compreender que a qualidade não pode ser testada apenas nos produtos finais, uma vez que deve ser incorporada desde a fase de *design* (ICH, 2009).

De um modo geral, a implementação prática da QbD no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos deve seguir as seguintes etapas principais (Cunha *et al.*, 2020; Zhang & Mao, 2017):

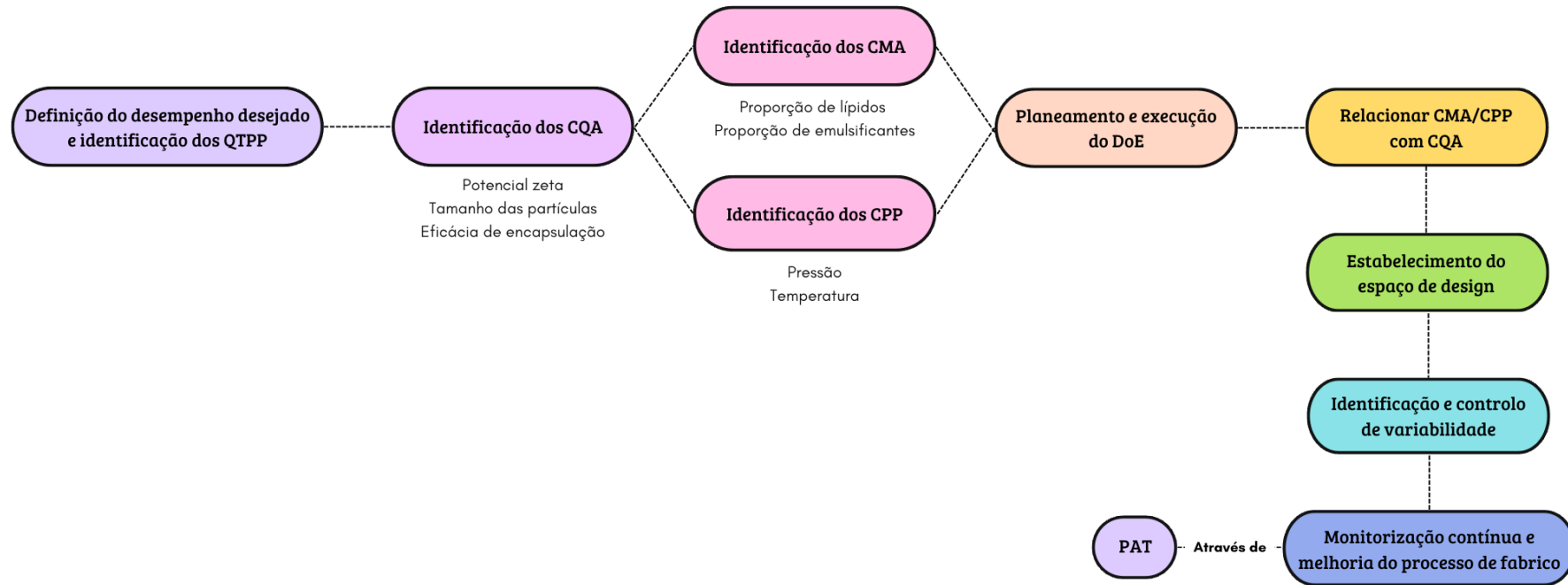
1. Definição do desempenho desejado e identificação do QTPP: consiste em estabelecer o perfil de qualidade do produto alvo, detalhando as características desejadas em termos de segurança e eficácia, em conformidade com a via de administração pretendida.
2. Identificação dos CQA: são determinados para garantir que os parâmetros essenciais da qualidade do produto final sejam controlados. Nos nanossistemas lipídicos, os CQA incluem o tamanho das partículas, potencial zeta (do inglês *zeta potential* - ZP), eficácia de encapsulação (EE) e outros elementos que tenham um impacto direto na eficácia e estabilidade da formulação.
3. Identificação dos CMA e CPP: são selecionados CMA e CPP que tenham um impacto direto nos CQA. Os exemplos dos CMA podem incluir a proporção de

lípidos e de agentes emulsivos, enquanto os exemplos dos CPP podem incluir a temperatura e a pressão aplicadas durante a produção.

4. Realizar uma avaliação do risco com o objetivo de identificar parâmetros de risco.
5. Planejamento e execução do DoE: é implementado um plano experimental para relacionar os CMA e CPP com os CQA, permitindo entender como esses parâmetros afetam o QTPP. A partir dessas informações, é possível definir um espaço de *design* para o processo, assegurando que o produto final mantém o perfil de qualidade estabelecido.
6. Identificação e controle da variabilidade: etapa crucial para controlar possíveis fontes de variação das matérias-primas (CMA) e do processo de fabrico (CPP), garantindo consistência na qualidade do produto final.
7. Monitorização contínua e melhoria do processo de fabrico: é feito um acompanhamento contínuo acompanhado de melhorias incrementais, garantindo uma qualidade uniforme de todo o processo. Este controle pode incluir o uso de PAT para ajustar as variáveis críticas em tempo real e assegurar que o processo se mantém dentro dos padrões estabelecido.

Figura 1.

Esquema representativo das principais etapas da aplicação prática da *quality-by-design* (QbD) no desenvolvimento de produtos farmacêuticos.



Nota. CMA: Atributos críticos dos materiais; CQA: Atributos críticos da qualidade; CPP: Atributos críticos do processo; DoE: Desenho de experiências; PAT: Tecnologia analítica de processos; QTPP: Perfil do produto alvo de qualidade. (Adaptado de (Cunha *et al.*, 2020)).

A figura 1 representa esquematicamente as principais etapas da aplicação da QbD ao desenvolvimento de produtos farmacêuticos.

Ao aplicar a QbD, a indústria farmacêutica é capaz de desenvolver produtos com padrões de segurança, qualidade e eficácia mais elevados. O objetivo consiste em atender às especificações, assim como garantir que cada lote seja fabricado de forma consistente dentro desses parâmetros (Correia *et al.*, 2024; Costa *et al.*, 2020).

As vantagens da implementação da QbD no desenvolvimento farmacêutico ocorrem a vários níveis e incluem (Correia *et al.*, 2024; Correia *et al.*, 2023; Costa *et al.*, 2021):

- Segurança e eficácia do produto: a segurança e a eficácia dos medicamentos são prioridade ao longo de todo o desenvolvimento do produto.
- Compreensão do processo: permite uma compreensão profunda e científica dos métodos de fabrico, controlando as variáveis que influenciam a qualidade, garantindo consistência entre os lotes produzidos.
- Desenvolvimento do produto e processo: a integração entre o *design* do produto e o desenvolvimento do processo é um aspeto chave da QbD. O desenvolvimento do produto é planeado, com base numa abordagem científica, considerando as necessidades específicas do processo e os requisitos de qualidade, o que contribui para um fabrico mais consistente e confiável.
- Identificação das CQA: todas as variáveis que podem afetar a qualidade do produto final são identificadas no início da produção e são devidamente controladas e monitorizadas ao longo do processo.
- Robustez do método ou processo: o processo pode tolerar pequenas variações sem impactar significativamente a qualidade final do produto, reduzindo a probabilidade de falhas e garantindo a consistência entre lotes.
- Benefícios comerciais: uma grande vantagem é a redução dos custos associados a mudanças pós-aprovação dos produtos. Alterações feitas dentro dos limites definidos no espaço de *design* não requerem uma nova aprovação por parte das entidades reguladoras, o que facilita a adaptação do processo e reduz o tempo e custo de fabrico, além de melhorar a gestão da produção.
- Avaliação de risco baseada em ciência: a QbD permite uma avaliação de risco detalhada e fundamentada em princípios científicos, o que ajuda a identificar e

mitigar potenciais riscos para a qualidade do produto final permitindo um controlo proativo das variáveis críticas, aumentando a segurança e fiabilidade dos produtos farmacêuticos.

As vantagens referidas reforçam a implementação da QbD como uma estratégia fundamental no desenvolvimento farmacêutico, particularmente no âmbito dos nanossistemas lipídicos, onde a complexidade do produto e a exigência de precisão na administração do fármaco tornam indispensável assegurar a segurança e a eficácia do processo de fabrico (Correia *et al.*, 2024; Correia *et al.*, 2023; Costa *et al.*, 2021).

3.1 Identificação do perfil do produto alvo de qualidade

A definição do QTPP é o ponto de partida na implementação do QbD, uma vez que especifica as características desejadas para a formulação, garantindo que são cumpridos os requisitos de segurança, eficácia e qualidade (Correia *et al.*, 2023; Cunha *et al.*, 2020). Além disso, a identificação do QTPP orienta o desenvolvimento do processo de fabrico, guiando a seleção das CMA e dos CPP que têm um impacto direto na qualidade final do produto, assegurando a capacidade de fabricar um produto consistente e de elevada qualidade (Costa *et al.*, 2021).

Outro objetivo importante da identificação do QTPP passa pela garantia de conformidade com a regulamentação, como as diretrizes das ICH, que são essenciais para a aprovação do produto por parte das entidades reguladoras, como a FDA e EMA, reduzindo a necessidade de ajustes pós-aprovação (Correia *et al.*, 2023).

Por fim, o QTPP permite a otimização e o controlo da variabilidade durante o desenvolvimento do produto, o que é particularmente crucial em formulações de nanossistemas, onde pequenas variações podem afetar significativamente a eficácia e a estabilidade do produto final (Cunha *et al.*, 2020; Talarico *et al.*, 2023).

3.3 Definição dos atributos críticos da qualidade

A definição dos requisitos do produto final é uma etapa essencial para garantir que o QTPP é alcançado. Esses requisitos baseiam-se nos CQA, que têm grande influência na segurança, eficácia e estabilidade do produto final (Cunha *et al.*, 2020).

Os potenciais CQA do produto, derivados do QTPP e/ou de conhecimentos prévios, servem para orientar o desenvolvimento tanto do produto quanto do seu processo de fabrico. Por meio da gestão de risco, a lista de CQA pode ser ajustada, permitindo que certos atributos sejam incluídos ou excluídos à medida que o entendimento acerca do produto e do processo se vai aprofundando (Costa *et al.*, 2021; García Aponte *et al.*, 2015).

Além disso, é fundamental identificar as CMA e os CPP que podem afetar diretamente os CQA, para que sejam monitorizados e/ou controlados como forma de assegurar a qualidade do processo de fabrico e do produto final (Correia *et al.*, 2023; García Aponte *et al.*, 2015).

3.4 Avaliação de risco, desenho de experiências e tecnologia analítica de processo

3.4.1 Avaliação de risco

Segundo a ICH Q9, o risco é definido como a combinação entre a probabilidade de ocorrência de um dano e a gravidade do mesmo (EMA, 2015). A avaliação desse risco é um processo fundamental na abordagem QbD, pois permite identificar, avaliar e priorizar fatores que podem ter um impacto negativo na qualidade do produto. Esta gestão é geralmente executada nas etapas iniciais do desenvolvimento farmacêutico e repetida, ao longo do processo, à medida que surge mais informação (Cunha *et al.*, 2020; EMA, 2015).

É de extrema importância existir uma avaliação e gestão de risco de qualidade, para que os sistemas de qualidade sejam eficazes e robustos, sendo esta importância amplamente reconhecida na indústria farmacêutica (Costa *et al.*, 2021). No entanto, alcançar uma compreensão uniforme sobre a aplicação da gestão de risco entre diferentes partes interessadas pode ser desafiante, uma vez que cada parte pode perceber potenciais danos de forma distinta, atribuindo diferentes probabilidades e avaliando gravidades de forma variável. O fabrico e uso de um produto farmacêutico envolvem, inevitavelmente, algum nível de risco. Contudo, o risco relacionado com a qualidade constitui apenas um dos aspetos do risco global. Portanto, é essencial garantir que a qualidade do produto seja preservada durante todo o seu ciclo de vida, para que os atributos importantes se mantenham consistentes com os observados nos estudos clínicos (Costa *et al.*, 2020).

A utilização de uma abordagem eficaz da gestão de risco de qualidade pode assegurar a elevada qualidade do produto para o doente, promovendo um meio proativo de identificar

e controlar possíveis problemas da qualidade ao longo do seu desenvolvimento. Essa gestão também auxilia na melhoria da tomada de decisões caso surjam problemas de qualidade. Uma gestão de risco bem implementada facilita decisões mais informadas, aumenta a confiança dos reguladores na capacidade da empresa em lidar com potenciais riscos e pode reduzir o nível de supervisão regulatória direta (Correia *et al.*, 2023; Cunha *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas, diversos métodos de análise de risco foram propostos para avaliar, identificar e, eventualmente, controlar perigos que possam ter um impacto crítico nos processos gerais e/ou na qualidade do produto. A diretriz ICH Q9 estabelece um processo típico de gestão de risco, que habitualmente inclui cinco etapas importantes (Kovacs *et al.*, 2021):

- i. **Iniciação do risco:** é definido o potencial risco do processo e é estabelecida uma equipa central para definir um cronograma a fim de avaliar, controlar e comunicar os resultados do processo de gestão do risco.
- ii. **Análise do risco:** inclui a identificação, análise e avaliação de riscos, utilizando diferentes métodos, como: análise preliminar de riscos; diagrama de Ishikawa (*fishbone chart*); análise de modos e efeitos de falha; análise de efeitos de falha crítica; análise de árvore de falhas; análise de riscos e pontos críticos de controlo; e matrizes de classificação e filtragem do risco.
- iii. **Controlo do risco:** inclui a redução do risco, geralmente através de medidas preventivas, ou pela aceitação do risco, quando a sua mitigação através das ações implementadas não for satisfatória.
- iv. **Comunicação do risco:** divulgação dos resultados obtidos após a análise e o controlo de riscos.
- v. **Revisão do risco:** reavaliação da gestão do risco à medida que vão sendo adquiridos novos conhecimentos e experiências.

Entre os vários métodos de análise de risco referidos anteriormente, os mais amplamente utilizados no controlo no desenvolvimento farmacêutico são: a análise preliminar de perigos, os diagramas de Ishikawa, a análise de modos e efeitos de falha e a análise de árvore de falhas (Kovacs *et al.*, 2021).

3.4.2 Desenho de experiências

O DoE é uma excelente ferramenta que permite a manipulação sistemática de fatores de acordo com um planejamento previamente especificado. Além disso, permite também identificar relações entre os fatores de entrada e as respostas ou fatores de saída. Como tal, é planejada uma série de testes estruturados, nos quais são realizadas alterações intencionais nas variáveis de entrada de um processo ou sistema. Posteriormente, são avaliados os efeitos dessas mudanças numa saída previamente definida (Yu *et al.*, 2014). Quando aplicado ao desenvolvimento de formulações ou processos, as variáveis de entrada incluem os CMA e os CPP, enquanto as respostas incluem os CQA (S *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2014). Como tal, o DoE constitui uma abordagem consolidada para deduzir a associação entre os elementos que afetam um *design* de experiência e o seu resultado. Exemplos de DoE incluem o *design* de Plackett-Burman, *design* fatorial e *design* composto central. Cada operação inclui várias variáveis de entrada e saída, incluindo parâmetros de processo, tornando impossível a análise individual de cada um. Como tal, ao implementar um DoE, os investigadores devem utilizar o seu conhecimento e o controlo de riscos para identificar os parâmetros de processo cruciais bem como as variáveis de entrada e saída. Os resultados do DoE podem auxiliar na identificação de elementos essenciais relacionados com os CQA e fornecer informações valiosas sobre interações positivas ou negativas entre fatores (Cunha *et al.*, 2020).

A vantagem do DoE em relação à abordagem tradicional nos estudos de desenvolvimento farmacêutico, deve-se à sua capacidade de revelar como as respostas são afetadas pelos diferentes fatores. Desta forma, esta ferramenta permite maximizar as informações obtidas e minimizar os recursos necessários, levando a um aumento da compreensão do produto e do processo. Adicionalmente, dependendo das restrições admissíveis dos CQA, define-se a área de projeto para os CPP. Quando um *design* adequado é aplicado à técnica de fabrico da forma de dosagem, é possível obter uma qualidade aprimorada do produto e dos seus atributos (Cunha *et al.*, 2020).

O DoE pode ser dividido em duas etapas distintas: triagem e otimização. A triagem é realizada antes do *design* de superfície de resposta com o objetivo de identificar os fatores mais significativos. Essa etapa pode ser dispensada, caso o processo de desenvolvimento da formulação já seja bem compreendido. A metodologia de superfície de resposta, por sua vez, é utilizada com o propósito de otimizar a formulação. Os *designs* de superfície de resposta dividem-se em dois tipos: aqueles nos quais as variáveis que afetam a resposta

podem ser ajustadas independentemente umas das outras, como o *design* composto central e o *design* de Box-Behnken; e aqueles em que as variáveis representam componentes de uma mistura, onde os seus níveis são interdependentes, como nos *designs* de mistura (Correia *et al.*, 2023). Além disso, o DoE pode ser usado para compreender o impacto de parâmetros de processo que influenciam os CQA de diferentes formas (Cunha *et al.*, 2020).

3.4.3 Estratégia de controlo e tecnologia analítica de processo

A estratégia de controlo é um elemento fundamental no desenvolvimento e fabrico de produtos farmacêuticos, assegurando que o produto final atenda aos CQA estabelecidos. Esta estratégia é composta por um conjunto de ações e parâmetros destinados a monitorizar e manter o processo produtivo dentro de limites previamente definidos. Esse controlo abrange tanto os CPP quanto os CMA, sendo aplicado em diversas etapas da produção. Para definir os intervalos aceitáveis dos parâmetros críticos é essencial o uso do conceito de espaço de *design*, permitindo uma avaliação de riscos robusta e a adaptação da produção a possíveis variações naturais do processo (EMA, 2015).

A PAT desempenha um papel fundamental na implementação eficaz de estratégias de controlo, proporcionando uma monitorização em tempo real e um controlo ativo de parâmetros críticos durante o fabrico. Recomendado nas diretrizes das ICH Q8 e Q9, o conceito de PAT surgiu como uma abordagem científica para otimizar processos produtivos e garantir que os padrões da qualidade são cumpridos. Além disso, reduz riscos associados à segurança e qualidade do produto final, aumentando a eficiência do processo. A PAT permite uma avaliação contínua das condições do processo e da qualidade do produto em diferentes fases da produção, possibilitando ajustes imediatos sempre que necessário. Dessa forma, torna-se uma alternativa mais eficiente em relação aos testes finais tradicionais, minimizando desperdícios e reduzindo o volume de produtos rejeitados (Costa *et al.*, 2021; Kovacs *et al.*, 2021).

As ferramentas da PAT incluem técnicas de espectroscopia, cromatografia, análise de imagem, entre outras tecnologias avançadas. Estas técnicas possibilitam análises rápidas e precisas dos CPP, CMA e CQA, permitindo um maior controlo sobre a produção (Costa *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2020).

O conceito da PAT está intrinsecamente ligado à evolução das estratégias de controlo utilizadas na indústria farmacêutica. Estas estratégias de controlo dividem-se em três níveis principais, com diferentes graus de complexidade e adaptabilidade (Yu *et al.*, 2014). O nível 1 é o mais adaptável e utiliza o controlo automático de engenharia para monitorizar, em tempo real, os CQA dos materiais de saída. Este permite ajustes automáticos nos parâmetros do processo com base na monitorização contínua das características dos materiais de entrada, garantindo que os CQA estejam sempre dentro dos critérios de aceitação estabelecidos. A utilização da PAT é frequentemente integrada neste nível, permitindo a libertação em tempo real (Yu *et al.*, 2014). O nível 2 consiste num controlo farmacêutico mais flexível, com testes reduzidos no produto final e parâmetros de material e de processo ajustáveis dentro do espaço de *design* estabelecido. Este nível é promovido pela abordagem QbD, que incentiva a compreensão do produto e do processo, além da identificação das fontes de variabilidade que afetam a qualidade do produto. Compreender o impacto da variabilidade nos materiais em processo, possibilita deslocar os controlos para etapas anteriores, reduzindo a dependência dos testes no produto acabado (Yu *et al.*, 2014). O nível 3 representa a estratégia de controlo tradicionalmente utilizada na indústria farmacêutica, baseada em testes extensivos no produto final e em parâmetros e atributos rigorosamente controlados. Este nível requer um uso intensivo de recursos pela indústria e autoridades reguladoras, resultando em discussões prolongadas sobre a variabilidade aceitável, a necessidade de controlos adicionais e o estabelecimento de critérios de aceitação (Yu *et al.*, 2014).

Na prática, muitas empresas adotam uma abordagem híbrida que combina os níveis 1 e 2 de controlo. Esta estratégia, alinhada com a ICH Q8 (R2), baseia-se num conjunto de controlos programados que garantem a qualidade do produto e o adequado desempenho do processo. Os controlos podem incluir parâmetros relacionados com os materiais e componentes da formulação, condições operacionais dos equipamentos, especificações do produto acabado, métodos analíticos e frequência de monitorização. Assim, a PAT é uma ferramenta-chave para assegurar que o processo permaneça dentro do espaço de *design* estabelecido, permitindo decisões rápidas e fundamentadas, melhorando a deteção precoce de falhas (Yu *et al.*, 2014; Kovacs *et al.*, 2021).

Os componentes principais da PAT incluem: aquisição e análise de dados multivariados, ferramentas de química analítica de processos, monitorização e controlo do processo e otimização contínua do processo. A aquisição e análise de dados multivariados exigem

uma compreensão científica profunda do processo, permitindo a identificação de parâmetros críticos que afetam a qualidade do produto. Essas informações são integradas no controlo do processo para assegurar que os CQA sejam mantidos. As ferramentas de química analítica de processos fornecem dados em tempo real e *in situ*, o que permite relacionar informações com os CQA e ajustes automáticos nas variáveis críticas, sempre que necessário. Essa abordagem promove a otimização contínua e a gestão do conhecimento, que são pilares centrais da QbD (Yu *et al.*, 2014).

Os avanços recentes na regulamentação, reportados nas diretrizes ICH Q13 e Q14, destacam a importância do fabrico contínuo e da abordagem analítica baseada na QbD. A ICH Q14, em particular, expande os conceitos da ICH Q2, abordando métodos analíticos inovadores, como a espectroscopia de Raman e o infravermelho próximo, integrando-os no desenvolvimento analítico. Essas mudanças regulatórias reforçam a relação existente entre os CMA, CPP e CQA, e destacam a importância do uso de tecnologias modernas como a PAT para garantir a conformidade e a qualidade do produto final (Kovacs *et al.*, 2021).

3.5 Execução do *design*

A execução do *design* dentro da abordagem da QbD representa um processo estruturado, onde o controlo da qualidade é integrado desde a conceção do produto, visando a transformação de parâmetros críticos em processos controláveis e replicáveis durante a produção. Este processo baseia-se numa estrutura de *design* robusta que assegura a conformidade com os perfis de qualidade desejados, integrando flexibilidade operacional e permitindo que variações no processo, dentro de um espaço de *design* validado, mantenham a qualidade do produto final sem necessidade de ajustes extensivos (Costa *et al.*, 2021).

Durante a execução do *design*, cada passo é alinhado com os CQA previamente definidos, e a consistência entre lotes é assegurada através do controlo contínuo dos CPP e CMA. Essa abordagem permite uma maior capacidade de resposta a possíveis variações nas matérias-primas e nos processos de fabrico, minimizando o impacto de mudanças inesperadas e garantindo que o produto final atende aos requisitos de eficácia e segurança (Cunha *et al.*, 2020).

É feita a adaptação de tecnologias de monitorização contínua, como a PAT, para realizar ajustes em tempo real e otimizar a performance do processo. Esta monitorização facilita a deteção precoce de desvios nos parâmetros críticos, permitindo correções imediatas e assegurando que o produto final se mantém dentro dos padrões de qualidade especificados (Correia *et al.*, 2023).

3.6 Recolha de dados

O processo de recolha de dados é rigorosamente planeado com o objetivo de assegurar que as informações obtidas durante o desenvolvimento e produção são suficientes para compreender as variáveis críticas que afetam a qualidade final do produto. Esses dados são usados para fundamentar decisões relacionadas com os CQA, CMA e CPP, garantindo que o produto final atende aos padrões de qualidade e segurança definidos (Cunha *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2021).

Após a definição dos parâmetros iniciais, a recolha de dados continua ao longo de todas as fases de desenvolvimento, onde são monitorizados os CPP. A recolha de dados em tempo real é muitas vezes realizada com a ajuda da PAT, que permite ajustar variáveis críticas à medida que o processo de fabrico avança, assegurando que o produto permanece dentro do espaço de *design* estabelecido (Costa *et al.*, 2021).

Os dados recolhidos permitem identificar desvios nas especificações e implementar medidas corretivas, quando necessário. A análise estatística dos dados recolhidos fornece uma compreensão mais aprofundada das relações entre os CMA, CPP e CQA, sendo essencial para a otimização e robustez do processo (Cunha *et al.*, 2020).

Assim, a recolha de dados desempenha um papel central na aplicação da QbD, oferecendo suporte para decisões informadas em cada etapa do desenvolvimento do produto. Este processo sistemático e controlado reduz a variabilidade entre os lotes e aumenta a probabilidade de sucesso do produto final (Correia *et al.*, 2023; Costa *et al.*, 2021).

4. Nanossistemas lipídicos

Os lípidos, devido à sua baixa solubilidade em água, destacam-se pela sua capacidade de solubilizar moléculas lipofílicas, o que os torna excipientes de elevado interesse para a indústria farmacêutica. Este interesse é ainda reforçado pelo facto de serem classificados como substâncias seguras (do inglês *Generally Recognized as Safe* - GRAS), apresentando níveis de toxicidade nulos ou extremamente baixos, o que lhes confere uma ampla aplicabilidade em formulações farmacêuticas. Por este motivo, os lípidos têm sido largamente explorados na elaboração de nanossistemas lipídicos, como as SLN, NLC e NE, visando uma entrega de fármacos mais eficiente e direcionada para os locais-alvo da ação. Nos tópicos seguintes, foram destacadas, de forma complementar, várias vantagens adicionais associadas a estes nanossistemas lipídicos (Cunha *et al.*, 2021).

A abordagem da QbD permite o desenvolvimento de nanossistemas lipídicos com qualidade, segurança e eficácia, facilitando simultaneamente uma formulação mais eficiente. Possibilita também a deteção precoce de eventuais alterações do processo, como variações das matérias-primas, do *design* do produto e dos processos de produção à escala industrial (Cunha *et al.*, 2020).

4.1 Nanopartículas lipídicas

Desde a criação das nanopartículas, têm surgido cada vez mais grupos de investigadores dedicados ao estudo destes nanossistemas. Este facto deve-se aos métodos de produção facilmente acessíveis e às vantagens em relação a outros transportadores coloidais, em especial a sua baixa ou ausente toxicidade (Garces *et al.*, 2018).

As dispersões de nanopartículas lipídicas são sistemas heterogéneos compostos por uma fase lipídica interna e uma fase aquosa externa, estabilizadas por um ou dois agentes emulsivos. Ao contrário das NE, as nanopartículas lipídicas possuem uma fase lipídica interna sólida, uma vez que essas nanopartículas são totalmente (SLN) ou maioritariamente (NLC) constituídas por lípidos sólidos à temperatura ambiente. Essa matriz sólida permite a libertação modificada das moléculas encapsuladas, conferindo proteção contra a degradação e aumentando a estabilidade a longo prazo (Garces *et al.*, 2018; Mehnert & Mader, 2001; Muller *et al.*, 2002).

Os dois tipos de nanopartículas lipídicas, SLN e NLC, são classificados de acordo com a sua estrutura interna. As SLN foram desenvolvidas primeiro e são compostas exclusivamente por lípidos sólidos, enquanto as NLC representam uma evolução das SLN e são formadas por uma mistura de lípidos sólidos e líquidos, sendo o sólido predominante para formar a nanopartícula (Garces *et al.*, 2018; Mehnert & Mader, 2001; Muller *et al.*, 2002).

As moléculas encapsuladas podem localizar-se no núcleo ou encontrarem-se dispersas na matriz lipídica das nanopartículas. Além disso, a superfície externa destas nanopartículas pode ser funcionalizada com ligandos específicos, como proteínas, oligossacarídeos e anticorpos, com o objetivo de as direcionar para o local alvo da ação, o que permite o desenvolvimento de terapias personalizadas e mais eficazes. As SLN e os NLC apresentam inúmeras vantagens que as tornam uma opção promissora para promover a entrega de fármacos (Akel *et al.*, 2020; Mehnert & Mader, 2001; Muller *et al.*, 2002):

1. Biodegradabilidade e versatilidade: são partículas pequenas e biodegradáveis, com superfícies facilmente funcionalizáveis, adequadas para encapsular moléculas lipofílicas.
2. Produção simples: o seu fabrico não exige o uso de solventes orgânicos ou equipamentos sofisticados, tornando o processo acessível e fácil de transpor para a escala industrial.
3. Melhoria da biodisponibilidade: aumentam a biodisponibilidade dos fármacos encapsulados, em comparação com as suas formas livres.
4. Permeação pela barreira hematoencefálica: demonstram capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, facilitando tratamentos do sistema nervoso central (SNC).

No entanto, as SLN apresentam algumas desvantagens que se manifestam durante o armazenamento, onde os lípidos sólidos que constituem estas nanopartículas podem sofrer um rearranjo da sua estrutura cristalina. Logo após a produção das SLN, esses lípidos cristalizam em formas α - instáveis e β' - metastáveis. Com o passar do tempo, essas estruturas tendem a reorganizar-se, na forma β - polimórfica, que é mais estável e ordenada. Este rearranjo da estrutura lipídica cristalina reduz as imperfeições da matriz, diminuindo o espaço disponível para encapsular moléculas, levando à sua saída precoce do interior das nanopartículas (Cunha *et al.*, 2020). Por outro lado, o elevado grau de

organização da matriz lipídica das SLN limita a sua capacidade de carga, sendo necessária uma escolha criteriosa dos lípidos e das condições de processamento para minimizar essas limitações (Simoes *et al.*, 2018).

Os NLC surgiram como uma evolução tecnológica de segunda geração de nanopartículas lipídicas para superar as limitações das SLN. Consistem em dispersões aquosas de nanopartículas lipídicas compostas por uma combinação de um lípido sólido com um lípido líquido, que se encontram estabilizadas por um ou dois agentes emulsivos. Esta formulação inovadora permite aos NLC superar desafios relacionados com as SLN, quanto à baixa eficiência de encapsulação e à expulsão das moléculas durante o armazenamento (Garces *et al.*, 2018).

A adição de um lípido líquido à matriz sólida dos NLC reduz a organização interna da estrutura das nanopartículas típica das SLN. Esta alteração provoca imperfeições na matriz lipídica, impedindo a formação de uma estrutura cristalina perfeita. Como resultado, a matriz adquire uma configuração amorfa constituída por moléculas lipídicas de tamanhos variados, que apresenta como principais vantagens (Müller *et al.*, 2011): Maior capacidade de encapsulação - a matriz amorfa dos NLC oferece mais espaço para incorporar quantidades maiores de moléculas, especialmente aquelas que apresentam uma baixa solubilidade em água. Redução da expulsão de moléculas - a ausência de uma estrutura lipídica cristalina rígida reduz significativamente a tendência de expulsão das moléculas durante o armazenamento, contribuindo para uma maior estabilidade.

Apesar das melhorias estruturais em relação às SLN, os NLC continuam a apresentar algumas limitações, como a instabilidade física associada à agregação das partículas, que pode ocorrer durante o armazenamento. Esta agregação compromete a eficiência dos NLC como sistemas de libertação modificada de moléculas, limitando a sua aplicabilidade (Garces *et al.*, 2018).

De acordo com Gasco, um dos inventores das SLN, estas nanopartículas são produzidas pela técnica da microemulsão, onde se prepara uma emulsão O/A (*óleo-em-água*) constituída por um lípido sólido, um solvente orgânico, um ou dois agentes emulsivos e água, à qual é posteriormente adicionada água fria. Nesse processo, as gotículas de óleo da emulsão quebram e as SLN precipitam (Müller *et al.*, 2011). Entre os métodos mais usados para produzir SLN e NLC, destacam-se a ultrassonicação, que utiliza a energia dos ultrassons para formar partículas nanométricas; a homogeneização a alta pressão (do inglês *High Pressure Homogenization* - HPH) que utiliza alta pressão para reduzir o

tamanho das partículas; e algumas técnicas usadas para produzir outros nanossistemas, que recorrem ao uso de solventes orgânicos, como a difusão e evaporação do solvente, entre outras. Entre essas técnicas, a ultrassonicação e a HPH destacam-se como as mais eficazes para a produção de SLN e NLC, devido à sua eficiência em gerar nanopartículas estáveis e com tamanhos uniformes (Cunha *et al.*, 2020).

No caso da produção industrial de SLN e NLC, é usada a HPH. Neste processo, a mistura fundida de lípidos e fármaco é homogeneizada a alta velocidade numa solução aquosa quente de agentes emulsivos. A emulsão O/A resultante é, então, homogeneizada a cerca de 5°C acima da temperatura de fusão do lípido sólido, formando-se uma nanoemulsão O/A quente. O arrefecimento e o subsequente processo de cristalização do lípido resultam na formação das SLN ou NLC (Müller *et al.*, 2011). Não obstante, a HPH também tem sido usada à escala laboratorial, na produção de pequenos lotes de formulações de SLN e NLC. Neste caso, a técnica dos ultrassons ou ultrassonicação tem sido a mais usada, devido à facilidade de execução e à utilização de equipamento simples que habitualmente existem em muitos laboratórios de investigação. Em resumo, a ultrassonicação consiste no uso de uma sonda que é colocada em contato com a preparação e que através da libertação de energia sob a forma de ultrassons leva à colisão entre as partículas levando à sua divisão em tamanhos mais pequenos (nanométricos) (Silva *et al.*, 2011; Silva & Loureiro, 2024).

4.2 Nanoemulsões

As NE são sistemas coloidais heterógenos formados por duas fases imiscíveis (aquosa e oleosa), estabilizadas por um ou dois agentes emulsivos também designados por surfactantes e co-surfactantes. Esses sistemas podem apresentar-se sob duas formas principais: O/A ou água-em-óleo (A/O), sendo a forma O/A mais comum. Graças à sua capacidade de incorporação de moléculas na fase oleosa, as NE têm sido amplamente investigadas para promover o transporte de fármacos lipofílicos (Cunha *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2017). É importante referir que alguns autores se referem a estes sistemas como microemulsões ou sistemas auto-emulsionados.

As gotículas que compõem as NE possuem um tamanho médio que varia entre 20 e 200 nm, o que lhes confere propriedades benéficas em comparação com as emulsões O/A

convencionais, como o aumento da estabilidade contra fenômenos como floculação, sedimentação e coalescência (Cunha *et al.*, 2020).

As NE apresentam várias vantagens, tais como (Cunha *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2017; Mehta *et al.*, 2023): elevada EE de moléculas lipófilas, promovendo a sua biodisponibilidade, libertação modificada e direcionada das moléculas veiculadas, uso de excipientes GRAS que possibilitam a aplicação em diversas vias de administração, facilidade de produção à escala industrial e baixa toxicidade. Estas características fazem das NE uma opção promissora para a administração modificada de fármacos. Contudo, estes nanossistemas apresentam limitações, tais como a necessidade de usar elevadas quantidades de agentes emulsivos para estabilizar as gotículas, instabilidade causada por variações do pH e da temperatura, e o risco de libertação do fármaco encapsulado durante o armazenamento (Cunha *et al.*, 2021).

A otimização das NE envolve frequentemente estudos de fases pseudo-ternárias para determinar a proporção ideal entre a fase oleosa, o surfactante e o co-surfactante. A escolha da fase oleosa baseia-se na solubilidade do fármaco nos óleos, enquanto o surfactante é selecionado pela capacidade de solubilização do óleo, e o co-surfactante, pela eficiência de estabilização. Esses fatores são determinados pela análise da região significativa de formação de NE nos estudos de fases ternárias (Kaur *et al.*, 2024; Vipanchi *et al.*, 2023).

A seleção da técnica adequada para a preparação de NE depende das propriedades específicas dos compostos, como a homogeneização das fases oleosas e dos surfactantes, as características operacionais e as propriedades físico-químicas do produto (Kaur *et al.*, 2024).

Um dos aspetos críticos na produção de NE é alcançar uma tensão interfacial extremamente baixa ($< 10^{-3}$ mN/m) na interface O/A, o que exige a utilização adequada de surfactantes, que desempenham um papel fundamental na estabilização das gotículas, reduzindo a tensão interfacial (Kaur *et al.*, 2024).

A preparação de NE pode ser classificada em duas abordagens principais: os métodos de emulsificação de baixa energia e de alta energia, dependendo da forma como a energia é aplicada ao sistema em emulsificação. Os métodos de baixa energia utilizam as propriedades físicas internas do sistema para formar nanogotículas. Nestes métodos, o processo de emulsificação pode ser induzido através da alteração de parâmetros, como a

temperatura e a composição, influenciando assim o equilíbrio hidrofílico-lipofílico do sistema. Estes métodos incluem a emulsificação espontânea que ocorre quando dois líquidos imiscíveis são misturados em condições de não equilíbrio, devido a um gradiente de potencial químico entre as fases e a inversão de fases que engloba a temperatura de inversão de fase, composição de inversão de fase e inversão de fase de emulsão (Kaur *et al.*, 2024).

Os processos envolvidos nos métodos de alta energia utilizam técnicas como a HPH, que é ideal para produzir nanogotículas uniformes e estáveis; a microfluidização que origina NE com tamanhos de gotícula extremamente reduzidos; e a ultrassonicação que usa sondas de sonicação cuja energia libertada quebra as gotículas à nanoescala. Estes dispositivos são capazes de gerar forças disruptivas intensas, aumentando a área interfacial água/óleo, o que promove a formação de gotículas pequenas cujo tamanho depende diretamente da intensidade da energia aplicada (Kaur *et al.*, 2024).

5. Desenvolvimento de nanossistemas lipídicos usando a *quality-by-design*

A funcionalidade dos nanossistemas lipídicos é crucial para a sua aplicação terapêutica eficaz, pelo que as suas características devem ser reprodutíveis e fáceis de transferir para a escala industrial, assegurando a uniformidade entre lotes. A formulação e a produção de nanossistemas lipídicos são relativamente complexas e desafiantes para a tecnologia farmacêutica, no que diz respeito à reprodutibilidade e distribuição uniforme dos tamanhos. Além disso, sob condições variáveis, a instabilidade dos nanossistemas dificultará o seu armazenamento durante longos períodos, comprometendo a eficácia terapêutica. Nesse contexto, a indústria farmacêutica tem enfrentado dificuldades para obter produtos finais à base de nanossistemas, uma vez que estes são frequentemente baseados em suposições não comprovadas e difíceis de escalar. Estes não conseguem atingir o nível de robustez exigido quando produzidos em larga escala. É necessária uma seleção cuidadosa das matérias-primas usadas na formulação e dos parâmetros do processo, que, frequentemente, não são mencionados na literatura. Assim, é imperativo compreender e otimizar os métodos de formulação e de produção dos nanossistemas lipídicos, bem como identificar possíveis problemas de transferência de escala, uma vez que, frequentemente, as características desejadas se perdem (Cunha *et al.*, 2020; Simoes *et al.*, 2018).

Vários esforços têm sido realizados para superar esses obstáculos. Embora o desenvolvimento de formulações baseado na QbD continue a ser debatido no contexto dos nanossistemas lipídicos, a aplicação desta abordagem sistemática parece promissora para traduzir produtos de nanossistemas do laboratório para o mercado (Simoes *et al.*, 2018).

Os passos para aplicação da QbD em nanossistemas lipídicos envolvem a identificação do QTPP, CQA, CMA e CPP, além da construção de um espaço de *design* baseado em conhecimento prévio e pesquisas. São conduzidas análises de risco e estratégias de controlo durante todo o processo. Por fim, o espaço de *design* é examinado e ajustado para atender às necessidades de fabrico (Li *et al.*, 2017).

A definição do QTPP, quando aplicado aos nanossistemas, tem em conta os seguintes aspetos (Cunha *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2017): uso clínico; via de administração; forma

farmacêutica; tipo de nanossistema lipídico; qualidade, segurança e eficácia do produto final.

Após definir o QTPP, o próximo passo é identificar os CQA. Esses atributos geralmente são identificados por meio da análise do risco, baseada em conhecimento prévio e em experiência em investigação. A avaliação do risco tem o objetivo de determinar que atributos dos materiais e/ou parâmetros do processo de produção são críticos para a qualidade do nanossistema e quais dessas variáveis devem ser investigadas experimentalmente e controladas de forma a garantir a qualidade desejada para o produto. A análise de risco deve ser realizada no início do desenvolvimento farmacêutico, e o procedimento deve ser repetido em diferentes fases do processo, à medida que são obtidas mais informações. A avaliação deve passar inicialmente pela análise de todas as variáveis que possam influenciar ou causar uma falha na qualidade do produto. Para tal, deve-se desenvolver um diagrama de Ishikawa, que representa uma relação de causa-efeito entre as CMA e os CPP que têm impacto nos CQA. O impacto dessas variáveis pode ser representado por uma matriz de estimativa de riscos, que é um método sistemático e proativo para identificar e mitigar possíveis falhas. Os CQA mais comuns para os nanossistemas incluem (Cunha *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2017):

- Características da partícula, incluindo tamanho e carga de superfície - índice de polidispersão (do inglês *polydispersity index* – PDI) e ZP.
- EE e capacidade de carga.
- Perfil de liberação do fármaco.

No caso dos nanossistemas lipídicos, a avaliação de risco centra-se na avaliação da proporção de lípidos e agentes emulsivos e nos parâmetros do método de produção, que constituem os principais fatores que podem ter impacto direto no tamanho das partículas, na EE e na estabilidade do sistema. Este processo de análise permite desenvolver uma estratégia preventiva para minimizar a variabilidade do processo e assegurar a consistência entre lotes (Costa *et al.*, 2021; EMA, 2015). No caso dos CPP, temos como exemplos a temperatura, tempo e velocidade de homogeneização, tempo, amplitude ou pressão do processamento de energia. No caso dos CMA, temos como exemplos a proporção entre lípidos e agentes emulsivos, toxicidade e biodegradabilidade (Cunha *et al.*, 2020).

O espaço de *design* é composto pelo espaço de *design* do produto e pelo espaço de *design* do processo. O espaço de *design* do produto é estabelecido usando vários CQA como dimensões. Após a determinação dos CQA, o espaço de *design* do processo é formado. As etapas incluem (Li *et al.*, 2017): conduzir um DoE para estudar o processo, realizar a análise de risco para identificar os impactos das variáveis nos CQA, determinar a região de operação com base num nível de confiança pré-definido.

A estratégia de controlo da QbD é dinâmica e é geralmente composta por dois níveis de controlo (Li *et al.*, 2017):

- Nível 1: controlo automático em tempo real que monitoriza os CMA e ajusta automaticamente os parâmetros do processo.
- Nível 2: redução de testes em produtos finais e ajuste flexível dos CPP e CQA dentro do espaço de *design*.

Posteriormente à definição do espaço de *design* e da estratégia de controlo, é necessário verificar se o produto processado dentro do espaço definido atende aos critérios de qualidade estabelecidos. Também é essencial confirmar que o espaço de *design* à escala laboratorial é adequado para aplicação à escala industrial. O registo regulatório é então documentado, incluindo o espaço de *design* com o intervalo definido de CQA e CPP (Li *et al.*, 2017).

No desenvolvimento de nanossistemas lipídicos, a aplicação da PAT é particularmente importante para monitorizar em tempo real variáveis críticas, como o tamanho das partículas e o PDI, o ZP e a EE. Esse controlo contínuo garante que os produtos finais satisfaçam os requisitos de qualidade previamente estabelecidos, aumentando a reprodutibilidade e consistência entre lotes (Costa *et al.*, 2020); Cunha *et al.*, 2020).

5.1 Casos de estudo

Seguidamente são apresentados diferentes estudos, publicados nos últimos três anos, com o objetivo de evidenciar a aplicação da QbD no desenvolvimento de formulações de nanossistemas lipídicos para a entrega de fármacos através de diferentes vias de administração.

5.1.1 Nanopartículas lipídicas

5.1.1.1 Via oral

Atualmente, os medicamentos antirretrovirais têm mostrado um progresso notável no tratamento e controlo da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). A terapia combinada com medicamentos antirretrovirais, conhecida como terapia antirretroviral altamente ativa (em inglês *Highly Active Antiretroviral Therapy*), tem-se mostrado eficaz em prolongar a expectativa de vida de indivíduos com infeção pelo HIV. No entanto, essa abordagem apresenta limitações relacionadas com o facto dos fármacos terem dificuldade em atingir o SNC, órgãos genitais e sistema linfático (Gurumukhi & Bari, 2022). Como tal, torna-se essencial desenvolver estratégias inovadoras que utilizem modalidades mais eficientes para o tratamento do HIV. Vários cientistas acreditam que o direccionamento terapêutico para o sistema linfático pode melhorar significativamente a biodisponibilidade dos fármacos, promovendo a sua eficácia clínica (Gurumukhi & Bari, 2022).

O atazanavir foi selecionado para realizar um estudo clínico em doentes administrados com formulações orais do fármaco, encapsulado em NLC ou em suspensão. Embora se trate de uma molécula promissora, esta apresenta vários problemas biofarmacêuticos e toxicológicos, incluindo um rápido metabolismo de primeira passagem e efluxo mediado pela P-glicoproteína (P-gp), o que reduz significativamente a sua biodisponibilidade oral para cerca de 60%. Além disso, a sua baixa absorção e necessidade de administração frequente podem levar a toxicidade hepática, limitando as suas aplicações clínicas. Para superar esses desafios, é necessária uma estratégia inovadora de libertação que melhore a biodisponibilidade oral do atazanavir e reduza a toxicidade hepática. Nesse sentido, o estudo realizado teve como objetivo promover o direccionamento do fármaco encapsulado em NLC para o sistema linfático, como forma de melhorar a sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, a segurança (Gurumukhi & Bari, 2022).

A dose de atazanavir utilizada foi de 7,2 mg/kg e administrada em ratos Wistar machos, que foi calculada com base na conversão da dose humana equivalente para animais. O estudo incluiu três grupos experimentais, cada um com cinco ratos, perfazendo um total de quinze. O primeiro grupo recebeu uma suspensão aquosa de atazanavir, o segundo grupo foi tratado com NLC carregados com atazanavir, enquanto o terceiro grupo recebeu os NLC carregados com atazanavir após tratamento prévio com cicloxemida, um bloqueador de fluxo de quilomícrons (Gurumukhi & Bari, 2022).

O desenvolvimento de NLC envolve uma produção complexa com múltiplas etapas e diversas variáveis de formulação. Portanto, é necessária uma abordagem sistemática para alcançar as características desejadas do produto. Nesse contexto, a aplicação da QbD auxilia na identificação, compreensão e controlo das variáveis que influenciam os resultados, garantindo maior eficiência e qualidade no processo de desenvolvimento (Gurumukhi & Bari, 2022).

Inicialmente, foi definido o QTPP para a fabrico dos NLC carregados com o atazanavir com o objetivo de obter uma formulação segura e eficaz. A identificação dos CQA foi vinculada ao QTPP da formulação esperada. Os CQA identificados incluíram o tamanho de partícula (Y_1), o PDI (Y_2) e ZP (Y_3), que foram apresentados com base no entendimento e conhecimento científico dos investigadores. O QTPP e os CQA selecionados, juntamente com as devidas justificações, estão resumidos nas tabelas 1 e 2, respetivamente (Gurumukhi & Bari, 2022).

Tabela 1.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação.

QTPP	Objetivo	Justificação
Forma de dosagem	NLC liofilizados	A forma de dosagem sólida é aceite por todo o tipo de doentes, incluindo crianças.
Teor de fármaco	80-95%	Satisfaz a necessidade terapêutica e os requisitos da forma de dosagem.
Farmacocinética	Máxima em relação à referência	Atingir a máxima captação linfática de fármaco a partir do NLC, em comparação com a referência. Possibilita uma maior concentração do fármaco para atingir o objetivo terapêutico.
Estabilidade	24 meses	Manutenção da estabilidade físico-química dos NLC.

Nota. NLC: vetores lipídicos nanoestruturados (Adaptado de (Gurumukhi & Bari, 2022)).

Tabela 2.

Resumo dos atributos críticos da qualidade (CQA), limite e respetiva justificação da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.

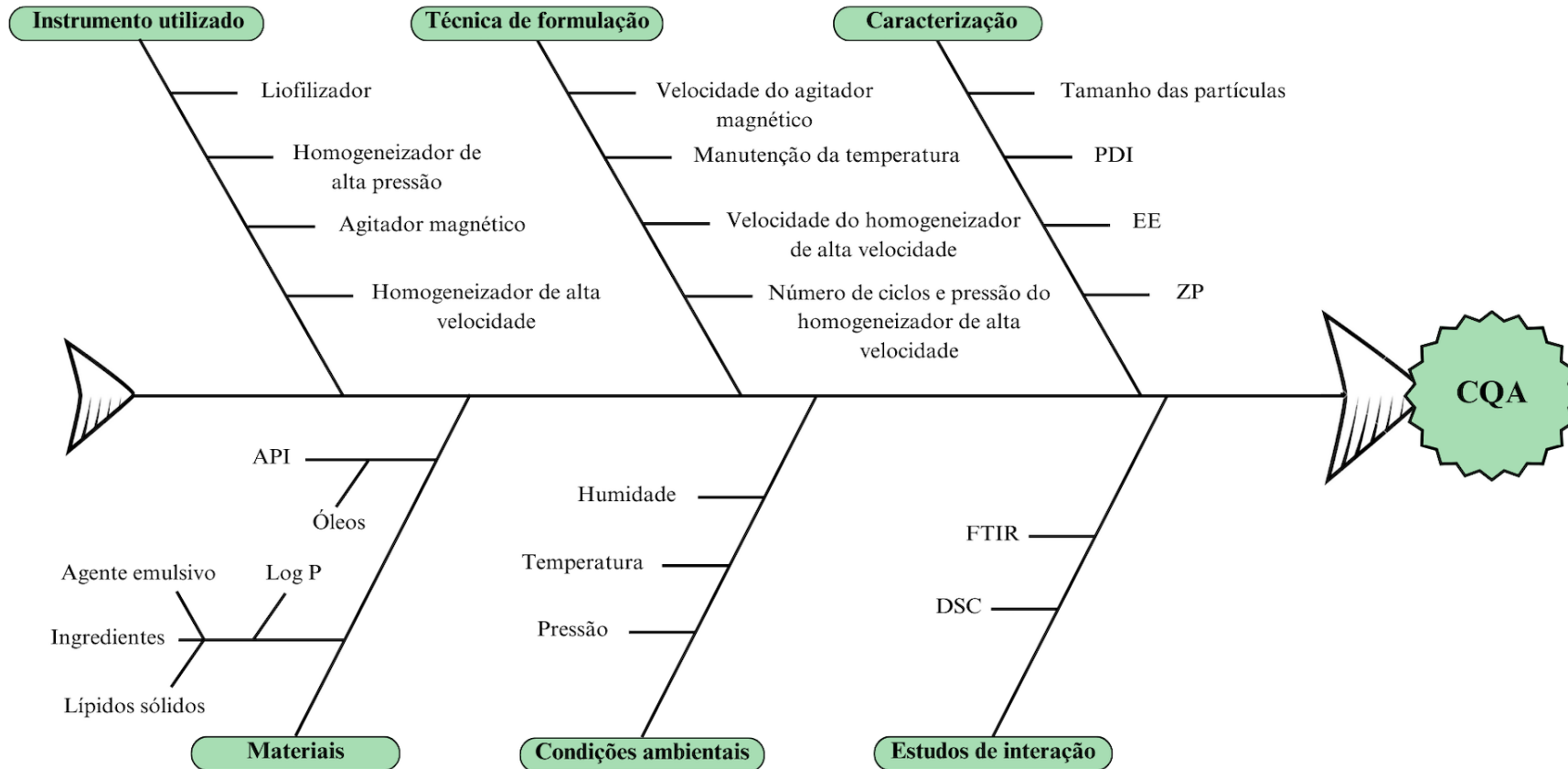
CQA	Limite	Justificações
Tamanho de partícula (Y ₁)	< 250 nm	Um tamanho de partícula menor melhora a solubilidade e facilita a absorção linfática intestinal, evitando o metabolismo de primeira passagem.
PDI (Y ₂)	< 0,3	O valor abaixo de 0,3 para o PDI implica uniformidade nos tamanhos das partículas, o que influencia a absorção e permeação.
ZP (Y ₃)	> -20 mV	O valor de ZP aproximado de +30 ou -30 indica boa estabilidade para as partículas durante o armazenamento devido às forças repulsivas.

Nota. CQA: atributos críticos da qualidade; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta (Adaptado de (Gurumukhi & Bari, 2022)).

Foi elaborado um diagrama de Ishikawa (Figura 2), para realizar a avaliação do risco, que permitiu relacionar as diversas causas e efeitos com as diferentes variáveis da formulação (Gurumukhi & Bari, 2022).

Figura 2.

Diagrama de Ishikawa que ilustra a relação causa-efeito entre os atributos críticos da qualidade (CQA) e a formulação dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.



Nota. API: ingrediente farmacêutico ativo; CQA: atributos críticos da qualidade; DSC: calorimetria diferencial de varrimento; FTIR: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier; NLC: vetores lipídicos nanoestruturados; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta; (Adaptado de (Gurumukhi & Bari, 2022)).

Utilizando o método da matriz de avaliação de risco (RAM), foram isoladas as variáveis de formulação com impacto nos CQA. Esse método destacou os diferentes níveis de risco atribuídos aos atributos dos materiais e aos parâmetros do processo (Tabela 3). Foram descartadas as variáveis com impacto baixo ou negligenciável nas respostas. O método RAM identificou as variáveis de alto risco, como os CMA, incluindo as concentrações de lípidos e de misturas de agentes emulsivos e os CPP, como a HPH, devido à influência significativa nos CQA (Gurumukhi & Bari, 2022).

Tabela 3.

Matriz de avaliação de risco (RAM) para identificar variáveis experimentais críticas no desenvolvimento da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregados com atazanavir.

Respostas		Variáveis experimentais que exibem risco						
CQA	Concentração de lípido sólido	Concentração de lípido líquido	Pressão do HPH	Concentração de Tween [®] 80	Concentração de Span [®] 20	Velocidade do agitador magnético	Velocidade do homogeneizador de alta velocidade	Condições ambientais
Tamanho da partícula	H	H	H	H	H	H	M	L
PDI	H	H	H	H	M	M	M	L
ZP	H	H	H	H	M	M	L	L
EE	H	H	H	H	H	M	L	L

Nota. Risco alto (**H**), risco médio (*M*) e risco baixo (*L*). CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação; HPH: homogeneização a alta pressão; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta. (Adaptado de (Gurumukhi & Bari, 2022)).

O estudo conseguiu formular com sucesso NLC carregados com atazanavir com uma biodisponibilidade 2,54 vezes maior do que a suspensão do fármaco puro. Esse aumento deveu-se à maior acessibilidade do fármaco ao evitar o metabolismo de primeira passagem. Além disso, a formulação otimizada apresentou uma EE de $92,12 \pm 0,32\%$, um ZP de $-11,2 \pm 0,36$ mV, indicando boa estabilidade, um tamanho de partícula de $87,19 \pm 1,09$ nm e um PDI de $0,238 \pm 0,01$, demonstrando uniformidade no tamanho das partículas. Assim, os NLC carregados com atazanavir permitiram obter uma toxicidade reduzida ou inexistente quando administrados em doses baixas e médias, constituindo assim um transportador promissor para promover a administração oral de fármacos lipofílicos (Gurumukhi & Bari, 2022).

A implementação do conceito da QbD ao longo do ciclo de vida do produto, assim como a avaliação de risco através da utilização do diagrama de Ishikawa e do RAM, permitiu minimizar o tempo de fabrico, assim como diminuir custos e garantir a qualidade e eficácia das formulações finais (Gurumukhi & Bari, 2022).

5.1.1.2 Via intranasal

O tratamento de emergência atual para a epilepsia inclui a administração intravenosa de benzodiazepinas, como o diazepam, que apresenta limitações relacionadas com a necessidade de recorrer a técnicos especializados para a administração e à baixa adesão dos doentes. Assim, é necessário desenvolver novos tratamentos eficazes e alternativos que recorram a diferentes vias de administração (Costa *et al.*, 2021).

Atualmente, existem diversas formas farmacêuticas de diazepam disponíveis no mercado, no entanto, nenhuma delas permite que o fármaco atinja o cérebro em segundos, devido à necessidade das moléculas, após chegarem à corrente sanguínea, atravessarem a barreira hematoencefálica. Além disso, estas formas farmacêuticas apresentam desvantagens, como o atraso na obtenção do efeito terapêutico (comprimidos e cápsulas orais), a incapacidade de auto-administração e a invasividade (soluções injetáveis). Nesse contexto, a via intranasal surge como uma estratégia promissora para a entrega direta e rápida de fármacos ao cérebro. Através desta via, os fármacos utilizam os nervos olfatórios e o nervo trigêmeo, localizados na parte superior da cavidade nasal, para chegarem rapidamente ao cérebro, evitando a necessidade de atravessarem a barreira hematoencefálica. Por outro lado, esta é uma via não invasiva, de fácil administração, que

evita o metabolismo hepático e a degradação ou inativação dos fármacos no trato gastrointestinal (Costa *et al.*, 2021).

O estudo conduzido por Costa *et al.*, teve como objetivo desenvolver duas formulações de NLC para a entrega de diazepam ao cérebro pela via intranasal. Foi utilizada a abordagem da QbD no fabrico dos NLC carregados com diazepam, com o objetivo de garantir a qualidade do produto final, reduzindo os riscos associados e economizando tempo (Costa *et al.*, 2021).

O primeiro passo na aplicação da QbD foi a definição do QTPP, que se baseia no objetivo terapêutico e na necessidade médica correspondente. Este foi identificado e encontra-se resumido na tabela 4 (Costa *et al.*, 2021).

Tabela 4.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação de vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) carregada com diazepam.

QTPP	Objetivo	Justificação
Via de administração	Intranasal	Permite a rápida passagem do fármaco diretamente para o cérebro, evitando a necessidade de atravessar a barreira hematoencefálica.
Uso clínico	Terapia de emergência da epilepsia	O diazepam é uma benzodiazepina com atividade ansiolítica, relaxante muscular e anticonvulsivante.
Sistema de libertação do fármaco	NLC	Os NLC protegem as moléculas de diazepam e apresentam tamanhos < 200 nm, promovendo a passagem direta para o cérebro pelos nervos olfativos e do nervo trigêmeo.
Forma farmacêutica	Dispersão aquosa	Facilita a aplicação nasal por meio de um dispositivo spray.
Dose	5 mg/mL	Dose terapêutica.

Nota. QTPP: perfil do produto alvo da qualidade (Adaptado de (Costa *et al.*, 2021)).

Em seguida, foram estabelecidos os CQA da formulação, que têm grande impacto na segurança, eficácia e qualidade do produto final. Posteriormente, foram definidos os CMA, relacionados com os componentes da formulação, e os CPP, associados aos parâmetros instrumentais dos métodos de produção (Costa *et al.*, 2021).

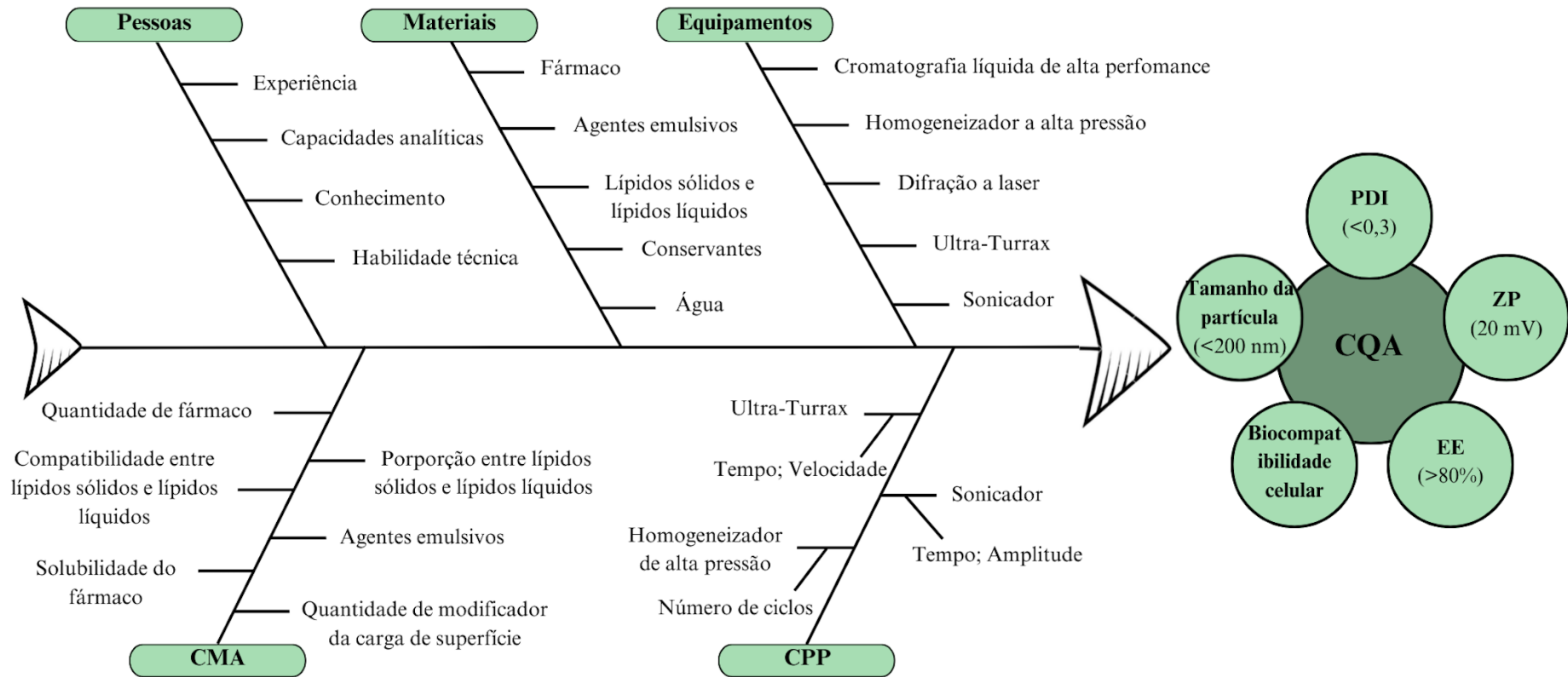
Os CMA identificados incluíram a proporção entre lípidos sólidos e líquidos, a proporção de agentes emulsivos e a quantidade de estearilamina (Costa *et al.*, 2021).

Os CPP selecionados foram a velocidade e tempo de homogeneização com Ultra-turrax® e o número de ciclos de homogeneização no HPH e amplitude e tempo de sonicação, para a técnica dos ultrassons (Costa *et al.*, 2021).

Foi elaborado um DoE utilizando um diagrama de Ishikawa (Figura 3), que ilustra as etapas críticas da produção dos NLC que afetam os CQA (Costa *et al.*, 2021).

Figura 3.

Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da formulação dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC).



Nota. CMA: atributos críticos dos materiais; CPP: análise dos parâmetros críticos de processo; CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta (Adaptado de (Costa *et al.*, 2021)).

Uso da *quality-by-design* no desenvolvimento de formulações de nanossistemas lipídicos

Adicionalmente, foi elaborada uma matriz de avaliação de risco (Tabela 5) para avaliar o grau de risco dos CMA e CPP sobre os CQA da formulação final de NLC carregados com diazepam (Costa *et al.*, 2021).

Tabela 5.

Matriz de avaliação de risco (RAM) das variáveis independentes - atributos materiais críticos (CMA) e parâmetros críticos de processo (CPP) - nas respostas (atributos críticos da qualidade (CQA)).

		CMA			CPP (HPH)			CPP (UT)			
		Razão SL:LL	Razão E1:E2	Quantidade de SA	Rpm	Minutos	Número de ciclos	rpm	Minuto 1	Amp.	Minuto 2
CQA	Z-Ave	H	H	H	M	M	H	M	M	H	M
	PDI	H	H	H	M	M	H	M	M	H	M
	ZP	M	H	H	L	L	L	L	L	L	L
	EE	H	M	M	L	L	L	L	L	L	L

Nota. Risco alto (**H**), risco médio (**M**) e risco baixo (**L**); Amp: Amplitude; CMA: atributos críticos dos materiais; CPP: análise dos parâmetros críticos de processo; EE: eficácia de encapsulação; E1: Tween® 80; E2: deoxicolato de sódio; HPH: homogeneização de alta pressão; LL: Cetiol® V; PDI: índice de polidispersão; RAM: matriz de avaliação de risco; rpm: rotações por minuto; SA: estearilamina; SL: Precirol® 5 ATO; UT: técnica dos ultrassons; Z-Ave: tamanho médio de partícula; ZP: potencial zeta. (Adaptado de (Costa *et al.*, 2021)).

A otimização das formulações de NLC carregadas com diazepam foi dividida em três etapas. Na primeira etapa, foram avaliados os CMA relacionados com a proporção de lípidos sólidos e de lípidos líquidos e a proporção de agentes emulsivos. Na segunda etapa, foram avaliados os CPP, utilizando dois métodos diferentes para a produção dos NLC: a técnica dos ultrassons e a HPH (Costa *et al.*, 2021). Por fim, na terceira etapa, um lípido catiónico (estearilamina) substituiu o agente emulsivo aniónico na formulação de NLC carregados com diazepam, resultante das otimizações anteriores das CMA e dos CPP. O objetivo da terceira otimização foi alterar a carga superficial negativa da formulação de NLC carregadas com diazepam para uma carga superficial positiva, uma vez que estudos indicam que formulações nasais devem possuir carga positiva para interagir com a mucina de carga negativa presente no muco nasal. Formulações com carga negativa, por outro lado, não interagem de forma eficaz com o muco (Costa *et al.*, 2021).

A incorporação de diazepam nos NLC originou uma libertação prolongada do fármaco. As formulações otimizadas apresentaram resultados distintos em relação à EE, tamanho de partícula, PDI e ZP. A formulação com carga superficial negativa (F1C15) alcançou uma EE de $96,60 \pm 0,03\%$, um tamanho de partícula de $69,59 \pm 0,22$ nm, um PDI de $0,19 \pm 0,00$ e um ZP de $-23,50 \pm 0,24$ mV. Por outro lado, a formulação com carga superficial positiva (F2A8) apresentou uma EE de $95,76 \pm 0,24\%$, um tamanho de partícula de $124,40 \pm 0,84$ nm, um PDI de $0,17 \pm 0,01$ e um ZP de $+32,60 \pm 1,13$ mV. Após 90 dias de armazenamento, não foram observadas mudanças significativas no tamanho de partícula, PDI, ZP e EE para a formulação F1C15, evidenciando maior estabilidade, enquanto a formulação F2A8 demonstrou um aumento significativo no tamanho de partícula. Estes resultados reforçam a estabilidade da formulação F1C15, bem como suas características desejáveis para a administração nasal e transporte eficaz do diazepam ao cérebro (Costa *et al.*, 2021).

No estudo de Costa *et al.*, as formulações de NLC carregadas com diazepam foram otimizadas com sucesso utilizando a abordagem da QbD. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que o QbD é uma ferramenta fundamental para otimizar o fabrico de NLC com critérios críticos de qualidade predefinidos, desempenhando um papel importante de garantir a qualidade das formulações (Costa *et al.*, 2021).

5.1.1.3 Administração cutânea

A arginina atua como precursor fisiológico na síntese de óxido nítrico, desempenhando um papel essencial em mecanismos regulatórios como a proliferação celular e a angiogênese. Através da ação da enzima óxido nítrico sintase, a arginina é convertida em óxido nítrico e L-citrulina. Quando libertado pelas células endoteliais, o óxido nítrico ativa a enzima guanilato ciclase nas células musculares lisas, aumentando os níveis de monofosfato de guanosina cíclico, o que resulta num relaxamento muscular. O óxido nítrico também promove vasodilatação e a abertura de canais de potássio, aumentando o fluxo sanguíneo local e estimulando o crescimento capilar. Além disso, os caminhos metabólicos da L-arginina resultam na formação de ornitina, que é convertida em L-prolina. A L-prolina é essencial para a síntese de proteínas estruturais, como o colagénio. Como tal, a suplementação de L-arginina desempenha um papel crucial na cicatrização de feridas, devido à estimulação da proliferação celular e ao metabolismo do colagénio em humanos e roedores (Patel *et al.*, 2021).

Patel *et al.*, aplicaram a QbD no desenvolvimento de SLN, contendo L-arginina, como constituintes de um sistema inovador de libertação de fármacos para administração cutânea da molécula (Patel *et al.*, 2021).

Na fase inicial de desenvolvimento das SLN, foi definido o QTPP, estabelecendo os critérios de qualidade desejados para o produto final. Como tal, as tabelas 6 e 7 apresentam, respetivamente, o QTPP e os CQA da formulação de SLN carregadas com L-arginina, estabelecidos considerando o tipo de formulação (Patel *et al.*, 2021).

Tabela 6.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação de nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) carregados com L-arginina.

QTPP	Objetivo	Justificação
Tipo de doente	Adulto e geriátrico	Calvície ou melhoria da pele.
Via de administração	Cutânea/tópica	Proporciona um sistema de libertação de fármacos direcionado.
Forma de dosagem	Bólus liofilizado de cor branca-amarelada que pode ser facilmente reconstituído	Estabilidade a longo prazo.
Estabilidade	Pelo menos 6 meses de estabilidade na forma liofilizada	Garante eficácia e qualidade do produto ao longo do ciclo de vida.
Sistema de fecho do recipiente	Adequado para produtos farmacêuticos	Mantêm a integridade do produto durante a sua vida útil.

Nota. QTPP: perfil do produto alvo da qualidade (Adaptado de (Patel *et al.*, 2021)).

Tabela 7.

Atributos críticos da qualidade (CQA), objetivos e respetiva justificação para a formulação de nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) carregadas com L-arginina.

CQA	Objetivo	Justificação
Tamanho de partícula	< 500 nm	Atravessar o estrato córneo.
EE	8-10 %	Reduzir a dose a ser administrada ao doente.

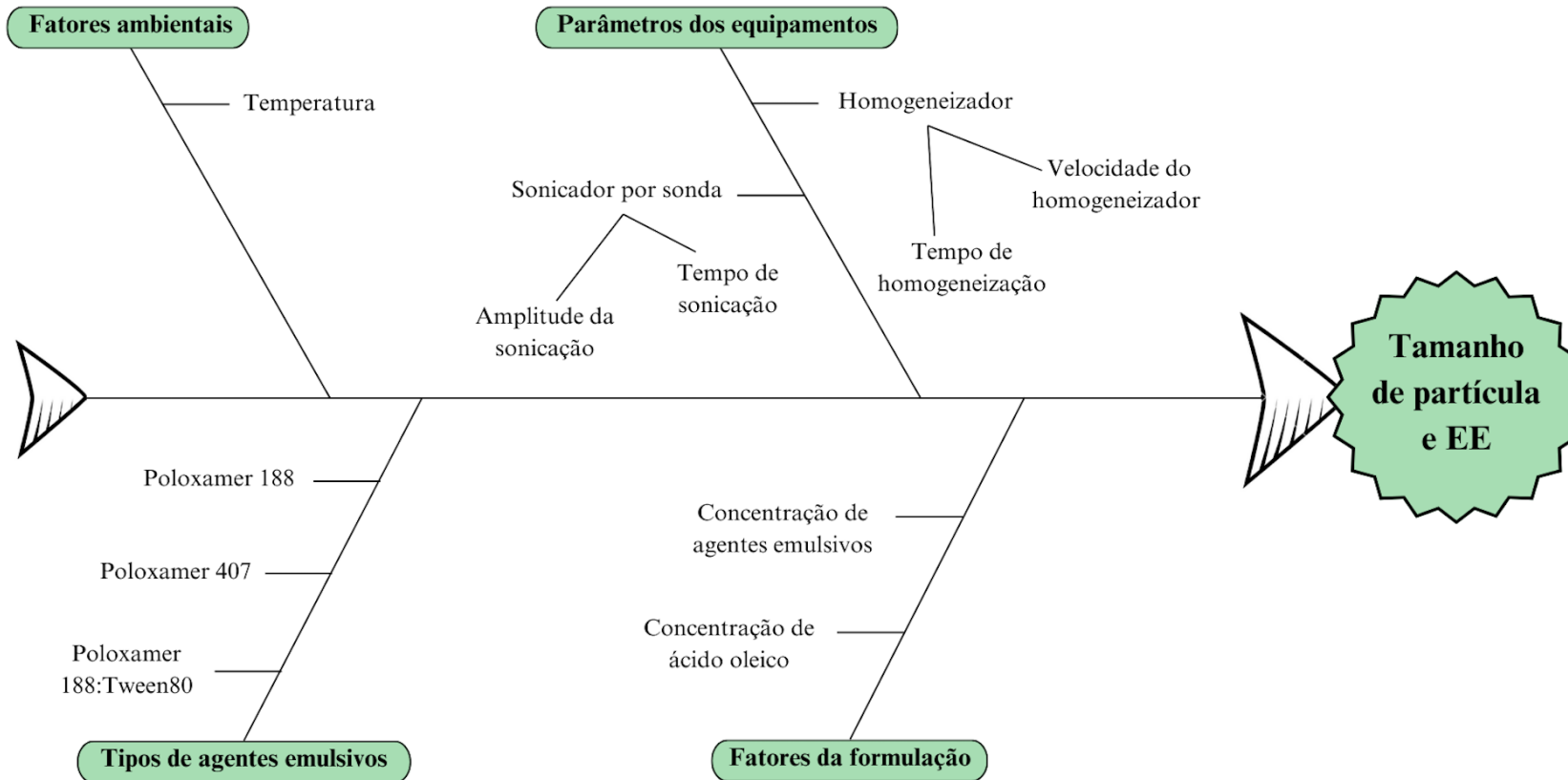
Nota. CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação (Adaptado de (Patel *et al.*, 2021)).

Foi, posteriormente, realizada uma gestão de risco que envolveu a identificação, análise e adoção de medidas preventivas para evitar falhas na qualidade do produto. Para tal, foram utilizadas ferramentas como o diagrama de Ishikawa, análise dos modos, FMEA e análise de riscos para classificar os CPP e os CMA de acordo com o risco associado à qualidade do produto final (Patel *et al.*, 2021).

Recorreu-se ao diagrama de Ishikawa, que se pode observar na figura 4, com o objetivo de obter uma melhor compreensão acerca da influência dos CPP sobre os parâmetros instrumentais dos métodos de produção e dos CMA sobre os componentes da formulação (Patel *et al.*, 2021).

Figura 4.

Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da formulação para nanopartículas de lípidos sólidos (SLN).



Nota. EE: eficácia de encapsulação (Adaptado de (Patel *et al.*, 2021)).

Para aprofundar a análise, foi aplicada a metodologia FMEA, que envolve a avaliação e priorização dos modos de falha nos atributos que podem comprometer a qualidade do produto (Patel *et al.*, 2021).

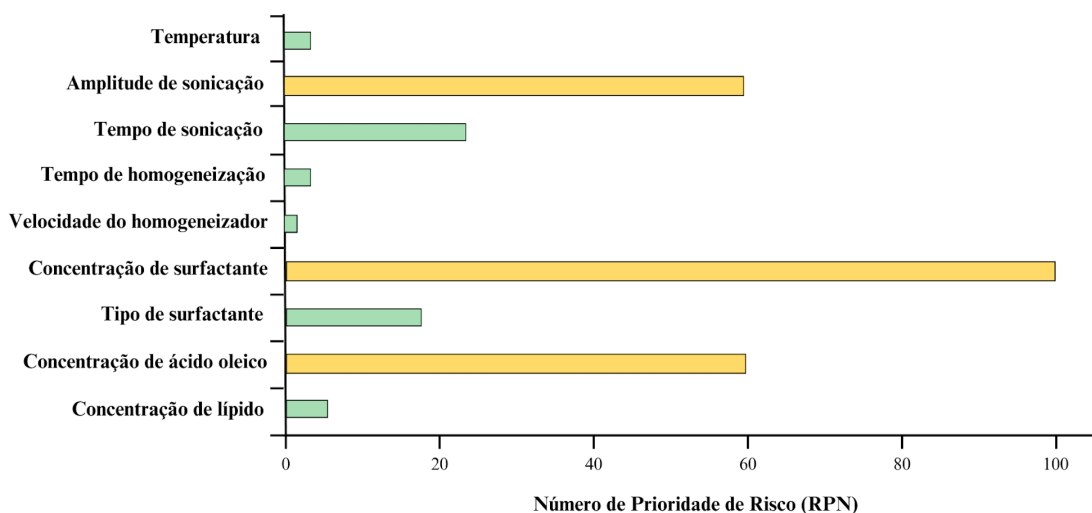
A abordagem FMEA baseia-se em três critérios principais: ocorrência (O), detetabilidade (D) e severidade (S). Esses parâmetros foram avaliados utilizando uma escala de 1 a 5 para cada CPP e CMA. Com base nessas avaliações, foi calculado o número de prioridade de risco (*Risk Priority Number* - RPN) e os fatores com classificação mais alta foram analisados nos testes preliminares para identificar as potenciais falhas e estabelecer estratégias para a sua minimização (Patel *et al.*, 2021).

Os CPP e CMA que apresentaram os maiores valores de RPN foram a concentração do surfactante e de ácido oleico e a amplitude de sonicação (Patel *et al.*, 2021).

Conforme se pode verificar no gráfico 1, esses parâmetros exibiram valores elevados, tendo sido selecionados para ensaios preliminares adicionais. Por outro lado, os CPP e os CMA que apresentaram valores mais baixos de RPN foram mantidos constantes durante todo o processo de desenvolvimento da formulação (Patel *et al.*, 2021).

Gráfico 1.

Análise dos parâmetros críticos de processo (CPP) e dos atributos críticos dos materiais (CMA) a partir do número de prioridade de risco (RPN), pelo método da análise de modos e efeitos de falha (FMEA).



Nota. Adaptado de (Patel *et al.*, 2021).

As SLN carregadas com L-arginina apresentaram valores diferentes de EE, tamanho, PDI e ZP, dependendo das condições de formulação. A EE variou entre $56,08\% \pm 0,12$ e $72,70\% \pm 0,12$, influenciada pelas concentrações de surfactantes e de ácido oleico utilizadas, enquanto os tamanhos variaram entre $197,5 \pm 1,4$ nm e $630,7 \pm 0,21$ nm e o PDI oscilou entre $0,427 \pm 0,02$ e $0,678 \pm 0,14$, indicando boa estabilidade e uniformidade em alguns lotes. O ZP da formulação otimizada foi de $-19,2 \pm 0,5$ mV, o que reflete estabilidade coloidal adequada e baixa propensão à agregação. Esses resultados reforçam a importância dos CPP, como a concentração de surfactantes e a amplitude de sonicação, na obtenção de SLN estáveis e eficazes (Patel *et al.*, 2021).

O estudo destacou a importância da QbD no desenvolvimento de um sistema de liberação de fármacos, permitindo reduzir o número de ensaios experimentais através da aplicação de modelos preditivos desenvolvidos com o software do DoE (Patel *et al.*, 2021).

De acordo com o conceito da QbD, a combinação do método FMEA com o plano experimental mostrou-se apropriada para a otimização dos parâmetros críticos que afetam o QTPP (Patel *et al.*, 2021).

5.1.2. Nanoemulsões

5.1.2.1 Administração oral

A gota é causada por uma condição conhecida como hiperuricemia, caracterizada por um depósito excessivo de ácido úrico nas articulações, resultando em dores intensas para o doente. A hiperuricemia é considerada um fator de risco para doentes com níveis séricos de urato superiores a 6,8 mg/dL, devido à formação de cristais de urato monossódico (Gurumukhi *et al.*, 2023).

O febuxostat é tipicamente recomendado para reduzir os níveis de urato em doentes que sofrem de gota, uma vez que se trata de um potente e inovador inibidor seletivo da xantina oxidase, não purínico, administrado oralmente. Caracteriza-se por ser um ácido fraco, com valor de pKa 3,08, apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade. No entanto, a sua biodisponibilidade oral é prejudicada devido ao efeito de primeira passagem, e a sua concentração é reduzida em 38–39% na presença de alimentos, o que limita aplicações clínicas deste composto (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade oral, foi considerada a possibilidade de utilizar as NE como veículo para entrega do febuxostat (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Como tal, foi preparada uma NE carregada com febuxostat utilizando o método da microemulsificação com sonda de ultrassons. Foi usada a QbD com vista a obter um planeamento sistemático, maior facilidade na identificação e controlo de variáveis críticas e otimização do processo de fabrico (Gurumukhi *et al.*, 2023).

O desenvolvimento das NE foi iniciado definindo o QTPP com uma abordagem centrada no doente. Na tabela 8 são apresentados vários fatores associados ao QTPP e as devidas justificações (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Tabela 8.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat.

QTPP	Objetivo	Justificação
Forma farmacêutica	NE	A forma líquida é a escolha preferida para adultos e crianças.
Tipo de libertação	Libertação prolongada	Potencial de absorção superior é possível com libertação prolongada
Via de administração	Oral	Via preferida por todos, incluindo adultos e crianças.
EE	85-95%	Para manter a dose terapêutica.
Libertação do fármaco	Mais de 85%	Necessário para uma terapia eficaz e melhoria da biodisponibilidade do fármaco.
Farmacocinética	$C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ e AUC	A concentração plasmática atingida ao longo do tempo proporciona maior taxa de absorção do fármaco.
Estabilidade	12 meses	O potencial terapêutico do fármaco na nanoemulsão permanece estável durante o período de armazenamento.

Nota. AUC: área sob a curva; $C_{m\acute{a}x}$: concentração plasmática máxima; QTPP: perfil do produto alvo da qualidade; $T_{m\acute{a}x}$: tempo necessário para atingir a concentração máxima (Adaptado de (Gurumukhi *et al.*, 2023)).

A tabela 9 resume os CQA da NE carregada com febuxostat, incluindo o tamanho das gotículas, o PDI, o ZP e a EE que foram considerados como respostas para as variáveis experimentais (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Tabela 9.

Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat e respectivas justificações.

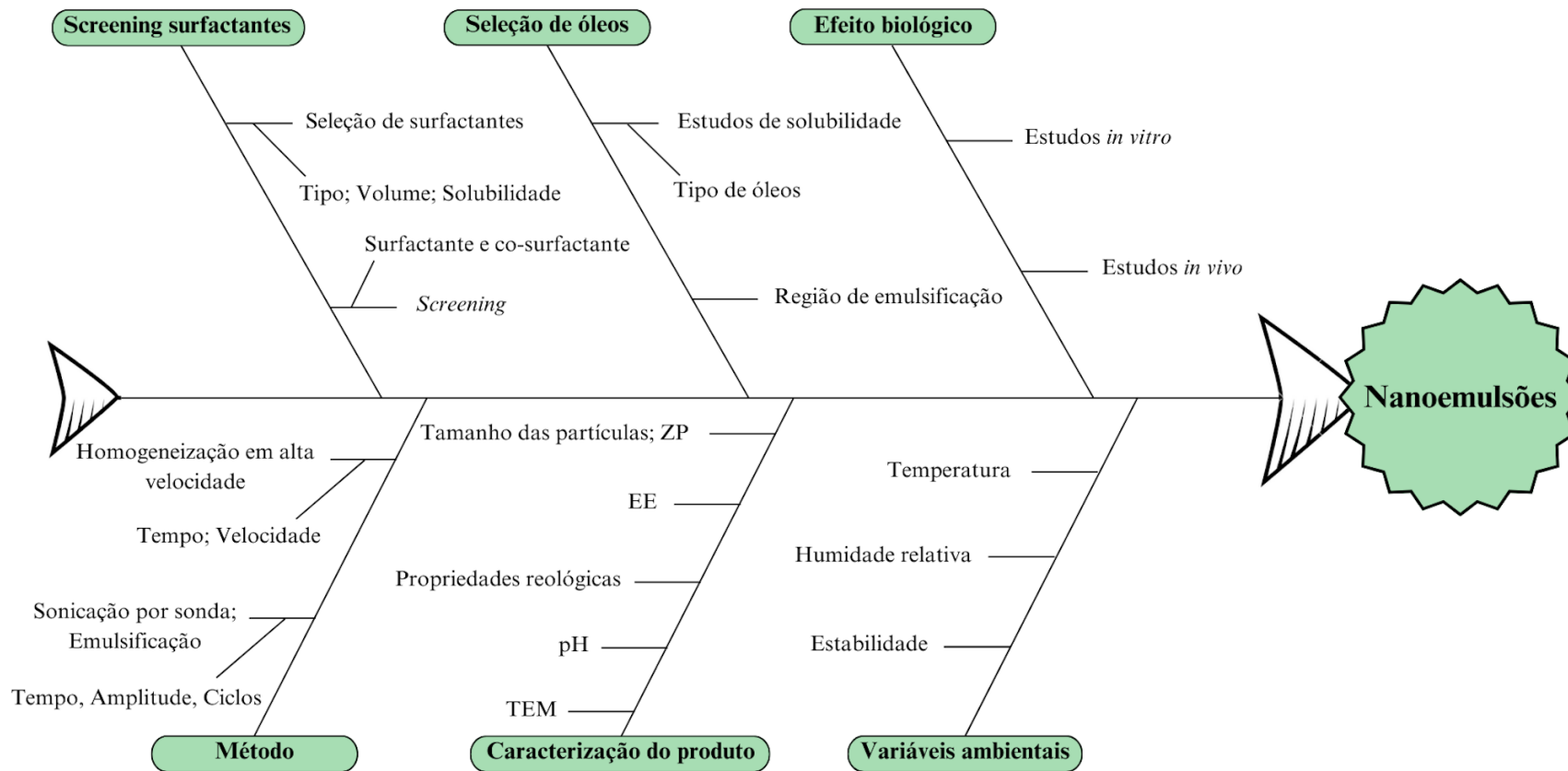
CQA	Alvo	É um CQA?	Justificação
Atributos físicos	Cor aceitável pelo doente e sem odor desagradável	Não	Cor e odor têm fatores de risco insignificantes que não afetam diretamente o desempenho da NE.
Tamanho das gotículas	< 200 nm	Sim	Um tamanho menor de gotículas apresenta elevada área de superfície, o que promove a absorção no trato gastrointestinal, melhorando a biodisponibilidade oral.
ZP	> -20 mV	Sim	O valor do ZP está relacionado com estabilidade da NE.
EE	>80%	Sim	A EE é uma característica importante na formulação de NE pois mantém a quantidade máxima do fármaco.
PDI	< 0,3	Sim	Para uma distribuição uniforme das gotículas da NE o valor do PDI deve ser inferior a 0,3.

Nota. CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação; NE: nanoemulsão; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta (Adaptado de (Gurumukhi *et al.*, 2023)).

Os fatores experimentais envolvidos no desenvolvimento da NE carregada com febuxostat foram identificados através do diagrama de Ishikawa (Figura 5) (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Figura 5.

Diagrama de Ishikawa que relaciona os efeitos dos atributos críticos dos materiais (CMA) e dos atributos críticos do processo (CPP) nos atributos críticos da qualidade (CQA), para a otimização da nanoemulsão (NE) carregada com febuxostat.



Nota. EE: eficácia de encapsulação, TEM: Microscopia eletrónica de transmissão; ZP: potencial zeta (Adaptado de (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Os fatores que apresentam risco e afetam as respostas foram estudados utilizando a FMEA com base na pontuação RPN. A fórmula para a pontuação RPN foi determinada pelo produto entre gravidade, ocorrência e detecção (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Com base nessa pontuação, os CPP e CMA foram estudados utilizando um DoE e o modelo de *Box-Behnken*, para investigar a sua influência sobre os CQA (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Os parâmetros das formulações de NE carregadas com febuxostat foram cuidadosamente otimizados para garantir eficiência e estabilidade. A EE variou entre $78,32 \pm 0,19\%$ e $94,32 \pm 1,02\%$ em diferentes lotes, com a formulação otimizada alcançando um valor de $89,88 \pm 0,23\%$. O PDI inicial foi de $0,126 \pm 0,02$ e apresentou um ligeiro aumento para $0,289 \pm 0,02$, após 6 meses de armazenamento, indicando uma ligeira variação na dispersão das gotículas ao longo do tempo. O ZP variou de $-11,8 \pm 0,91$ mV a $-39,5 \pm 1,32$ mV, tendo a formulação otimizada apresentado um valor de $-25,86 \pm 1,36$ mV, demonstrando boa estabilidade coloidal. Já o tamanho das partículas variou entre $34,85 \pm 1,04$ nm e $108,5 \pm 1,01$ nm, com a formulação otimizada a apresentar gotículas de $47,84 \pm 0,14$ nm, garantindo uma elevada área de superfície e eficiência na libertação do fármaco. Estes resultados demonstram que a NE carregada com febuxostat foi otimizada com sucesso utilizando a abordagem da QbD (Gurumukhi *et al.*, 2023).

Em suma, o desenvolvimento baseado na QbD provou ser uma abordagem económica e eficiente. Além disso, a NE mostrou ser um veículo promissor para a entrega do febuxostat, podendo ser facilmente produzida na escala industrial (Gurumukhi *et al.*, 2023).

5.1.2.2 Administração oftálmica

O glaucoma é um distúrbio relacionado com a visão, caracterizado por uma elevada pressão intraocular, que desgasta progressivamente as células ganglionares da retina, o que resulta na perda total da visão e cegueira irreversível. A detecção do glaucoma num estado inicial é muito improvável, pelo que é extremamente importante que exista um tratamento eficaz. Utilizar a timoquinona como agente terapêutico para o glaucoma, aproveitando a sua capacidade neuroprotetora, para além das suas características antioxidantes e anti-inflamatórias, pode ser uma excelente opção. No entanto,

desenvolver uma formulação aquosa simples de timoquinona não é viável devido à sua elevada lipofilia (Srivastava *et al.*, 2024).

No sentido de ultrapassar essa dificuldade, foi desenvolvida uma NE carregada com timoquinona, com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade e permeabilidade ocular do fármaco. Além das NE serem cineticamente estáveis, o tamanho reduzido das gotículas oferece uma área substancial de contato com a córnea. Adicionalmente, a presença de surfactantes facilita a mistura das nanogotículas com os componentes pré-corneanos, resultando numa dispersão mais uniforme do fármaco através da córnea (Srivastava *et al.*, 2024).

Foi usada a QbD no desenvolvimento da NE carregada com timoquinona. Na tabela 10 estão resumidos os elementos do QTPP e as devidas justificações.

Tabela 10.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com timoquinona.

QTPP	Objetivo	Justificação
Sistema de entrega do fármaco	NE	Ideal para melhorar a permeabilidade e biodisponibilidade ocular do fármaco.
Tipo de libertação	Prolongada	Reduzir a frequência de administração.
Via de administração	Ocular	Escolha preferida para tratar glaucoma diretamente no local afetado.
EE	> 90%	Garante um efeito terapêutico eficaz.
Libertação do fármaco	Mais de 85% em 12 horas	Necessário para uma terapia eficaz e biodisponibilidade melhorada.
Farmacodinâmica	Redução da pressão intraocular até 39%	Necessário para eficácia no tratamento do glaucoma.
Estabilidade	Estável após ciclos térmicos e diluições	Garante eficácia e segurança durante o armazenamento e entre administrações.

Nota. EE: eficácia de encapsulação; NE: nanoemulsão; QTPP: perfil do produto alvo da qualidade (Adaptado de (Srivastava *et al.*, 2024)).

Foi realizada uma avaliação de risco para identificar os CPP e a sua influência nos CQA (identificados na Tabela 11). Esta análise foi realizada por meio do ajuste de equações de regressão para cada CQA, bem como através do uso de gráficos de contorno. A metodologia de superfície de resposta foi empregue para otimizar a nanoemulsão (Srivastava *et al.*, 2024).

Tabela 11.

Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com timoquinona e respectivas justificações.

CQA	Justificação
Tamanho de gotícula	Abaixo de 200 nm para melhorar a permeabilidade e estabilidade.
PDI	Valor abaixo de 0,2 para garantir homogeneidade e estabilidade física.
ZP	Próximo da neutralidade para evitar interações adversas com o epitélio ocular.
EE	Acima de 99% para garantir a encapsulação total e liberação prolongada do fármaco.
pH e osmolaridade	Compatíveis com o fluido lacrimal (pH~6,2 e 302 mOsm/kg) para minimizar irritações.

Nota. CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta (Adaptado de (Srivastava *et al.*, 2024)).

A NE foi otimizada através de um DoE que usou o modelo Box-Behnken com quatro variáveis independentes: concentração de óleo, concentração da mistura de surfactantes, velocidade de agitação e taxa de adição da fase aquosa à fase oleosa (mL/min). O impacto dessas variáveis independentes foi estimado em relação às variáveis dependentes: tamanho da gotícula, PDI e EE (Srivastava *et al.*, 2024).

A formulação otimizada apresentou um tamanho médio de gotícula de $29,10 \pm 0,87$ nm, e um PDI de $0,096 \pm 0,03$, que constituem valores adequados para a permeação corneana e sugerem uma distribuição uniforme das gotículas. O ZP foi de $-3,64 \pm 0,04$ mV, um valor ligeiramente negativo que favorece a estabilidade a longo prazo e contribui para a permeação ocular, ao repelir a camada de mucina carregada negativamente. A EE foi de $99,56 \pm 0,43\%$, demonstrando uma encapsulação quase completa do fármaco na NE. Esses resultados destacam a eficácia e a segurança da NE desenvolvida, como uma formulação promissora para o tratamento do glaucoma (Srivastava *et al.*, 2024).

A formulação oftálmica demonstrou uma capacidade significativa para tratar o glaucoma, apresentando uma liberação prolongada do fármaco até 10 horas, com uma permeação 19 vezes maior do que a solução livre de fármaco (Srivastava *et al.*, 2024).

A aplicação da QbD através do uso do DoE com o modelo Box-Behnken permitiu otimizar a formulação de NE carregada com timoquinona, selecionando os valores ideais da concentração de óleo e mistura de surfactantes, a velocidade de agitação e a taxa de adição da fase aquosa (Srivastava *et al.*, 2024).

5.1.2.3 Administração transdérmica

O tartarato de tolterodina é um fármaco antimuscarínico seletivo utilizado para controlar a bexiga hiperativa, urgência urinária e incontinência, que apresenta melhores resultados em comparação com fármacos não seletivos, particularmente em crianças, idosos e doentes com insuficiência renal (Ramzan *et al.*, 2024).

A administração oral tartarato de tolterodina está associada a vários efeitos adversos, além de apresentar uma concentração plasmática variável. Nesse sentido, a via transdérmica tem sido explorada como uma alternativa à via oral, devido às suas vantagens, incluindo a segurança, possibilidade de ajuste de dose, ausência de metabolismo hepático e desconforto intestinal (Ramzan *et al.*, 2024).

Ramzan *et al.*, exploram o uso de um *software* (HSPiP) e da QbD para o desenvolvimento de uma NE catiónica transportando tartarato de tolterodina, destinada à aplicação transdérmica. O *software* HSPiP é um programa preditivo que classifica os solventes como "maus" ou "bons", dependendo da solubilidade de um soluto num determinado solvente, a uma temperatura fixa (Ramzan *et al.*, 2024).

Foi usada a QbD no desenvolvimento da NE carregada com tartarato de tolterodina. Na tabela 12 estão resumidos os elementos do QTPP e as devidas justificações.

Tabela 12.

Resumo do perfil do produto alvo da qualidade (QTPP), objetivo e respetiva justificação da formulação da nanoemulsão (NE) carregada com tartarato de tolteterodina.

QTPP	Objetivo	Justificação
Forma farmacêutica	NE catiónica	Escolhida para melhorar a permeação cutânea e reduzir os efeitos adversos sistêmicos.
Tipo de libertação	Prolongada	Prolonga o tempo de libertação para melhorar a eficácia e reduzir a frequência de dosagem.
Via de administração	Transdérmica	Alternativa segura e eficaz para evitar efeitos adversos associados à administração oral.
EE	> 85%	Garante a elevada encapsulação do fármaco e estabilidade.
Libertação do fármaco	Libertação prolongada até 24 horas	Necessário para terapia eficaz e menor impacto metabólico.
Estabilidade	Estável após ciclos térmicos e armazenamento	Garante consistência e eficácia do produto final.

Nota. EE: eficácia de encapsulação; NE: nanoemulsão; QTPP: perfil do produto alvo da qualidade

Foi usado um DoE e o modelo *central composite design* com o objetivo de otimizar a composição da formulação tendo como base os CQA (Tabela 13), garantindo que a formulação atendessem aos objetivos terapêuticos e às exigências de segurança e eficácia (Ramzan *et al.*, 2024).

Tabela 13.

Atributos críticos da qualidade (CQA) para a nanoemulsão (NE) carregada com com tartarato de tolteterodina e respetivas justificações.

CQA	Justificação
Tamanho de gotícula	Menor que 200 nm para melhorar a permeação e biodisponibilidade transdérmica.
PDI	Valor baixo (< 0,3) para garantir homogeneidade e estabilidade física da NE.
ZP	Superior a 30 mV para assegurar estabilidade coloidal e facilitar a interação com a superfície cutânea.
EE	> 87% para garantir uma encapsulação eficiente e uma libertação do fármaco.
Viscosidade	Ótima (47,19 cP) para facilitar a aplicação transdérmica.
Capacidade e expulsão do recipiente	Alta (96%) para garantir facilidade de uso durante a aplicação clínica.

Nota. CQA: atributos críticos da qualidade; EE: eficácia de encapsulação; NE: nanoemulsão; PDI: índice de polidispersão; ZP: potencial zeta

A formulação apresentou um tamanho médio de gotícula de $174,2 \pm 2,8$ nm e um PDI de $0,27 \pm 0,03$, indicando uma boa permeação transdérmica e uniformidade nos tamanhos. O ZP foi de $+31,1 \pm 1,7$ mV, demonstrando elevada estabilidade coloidal e potencial para interagir eficientemente com a superfície cutânea. A EE foi de 87,2%, evidenciando uma incorporação eficaz do fármaco na NE (Ramzan *et al.*, 2024).

O uso da QbD facilitou a otimização da NE catiónica carregada com tartarato de tolterodina para administração transdérmica, proporcionando uma liberação prolongada do fármaco. Foram otimizadas as concentrações ideais de cada componente da formulação, considerando aspectos de segurança e biocompatibilidade (Ramzan *et al.*, 2024).

6. Conclusão

Esta dissertação evidenciou o uso da QbD como uma estratégia fundamental para o desenvolvimento e otimização de formulações de nanossistemas lipídicos. A metodologia demonstrou ser uma ferramenta eficaz para garantir a qualidade, segurança e eficácia dos produtos farmacêuticos, atendendo às exigências regulatórias e facilitando a transferência do processo para uma escala industrial.

A aplicação da QbD permitiu estabelecer uma abordagem estruturada no desenvolvimento das formulações, iniciando-se pela definição do QTPP, seguido pela identificação dos CQA, diretamente relacionados com os CMA e os CPP. Ferramentas como o diagrama de Ishikawa e a FMEA foram fundamentais para identificar e controlar fatores de risco, minimizando variabilidades e otimizando os processos produtivos.

Além disso, o uso do DoE revelou-se crucial para analisar os efeitos individuais e combinados das variáveis envolvidas, permitindo um desenvolvimento mais rápido e eficaz das formulações.

Os nanossistemas lipídicos, incluindo os SLN, NLC e NE, destacaram-se como sistemas promissores para a entrega sustentada e direcionada de fármacos.

A análise de diferentes estudos onde foram contempladas variadas vias de administração de formulações à base de nanossistemas lipídicos demonstrou que a aplicação da QbD no seu desenvolvimento proporciona maior reprodutibilidade, eficiência e robustez nos processos de produção, garantindo que as formulações desenvolvidas respondem aos requisitos de qualidade e eficácia exigidos.

Conclui-se assim, que a implementação da QbD representa uma solução promissora para o desenvolvimento de nanossistemas lipídicos, destacando-se como uma estratégia eficiente e inovadora para a nanotecnologia farmacêutica, com grande potencial para impulsionar novas terapias e melhorar os resultados clínicos, ao mesmo tempo que são reduzidos os custos dos processos de produção.

7. Bibliografia

- Akel, H., Ismail, R., & Csoka, I. (2020). Progress and perspectives of brain-targeting lipid-based nanosystems via the nasal route in Alzheimer's disease. *Eur J Pharm Biopharm*, 148, 38-53. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.12.014>
- Correia, A. C., Costa, I., Silva, R., Sampaio, P., Moreira, J. N., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2024). Design of experiment (DoE) of mucoadhesive valproic acid-loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for potential nose-to-brain application. *Int J Pharm*, 664, 124631. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124631>
- Correia, A. C., Moreira, J. N., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2023). Design of experiment (DoE) as a quality by design (QbD) tool to optimise formulations of lipid nanoparticles for nose-to-brain drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*, 20(12), 1731-1748. <https://doi.org/10.1080/17425247.2023.2274902>
- Costa, C. P., Cunha, S., Moreira, J. N., Silva, R., Gil-Martins, E., Silva, V., Azevedo, L., Peixoto, A. F., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2021). Quality by design (QbD) optimization of diazepam-loaded nanostructured lipid carriers (NLC) for nose-to-brain delivery: Toxicological effect of surface charge on human neuronal cells. *Int J Pharm*, 607, 120933. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120933>
- Costa, C. P., Cunha, S., Peixoto, A. F., Moreira, J. N., Lobo, J. M. S., & Silva, A. C. (2020). Application of the Quality-by-Design (QbD) Approach to Improve the Nose-to-Brain Delivery of Diazepam-Loaded Nanostructured Lipid Carriers (NLCs). *Proceedings* 2021(40), 78. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/IECP2020-08658>
- Cunha, S., Costa, C. P., Moreira, J. N., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2020). Using the quality by design (QbD) approach to optimize formulations of lipid nanoparticles and nanoemulsions: A review. *Nanomedicine*, 28, 102206. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102206>
- Cunha, S., Forbes, B., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2021). Improving Drug Delivery for Alzheimer's Disease Through Nose-to-Brain Delivery Using Nanoemulsions, Nanostructured Lipid Carriers (NLC) and in situ Hydrogels. *Int J Nanomedicine*, 16, 4373-4390. <https://doi.org/10.2147/IJN.S305851>
- EMA. (2015). *ICH guideline Q9 on quality risk management*. Retrieved 10/10/2024 from https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use-ich-guideline-q9-quality-risk-management-step-5-first-version_en.pdf
- Garces, A., Amaral, M. H., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C. (2018). Formulations based on solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for cutaneous use: A review. *Eur J Pharm Sci*, 112, 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.11.023>
- García Aponte, O. F., Vallejo Díaz, B. M., & Mora Huertas, C. E. (2015). La calidad desde el diseño: principios y oportunidades para la industria farmacéutica. *Estudios Gerenciales*, 68-78. <https://doi.org/10.1016/j.estger.2014.09.005>
- Gurumukhi, V. C., & Bari, S. B. (2022). Quality by design (QbD)-based fabrication of atazanavir-loaded nanostructured lipid carriers for lymph targeting: bioavailability enhancement using chylomicron flow block model and toxicity

- studies. *Drug Deliv Transl Res*, 12(5), 1230-1252. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-01014-4>
- Gurumukhi, V. C., Sonawane, V. P., Tapadiya, G. G., Bari, S. B., Surana, S. J., & Chalikwar, S. S. (2023). Quality-by-design based fabrication of febuxostat-loaded nanoemulsion: Statistical optimization, characterizations, permeability, and bioavailability studies. *Heliyon*, 9(4), e15404. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15404>
- ICH. (2009). PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT Q8(R2). https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf
- Kaur, G., Panigrahi, C., Agarwal, S., Khuntia, A., & Sahoo, M. (2024). Recent trends and advancements in nanoemulsions: Production methods, functional properties, applications in food sector, safety and toxicological effects. *Food Physics*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.foodp.2024.100024>
- Kovacs, B., Peterfi, O., Kovacs-Deak, B., Szekely-Szentmiklosi, I., Fulop, I., Baba, L. I., & Boda, F. (2021). Quality-by-design in pharmaceutical development: From current perspectives to practical applications. *Acta Pharm*, 71(4), 497-526. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0039>
- Li, J., Qiao, Y., & Wu, Z. (2017). Nanosystem trends in drug delivery using quality-by-design concept. *J Control Release*, 256, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.04.019>
- Mehnert, W., & Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47 165–196. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00105-3](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00105-3)
- Mehta, M., Bui, T. A., Yang, X., Aksoy, Y., Goldys, E. M., & Deng, W. (2023). Lipid-Based Nanoparticles for Drug/Gene Delivery: An Overview of the Production Techniques and Difficulties Encountered in Their Industrial Development. *ACS Mater Au*, 3(6), 600-619. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialsau.3c00032>
- Muller, R. H., Radtke, M., & Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, S131–S155. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(02\)00118-7](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00118-7)
- Müller, R. H., Shegokar, R., & Keck, C. M. (2011). 20 Years of Lipid Nanoparticles (SLN & NLC): Present State of Development & Industrial Applications. *Current Drug Discovery Technologies*, 8, 207-227. <https://doi.org/10.2174/157016311796799062>
- Namjoshi, S., Dabbaghi, M., Roberts, M. S., Grice, J. E., & Mohammed, Y. (2020). Quality by Design: Development of the Quality Target Product Profile (QTPP) for Semisolid Topical Products. *Pharmaceutics*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030287>
- Nasr, M. M. (2011). *Implementation of Quality by Design (QbD)-Current Perspectives on Opportunities and Challenges* <https://www.researchgate.net/profile/Abh>
- Patel, D., Patel, M., Soni, T., & Suhagia, B. (2021). Topical arginine solid lipid nanoparticles: Development and characterization by QbD approach. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102329>

- Ramzan, M., Khan, T., Usman Mohd Siddique, M., Khuroo, T., & Shahid, M. (2024). Hansen solubility parameters and quality-by-design oriented optimized cationic nanoemulsion for transdermal drug delivery of tolterodine tartrate. *Int J Pharm*, 664, 124611. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124611>
- S, N. P., Colombo, P., Colombo, G., & D, M. R. (2017). Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. *Drug Dev Ind Pharm*, 43(6), 889-901. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1291672>
- Silva, A. C., Gonzalez-Mira, E., Garcia, M. L., Egea, M. A., Fonseca, J., Silva, R., Santos, D., Souto, E. B., & Ferreira, D. (2011). Preparation, characterization and biocompatibility studies on risperidone-loaded solid lipid nanoparticles (SLN): high pressure homogenization versus ultrasound. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 86(1), 158-165. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.035>
- Silva, A. C., & Loureiro, J. A. (2024). A Simple Method for the Preparation and Characterization of Nanostructured Lipid Carriers (NLC) Formulations for Cutaneous Use. *Journal of Chemical Education* 101, 4333-4338. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.4c00503>
- Simoës, A., Veiga, F., Figueiras, A., & Vitorino, C. (2018). A practical framework for implementing Quality by Design to the development of topical drug products: Nanosystem-based dosage forms. *Int J Pharm*, 548(1), 385-399. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.052>
- Srivastava, V., Pardhi, E. R., Yadav, R., Singh, V., Khatri, D. K., & Mehra, N. K. (2024). QbD-driven thymoquinone laden nanoemulsion for glaucoma management: In vitro, ex vivo, and pre-clinical evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 94. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105493>
- Talarico, L., Pepi, S., Susino, S., Leone, G., Bonechi, C., Consumi, M., Clemente, I., & Magnani, A. (2023). Design and Optimization of Solid Lipid Nanoparticles Loaded with Triamcinolone Acetonide. *Molecules*, 28(15). <https://doi.org/10.3390/molecules28155747>
- Vipanchi, V., Fatima, M., & Domaraju, P. (2023). Quality by Design approach for nanosystem based topical drug delivery. *German Journal of Pharmaceuticals and Biomaterials*, 2(1), 01-17. <https://doi.org/10.5530/gjpb.2023.1.1>
- Yu, L. X., Amidon, G., Khan, M. A., Hoag, S. W., Polli, J., Raju, G. K., & Woodcock, J. (2014). Understanding pharmaceutical quality by design. *AAPS J*, 16(4), 771-783. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9598-3>
- Zhang, L., & Mao, S. (2017). Application of quality by design in the current drug development. *Asian J Pharm Sci*, 12(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.07.006>