

Protocolo Estatístico: Perfil de Dissolução Comparativo

Action Stat RDC 31 Versão 4.1

ESTATCAMP

Rua Maestro João Seppe, 900 sala 171
Jardim Paraíso CEP: 13561-180 São Carlos/SP
Fone/Fax: (16) 3376-2047
E-mail: estatistica@estatcamp.com.br
Site: www.estatcamp.com.br

Maio / 2022

Sumário

1	Aprovação	3
2	Introdução	4
3	Objetivos	4
4	Histórico de Revisões	5
5	Perfil de Dissolução	6
6	Modelo Independente Simples	7
6.1	Coeficiente de Variação	8
6.2	Fator de Similaridade	8
6.3	Fator de Diferença	8
7	Distância de Mahalanobis	9
8	Modelo Independente Multivariado	10
8.1	Comparação entre dois medicamentos de referência	12
8.2	Teste de Royston	16
9	Fator de similaridade via <i>bootstrap</i>	17
10	Modelo Dependente	19
10.1	Gráfico de médias transformadas	24
11	Aplicação	25
11.1	Modelo Independente Simples	25
11.2	Modelo Independente Multivariado	33
11.3	Modelo Independente Multivariado - comparação entre dois medicamentos de referência	38
11.4	Fator de similaridade via <i>bootstrap</i>	46
11.5	Modelo Dependente	49
	Referências	57

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

1 Aprovação

A assinatura abaixo indica a aprovação deste relatório.

ELABORADO POR:

NOME: Dorival Leão Pinto Júnior

CARGO: Consultor estatístico

Registro CONRE: 9795



ASSINATURA:

DATA: 5 de maio de 2022

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

2 Introdução

O Action Stat é um sistema estatístico desenvolvido pela Estatcamp, uma empresa que atua desde 1997 nos setores de consultoria, desenvolvimento e treinamento. O início de seu desenvolvimento foi em 2005 por uma equipe de doutores em computação e estatística. O Action Stat utiliza o R, a principal linguagem de programação estatística de uso mundial. Através de um sistema próprio, conecta-se o R com ferramentas Web para que você tenha flexibilidade, agilidade e confiança nas suas aplicações estatísticas utilizando uma interface fácil e amigável.

3 Objetivos

Este protocolo estatístico tem por finalidade apresentar e elucidar os métodos estatísticos utilizados na ferramenta perfil de dissolução do Action Stat, sendo eles o cálculo do fator de similaridade e de diferença, o modelo independente multivariado e o modelo dependente. O descrever da metodologia esta separado por tópicos:

- Modelo Independente Simples: Fator de similaridade e diferença
- Modelo Independente Multivariado
- Modelo Dependente
- Fator de similaridade via *bootstrap*

Em cada tópico se descreve as técnicas estatísticas utilizadas e na seção [11](#) exibe-se uma aplicação demonstrando as contas calculadas de forma manual e os resultados do Action Stat. Desta forma pode-se validar a metodologia e cálculos efetuados na seção de perfil de dissolução pelo software Action Stat.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

4 Histórico de Revisões

Nesta seção apresenta-se o histórico das revisões do protocolo de perfil de dissolução.

Tabela 1: Histórico de Revisões		
Tópico	Alteração	Versão
Introdução	Alteração das ferramentas de desenvolvimento do Action Stat	4.0
Objetivos	Inclusão do fator de similaridade via <i>bootstrap</i>	4.0
Perfil de Dissolução	Inclusão do fator de similaridade	4.0
Perfil de Dissolução	Alteração do fluxograma	4.0
Modelo Independente Simples	Inclusão do fluxograma	4.0
Distância de Mahalanobis	Criação da seção	4.0
Modelo Independente Multivariado	Alteração do fluxograma	4.0
Modelo Independente Multivariado	Retirada da subseção Distância de Mahalanobis	4.0
Modelo Dependente	Retirada da subseção Teste T^2 de Hotelling	4.0
Fator de similaridade via <i>bootstrap</i>	Criação da seção	4.0
Aplicações	Atualização das páginas do Action Stat	4.0
-	Atualização do Action Stat RDC 31	4.1

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

5 Perfil de Dissolução

O teste de dissolução é uma importante ferramenta na indústria farmacêutica, tanto no desenvolvimento de novos produtos quanto no controle da qualidade de novos medicamentos. É por meio do teste de dissolução que se analisa a equivalência entre os perfis de dissolução dos respectivos medicamentos, isto é, se a liberação do princípio ativo do medicamento teste que se torna disponível para ser absorvido pelo organismo é equivalente a liberação do princípio ativo do medicamento referência.

O modelo independente simples, sugerido pela ANVISA [1], é o método usual para avaliar a equivalência entre os perfis de dissolução e consiste em aplicar dois fatores, o fator de diferença f_1 e o fator de similaridade f_2 . Existe equivalência entre os perfis de dissolução por meio do fator de similaridade, quando o mesmo está entre os valores 50 e 100. Já para o fator de diferença, conclui-se equivalência entre os perfis de dissolução, quando o fator f_1 calculado estiver entre os valores 0 e 15. Contudo, quando algum dos coeficientes de variação para os primeiros pontos de coleta, pontos correspondentes a 40% dos tempos de coleta iniciais, excedem 20% ou algum dos coeficientes de variação para os demais pontos de coleta excedem 10%, os fatores do modelo independente simples não podem ser aplicados.

Neste cenário, alternativas para o estudo do perfil de dissolução comparativo são o modelo independente multivariado e o modelo dependente, métodos sugeridos pelo FDA [2], bem como o fator de similaridade via *bootstrap*, apresentado em [3]. A principal diferença entre os fatores de similaridade e diferença (modelo independente simples) e o modelo independente multivariado é que o modelo independente multivariado utiliza uma distância que depende da variabilidade dos dados. Já o modelo dependente utiliza o ajuste de um modelo e, por fim, o fator de similaridade via *bootstrap* utiliza um estudo de simulação para a análise da similaridade entre os perfis.

O fluxograma para a determinação da metodologia mais adequada ao estudo de perfil de dissolução comparativo é apresentado na Figura 1.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

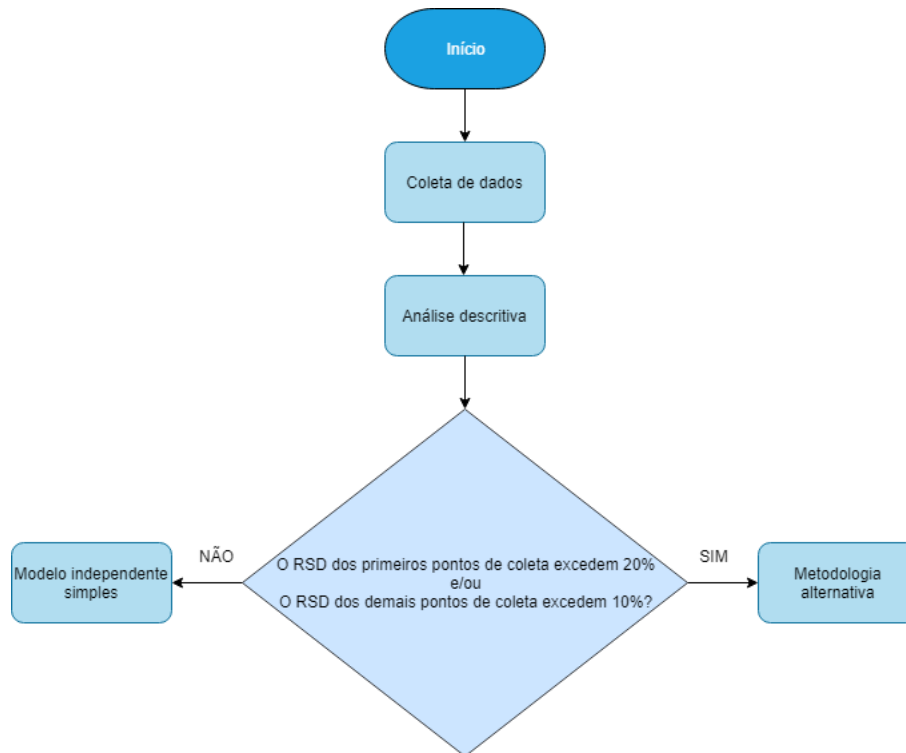


Figura 1: Fluxograma da determinação da metodologia.

6 Modelo Independente Simples

Nesta seção detalha-se o modelo independente simples. Segundo a resolução [1] da ANVISA e o guia [2] do FDA, para que dois perfis de dissolução sejam considerados equivalentes por meio do modelo independente simples, devem atender os seguintes critérios:

- os Medicamentos Teste e de Referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes;
- o valor do fator de similaridade f_2 deve estar compreendido entre 50 a 100 e o valor do fator de diferença deve estar compreendido entre 0 a 15;
- os tempos de coleta devem ser os mesmos para as duas formulações;
- o número de pontos de coleta deve ser representativo do processo de dissolução até que se obtenha platô na curva, sendo obrigatória a quantificação de amostras de, no mínimo, cinco tempos de coleta;
- para fins de cálculo do f_1 e f_2 , utilizar, no mínimo, os três primeiros pontos, excluindo o tempo zero;
- para fins de cálculo do f_1 e do f_2 , incluir apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução;

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

- para permitir o uso de médias, os coeficientes de variação para os primeiros pontos de coleta não podem exceder 20%. Para os demais pontos considera-se o máximo de 10%. São considerados como primeiros pontos de coleta o correspondente a 40% do total de pontos coletados. Por exemplo, para um perfil de dissolução com cinco tempos de coleta, consideram-se primeiros pontos os dois primeiros tempos de coleta.

6.1 Coeficiente de Variação

Como mencionado na Seção 5, para que o modelo independente simples possa ser aplicado, é necessário avaliar se as exigências estabelecidas sobre os coeficientes de variação são satisfeitas. Estas exigências são impostas de modo a limitar a variabilidade em cada ponto de coleta, uma vez que os fatores f_1 e f_2 utilizam apenas medidas de posição.

O coeficiente de variação é uma medida padronizada de dispersão, sendo definido como a razão entre o desvio padrão estimado pela média amostral. Seja s o desvio padrão estimado e $\bar{x}$ a média amostral para cada ponto de coleta, o estimador do coeficiente de variação é dado por:

$$\widehat{CV} = \frac{s}{\bar{x}}.$$

6.2 Fator de Similaridade

Definido por Moore e Flanner em 1996 [4], o Fator de Similaridade é a medida usual para avaliar a equivalência dos perfis de dissolução, sendo definido por:

$$f_2 = 50 \log_{10} \left(\left(1 + \frac{\sum_{i=1}^p (\bar{x}_i - \bar{y}_i)^2}{p} \right)^{-0,5} 100 \right) \quad (1)$$

em que:

- p é o número de pontos de coleta;
- $\bar{x}_i$ é a média das dissoluções do referência para o i -ésimo tempo de coleta;
- $\bar{y}_i$ é a média das dissoluções do teste para o i -ésimo tempo de coleta.

6.3 Fator de Diferença

O Fator de Diferença f_1 é uma medida pontual utilizada na equivalência de perfis no caso do modelo independente simples. O Fator de Diferença calcula a diferença em % entre os dois perfis em cada tempo e consiste em uma medida do erro relativo entre os dois perfis:

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^p |\bar{x}_i - \bar{y}_i|}{\sum_{i=1}^p \bar{x}_i} \times 100\%$$

em que:

- p é o número de pontos de coleta;
- $\bar{x}_i$ é a média das dissoluções do referência para o i -ésimo tempo de coleta;
- $\bar{y}_i$ é a média das dissoluções do teste para o i -ésimo tempo de coleta.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

O critério utilizado no fator de diferença é, se $0 \leq f_1 \leq 15\%$, a equivalência entre os perfis é aceita, caso contrário, não aceitamos a equivalência.

A seguir, apresenta-se o fluxograma para a aplicação do modelo independente simples no estudo perfil de dissolução comparativo, Figura 2.

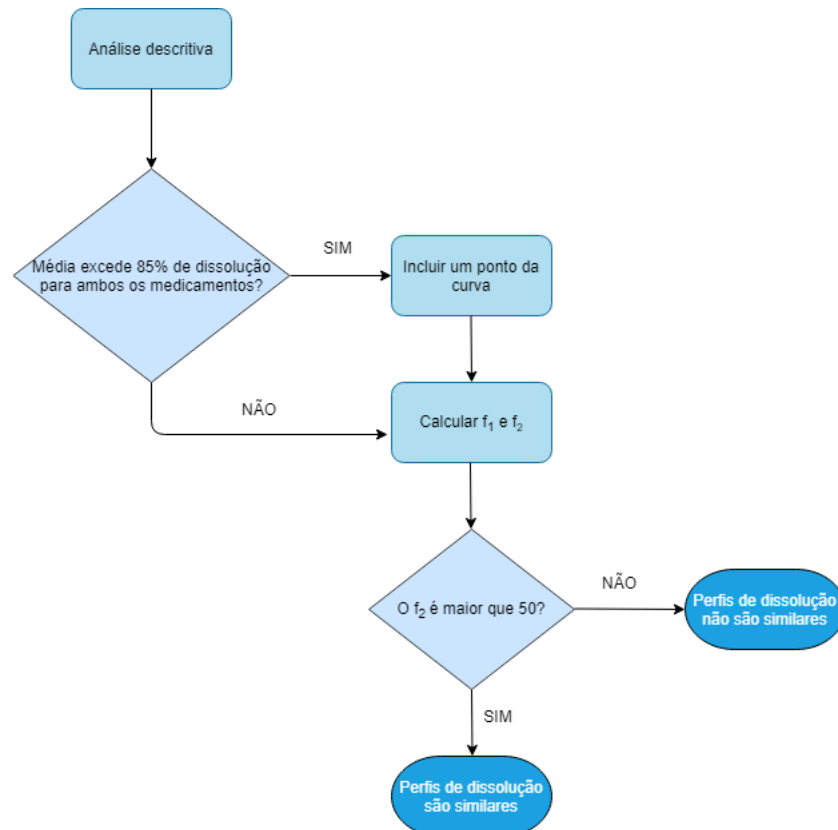


Figura 2: Fluxograma do modelo independente simples.

7 Distância de Mahalanobis

A distância de Mahalanobis é uma distância entre dois vetores que depende da estrutura de variância e covariância existente nos dados. Proposta pelo indiano Prasanta Chandra Mahalanobis em 1936, atualmente é utilizada principalmente para comparar populações e realizar classificações.

Considere $\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_n$ amostras da população referência p-dimensional P_R e $\mathbf{y}_1, \mathbf{y}_2, \dots, \mathbf{y}_m$ amostras da população teste p-dimensional P_T . Suponha que $P_R \sim N(\mu_R, \Sigma)$ e $P_T \sim N(\mu_T, \Sigma)$, no qual μ_R e μ_T são vetores de médias de dimensão $p \times 1$ e Σ é a matriz de variância e covariância de dimensão $p \times p$.

Defina os vetores de médias

$$\bar{\mathbf{x}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \mathbf{x}_i = (\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_p)^T$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

e

$$\bar{\mathbf{y}} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \mathbf{y}_i = (\bar{y}_1, \bar{y}_2, \dots, \bar{y}_p)^T.$$

Denota-se $\mathbf{a}^T$ ao vetor $\mathbf{a}$ transposto. No contexto de perfis de dissolução, $\bar{x}_i$ e $\bar{y}_i$ correspondem as médias das dissoluções do i -ésimo tempo de coleta para os medicamentos referência e teste, respectivamente.

Defina também a matriz de variância e covariância agrupada

$$S_{pool} = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$$

com S_R^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_R e S_T^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_T .

A distância de Mahalanobis entre as observações de P_R e P_T é definida por

$$D_M = \sqrt{(\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})^T S_{pool}^{-1} (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})} \quad (2)$$

Note que quando a matriz de variância e covariância é diagonal, tem-se que a distância de Mahalanobis é igual a distância euclidiana ponderada. Note também que a distância de Mahalanobis corresponde a raiz quadrada do termo $(\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})^T S_{pool}^{-1} (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})$. Logo, o termo dentro da raiz quadrada necessita ser positivo, fato garantido quando a matriz S_{pool} é positiva semi-definida.

Ademais, do ponto de vista matemático, a distância de Mahalanobis é uma métrica e portanto apresenta as seguintes propriedades:

- **simétrica:** a distância do vetor $\mathbf{x}$ para o vetor $\mathbf{y}$ é igual a distância do vetor $\mathbf{y}$ para o vetor $\mathbf{x}$;
- **positiva:** a distância entre dois vetores é maior ou igual a zero;
- **desigualdade triangular:** a distância entre os vetores $\mathbf{x}$ e $\mathbf{y}$ é menor ou igual a distância entre os vetores $\mathbf{x}$ e $\mathbf{z}$ mais a distância entre os vetores $\mathbf{z}$ e $\mathbf{y}$.

Na aplicação do perfil de dissolução comparativo, a distância de Mahalanobis é igual a zero somente quando os vetores de médias das dissoluções do medicamento referência e do medicamento teste forem idênticos, ou seja, evidência extrema de que os perfis de dissolução são equivalentes. Por outro lado, quanto maior a distância de Mahalanobis maior a evidência de que os perfis de dissolução não são equivalentes.

8 Modelo Independente Multivariado

O modelo independente multivariado, apresentado no guia [2], é um método alternativo para o estudo de perfil de dissolução comparativo quando existe “alta” variabilidade nas medidas de dissolução, isto é, quando o coeficiente de variação da dissolução para algum dos tempos de coleta estiver fora dos critérios estabelecidos para a aplicação dos fatores do modelo independente simples. O modelo independente multivariado utiliza a distância de Mahalanobis, apresentada na seção 7. A distância de Mahalanobis mede a discrepância entre os perfis de dissolução ponderando pela variância e covariância das observações.

A seguir apresenta-se o algoritmo para a realização do teste:

1. Especificação da diferença aceitável (Limite de Similaridade Δ) entre as médias das dissoluções dos medicamentos referência e teste;
2. Cálculo da distância máxima tolerada D_{Max} , que pode ser obtida transformando o limite de similaridade Δ em termos da distância de Mahalanobis;

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

3. Cálculo da distância de Mahalanobis estimada D_M entre as médias das dissoluções do medicamento teste e do medicamento referência;
4. Cálculo do intervalo de confiança (D_M^l, D_M^u) para a distância de Mahalanobis;
5. Comparação do limite superior D_M^u do intervalo de confiança com a distância máxima tolerada D_{Max} . Caso o limite superior do intervalo de confiança seja menor do que o limite superior do intervalo teórico, conclui-se que os perfis são similares.

A aplicação do modelo independente multivariado consiste em realizar estes cinco passos descritos acima. No restante desta seção será dado os detalhes associados a cada um destes passos.

Passo 1

Quando a dissolução dos medicamentos teste e referência estiverem em porcentagem, o limite de similaridade adotado é dado por $\Delta = 10$, um vetor de dimensão $p \times 1$ cujo os componentes são iguais a 10. A justificativa para a escolha de $\Delta = 10$ é pelo fato de que na aplicação do fator de similaridade f_2 , equação 1, conclui-se que os perfis de dissolução são equivalentes quando o fator de similaridade f_2 assume algum valor no intervalo fechado $[50, 100]$. O fator atinge o menor valor quando

$$1 + \frac{\sum_{i=1}^p (\bar{x}_i - \bar{y}_i)^2}{p} = 100$$

e ao assumir que $(\bar{x}_i - \bar{y}_i)^2 = (\bar{x}_j - \bar{y}_j)^2$ para $i \neq j$, tem-se

$$\bar{x}_i - \bar{y}_i = \sqrt{99} = 9,9498.$$

Isto significa que para perfis de dissolução que satisfazem as condições impostas para o coeficiente de variação, conclui-se que os perfis de dissolução são equivalentes se a diferença entre as médias das dissoluções não ultrapassarem 9,94%. Esta é a razão pela qual adota-se $\Delta = 10$.

Passo 2

Com o limite de similaridade especificado, calcula-se a distância máxima tolerada, dada por

$$D_{Max} = \sqrt{(\Delta)^T S_{pool}^{-1} (\Delta)}$$

Ressalta-se que a distância máxima tolerada delimita uma faixa para as diferenças entre os vetores.

Passo 3

Denote $\bar{\mathbf{z}} = (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})$, a distância de Mahalanobis estimada é dada por

$$D_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}}.$$

A distância de Mahalanobis estimada corresponde a distância obtida para a diferença entre as médias observadas ponderada pela matriz de variância e covariância agrupada.

Passo 4

Com a estimativa da distância de Mahalanobis, calcula-se o intervalo de confiança para o verdadeiro valor da distância de Mahalanobis. O intervalo de confiança (D_M^l, D_M^u) com nível de significância α é dado por

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$D_M^l = \min \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (3)$$

$$D_M^u = \max \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (4)$$

com

$$y_1^* = \bar{z} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_2^* = \bar{z} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

Em que $K = \left(\frac{m*n}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right)$ e $F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}$ o quantil de $100(1-\alpha)\%$ da distribuição F de Snedecor com p graus de liberdade no numerador e $m+n-p-1$ graus de liberdade no denominador. Estes cálculos podem ser encontrados em [5].

Passo 5

Conclui-se que os perfis de dissolução são similares se $D_M^u < D_{Max}$, isto é, se o limite superior do intervalo de confiança estiver contido dentro da faixa delimitada pela distância máxima tolerada.

8.1 Comparação entre dois medicamentos de referência

Pode-se também aplicar o Modelo Independente Multivariado calculando a distância máxima tolerada através da comparação de dois medicamentos de referência. Esses dois medicamentos de referência podem ser:

- o medicamento de referência que se está comparando com o medicamento teste e um segundo medicamento de referência ou
- dois outros medicamentos de referência além do que se está sendo utilizado de comparação com o medicamento teste.

Assim, o conjunto de dados deve conter os dados do medicamento de teste, os dados do medicamento de referência para comparar com o de teste e os dados de mais um ou dois medicamentos de referência.

A distância máxima tolerada, nesse caso, é o limite superior do intervalo de 90% de confiança para a distância de Mahalanobis entre dois medicamentos de referência. Ressalta-se que a distância máxima tolerada delimita uma faixa para as diferenças entre os vetores.

A seguir apresenta-se o algoritmo para a realização do teste para essa situação:

1. Cálculo da distância de Mahalanobis entre as médias das dissoluções de dois medicamentos de referência;
2. Cálculo do intervalo de confiança para essa distância calculada: a distância máxima tolerada D_{Max} será o limite superior desse intervalo de confiança;
3. Cálculo da distância de Mahalanobis estimada D_M entre as médias das dissoluções do medicamento teste e do medicamento referência;
4. Cálculo do intervalo de confiança (D_M^l, D_M^u) para a distância de Mahalanobis;

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

5. Comparação do limite superior D_M^u do intervalo de confiança com a distância máxima tolerada D_{Max} . Caso o limite superior do intervalo de confiança seja menor do que o limite superior do intervalo teórico, conclui-se que os perfis são similares.

A seguir, será descrito cada um desses passos.

Passo 1

Denote $\bar{\mathbf{z}} = (\overline{\text{Ref1}} - \overline{\text{Ref2}})$ o vetor com a diferença entre as médias dos medicamentos de referência. A distância de Mahalanobis estimada é dada por

$$D_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}},$$

em que $S_{pool} = \frac{(n-1)S_{Ref1}^2 + (m-1)S_{Ref2}^2}{n+m-2}$, S_{Ref1}^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_{Ref1} (população referência 1) e S_{Ref2}^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_{Ref2} (população referência 2).

Passo 2

Com a estimativa da distância de Mahalanobis, calcula-se o intervalo de confiança para o verdadeiro valor da distância de Mahalanobis. O intervalo de confiança (D_M^l, D_M^u) com nível de significância α é dado por

$$D_M^l = \min \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (5)$$

$$D_M^u = \max \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (6)$$

com

$$y_1^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_2^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

Em que $K = \left(\frac{m*n}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right)$ e $F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}$ o quantil de $100(1-\alpha)\%$ da distribuição F de Snedecor com p graus de liberdade no numerador e $m+n-p-1$ graus de liberdade no denominador. Estes cálculos podem ser encontrados em [5].

A distância máxima tolerada é o limite superior do intervalo de 90% de confiança para a distância de Mahalanobis entre dois medicamentos de referência, isto é, $D_{Max} = D_M^u$.

Passo 3

Agora, denote $\bar{\mathbf{z}} = (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})$ o vetor com a diferença entre as médias do medicamento de referência e de teste. Então a distância de Mahalanobis estimada é dada por

$$D_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}},$$

em que $S_{pool} = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$, S_R^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_R e S_T^2 a matriz de variância e covariância estimada de P_T .

Passo 4

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Com a estimativa da distância de Mahalanobis, calcula-se o intervalo de confiança para o verdadeiro valor da distância de Mahalanobis. O intervalo de confiança (D_M^l, D_M^u) com nível de significância α é dado por

$$D_M^l = \min \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (7)$$

$$D_M^u = \max \left(\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*}, \sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} \right) \quad (8)$$

com

$$y_1^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_2^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

Em que $K = \left(\frac{m*n}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right)$ e $F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}$ o quantil de $100(1 - \alpha)\%$ da distribuição F de Snedecor com p graus de liberdade no numerador e $m + n - p - 1$ graus de liberdade no denominador. Estes cálculos podem ser encontrados em [5].

Passo 5

Conclui-se que os perfis de dissolução são similares se $D_M^u < D_{Max}$, isto é, se o limite superior do intervalo de confiança estiver contido dentro da faixa delimitada pela distância máxima tolerada.

Vale ressaltar que o Modelo Independente Multivariado assume que os vetores de médias das dissoluções para os medicamentos de teste e referência possuem distribuição normal multivariada, com matrizes de variâncias e co-variâncias iguais. Assim, testes devem ser feitos a fim de investigar a adequabilidade dessas suposições em cada cenário. Para a verificação da normalidade multivariada, aplica-se o teste de Royston, conforme apresentado na subseção 8.2.

O Fluxograma 3 ilustra as etapas a serem realizadas no estudo de equivalência entre os perfis de dissolução segundo o Modelo Independente Multivariado.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

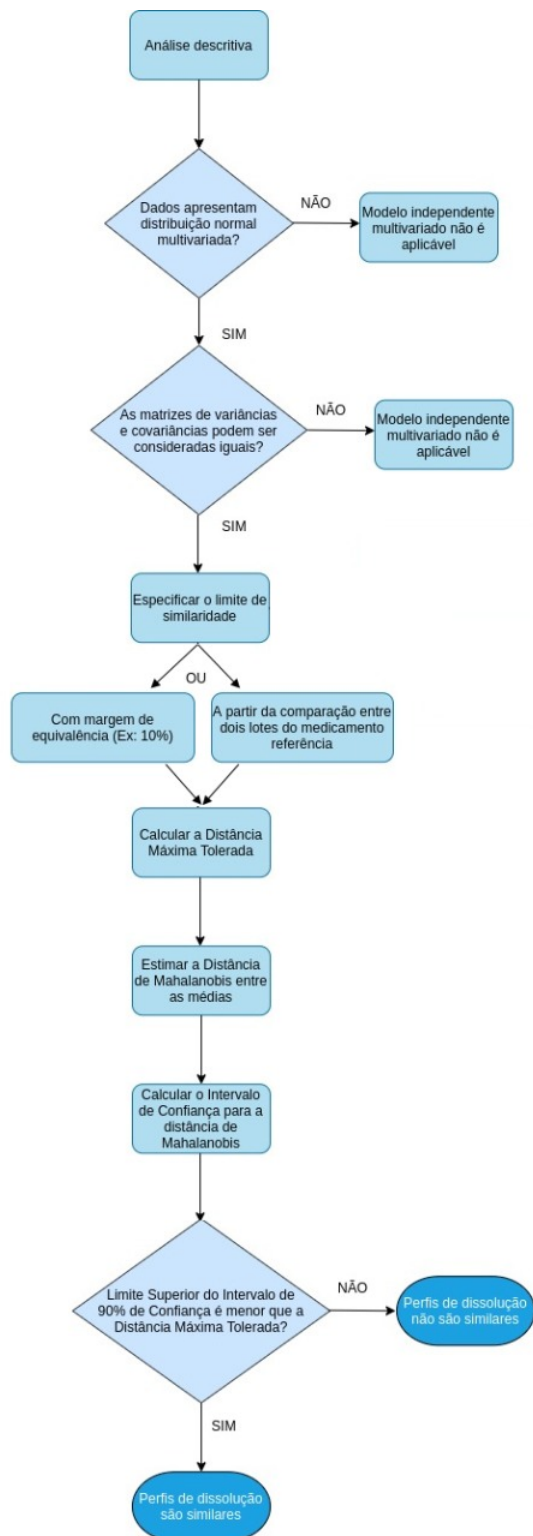


Figura 3: Fluxograma do modelo independente multivariado.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

8.2 Teste de Royston

O teste de Royston [8], proposto em 1983, é baseado na estatística W dos testes de Shapiro-Wilk [9] e Shapiro-Francia [10] e visa testar a normalidade multivariada dos dados. Logo, tem-se as hipóteses:

$$\begin{cases} H_0 : \text{Os dados seguem uma distribuição normal multivariada.} \\ H_1 : \text{Os dados não seguem uma distribuição normal multivariada.} \end{cases}$$

A estatística de teste é dada por:

$$H = \frac{e \sum_{j=1}^p \psi_j}{p} \sim \chi_e^2. \quad (9)$$

Tem-se que:

$$e = \frac{p}{1 + (p-1)\bar{c}}$$

e

$$\psi_j = \left\{ \phi^{-1} \left[\frac{1}{2} \phi \left(- \left(\frac{\omega_j - \mu}{\sigma} \right) \right) \right] \right\}^2$$

em que:

- p : dimensão da distribuição;
- j : j -ésima variável;
- e : graus de liberdade;
- ϕ : função distribuição acumulada da Normal Padrão;
- $\bar{c}$: estimativa da correlação média entre os $\psi_{j's}$.

A distribuição Qui-quadrado, χ_e^2 , é utilizada para se obter os valores críticos do teste. Tem-se que $\bar{c}$ é dado por:

$$\bar{c} = \sum_i \sum_j \frac{c_{ij}}{p(p-1)},$$

em que

$$c_{ij} = \begin{cases} g(r_{ij}, n), & \text{se } i \neq j \\ 1, & \text{se } i = j \end{cases}$$

Tem-se que:

$$g(r, n) = r^\lambda \left[1 - \frac{\mu}{\nu} (1-r)^\mu \right]$$

em que r_{ij} representa a correlação entre a i -ésima e a j -ésima variável. Os valores dos parâmetros μ , λ e ν foram estimados a partir de um estudo de simulação [11], sendo eles $\mu = 0,715$, $\lambda = 5$, para o tamanho amostral de $10 \leq n \leq 2000$ e $\nu = 0,21364 + 0,015124x^2 + 0,0018034x^3$, no qual $x = \ln(n)$.

Em relação a estatística de teste, tem-se que, se a curtose for superior a 3, utiliza-se a estatística de teste de Shapiro-Francia [10], caso contrário utiliza-se a estatística de teste de Shapiro-Wilk [9].

Tem-se também que a transformação da estatística de teste W depende do tamanho amostral, isto é, se:

- $4 \leq n \leq 11$, utiliza-se $\omega_j = -\ln[\gamma - \ln(1 - W_j)]$, em que:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

- $\gamma = -2,273 + 0,459n$;
- $\mu = 0,5440 - 0,39978n + 0,025054n^2 - 0,0006714n^4$;
- $\sigma = \exp(1,3822 - 0,77857n + 0,062767n^2 - 0,0020322n^3)$

- $12 \leq n \leq 2000$, utiliza-se $\omega_j = \ln(1 - W_j)$, em que:

- $x = \ln(n)$;
- $\mu = -1,5861 - 0,31082x - 0,083751x^2 + 0,0038915x^3$;
- $\sigma = \exp(-0,4803 - 0,082676x + 0,0030302x^2)$

Os valores de γ , μ e σ são obtidos por meio de aproximações polinomiais, dadas em [12].

O p-valor do teste é dado por:

$$p - \text{valor} = P(\chi_e^2 > H)$$

Se o $p - \text{valor}$ for menor que o nível de significância α adotado, rejeita-se a hipótese nula, isto é, rejeita-se que os dados seguem uma distribuição normal multivariada.

9 Fator de similaridade via *bootstrap*

O fator de similaridade via *bootstrap* [3], assim como as demais metodologias apresentadas, é um método alternativo para o estudo de perfil de dissolução comparativo quando existe alta variabilidade nas medidas das dissoluções, impossibilitando assim a aplicação do modelo independente simples.

A seguir, apresenta-se o algoritmo para a realização do teste:

1. Gera-se B amostras *bootstrap* para o medicamento teste e referência;
2. Calcula-se o fator de similaridade para cada amostra *bootstrap* obtida;
3. Calcula-se o intervalo empírico;
4. Se o limite inferior do intervalo, ao nível de significância α , for maior que 50, conclui-se que os perfis são similares.

A aplicação do fator de similaridade via *bootstrap* consiste em realizar os cinco passos descritos acima. No restante desta seção será dado detalhes associados a cada um desses passos.

• Passo 1

Inicialmente, gera-se B amostras *bootstrap* a partir dos medicamentos teste e referência, isto é, seleciona-se com reposição B amostras de cada tipo de medicamento. Recomenda-se a utilização de, no mínimo, $B = 20000$.

• Passo 2

Calcula-se o fator de similaridade para cada amostra *bootstrap* obtida, isto é:

$$\widehat{f_{2,B}^*} = 50 \log_{10} \left(\left(1 + \frac{\sum_{i=1}^p (\bar{x}_{i,B}^* - \bar{y}_{i,B}^*)^2}{p} \right)^{-0,5} 100 \right) \quad (10)$$

em que

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

- p : número de pontos de coleta de cada amostra obtida;
- $\bar{x}_{i,B}^*$: média das dissoluções do referência para o i -ésimo tempo de coleta da B -ésima amostra *bootstrap*;
- $\bar{y}_{i,B}^*$: média das dissoluções do teste para o i -ésimo tempo de coleta da B -ésima amostra *bootstrap*.

• Passo 3

Calcula-se o intervalo empírico *bootstrap*, ao nível de significância α , para o fator de similaridade. Primeiramente ordena-se crescentemente os valores obtidos no passo anterior, isto é,

$$\widehat{f_{2,(1)}^*} < \widehat{f_{2,(2)}^*} < \dots < \widehat{f_{2,(B)}^*},$$

em que $\widehat{f_{2,(B)}^*}$ é o valor ordenado obtido para o fator de similaridade da amostra *bootstrap* gerada.

Posteriormente obtém-se o intervalo percentil, isto é, por meio da técnica *bootstrap* obtém-se um intervalo de confiança via percentil. O intervalo é dado por:

$$IC(1 - \alpha)100\% = \left(\widehat{f_{2,(\frac{\alpha}{2})}^*} ; \widehat{f_{2,(1-\frac{\alpha}{2})}^*} \right) = \left(\widehat{f_{2,(l)}^*} ; \widehat{f_{2,(u)}^*} \right)$$

em que:

- $\widehat{f_{2,(l)}^*}$: limite inferior do intervalo empírico;
- $\widehat{f_{2,(u)}^*}$: limite superior do intervalo empírico.

No fator de similaridade via *bootstrap*, tem-se que o valor referente a l -ésima posição, isto é, o valor $\widehat{f_{2,(l)}^*}$ obtido para o fator de similaridade é o limite inferior do intervalo empírico.

• Passo 4

Conclui-se que os perfis de dissolução são similares se $\widehat{f_{2,(l)}^*} \geq 50$, isto é, se o limite inferior do intervalo empírico for maior ou igual que 50. Critério esse análogo ao adotado para o modelo independente simples via fator de similaridade.

A seguir, apresenta-se na Figura 4 o fluxograma para a aplicação do fator de similaridade via *bootstrap* no estudo perfil de dissolução comparativo.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

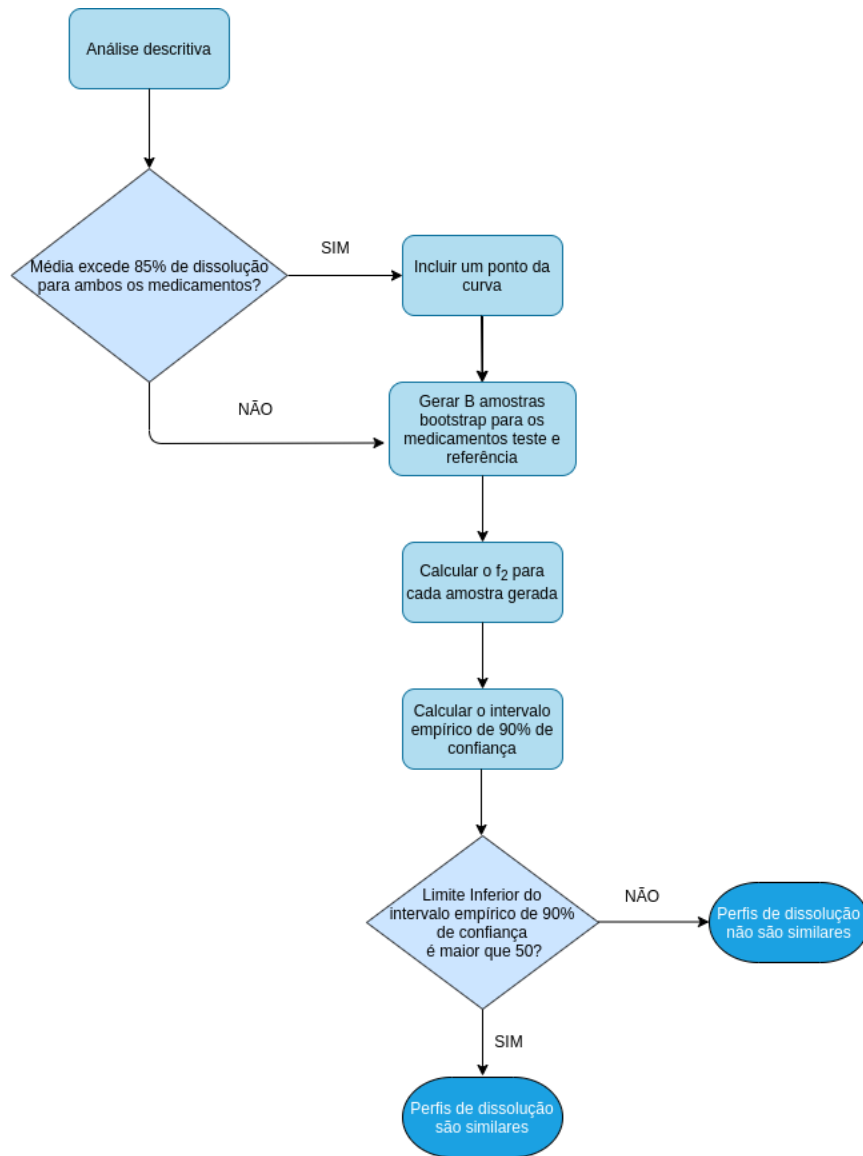


Figura 4: Fluxograma do fator de similaridade via *bootstrap*.

10 Modelo Dependente

O modelo dependente, apresentado no guia [2], assim como o modelo independente multivariado é um método alternativo para o estudo de perfil de dissolução comparativo quando algum dos critérios exigidos para os coeficientes de variação não são satisfeitos para a aplicação dos fatores do modelo independente simples.

Proposto por Sathe *et al* em 1996 [6], o modelo dependente consiste em encontrar o melhor modelo que explique os dados, de modo que ocorra uma redução da dimensionalidade destes e conclusões visuais, obtidas por meio da região de similaridade e de confiança, possam ser realizadas. O modelo dependente utiliza a distância de Mahalanobis,

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

apresentada na Seção 7, a qual mede a discrepância entre os perfis de dissolução ponderando a variância e covariância das observações.

A seguir, apresenta-se o algoritmo para a realização do teste:

1. Ajuste de modelos para os dados do lote de referência agrupados. O guia [2] sugere os modelos Weibull, Probit, Logito, Gompertz e Quadrático, isto é, um modelo com não mais que três parâmetros. Neste protocolo, apresentam-se os modelos Weibull, Probit, Logístico, Gompertz e Higuchi;
2. Seleção do modelo que melhor se adequa aos dados, utilizando algum dos seguintes critérios de seleção:
 - modelo que minimize AIC;
 - modelo que minimize SQR (Soma do Quadrado do Resíduo);
 - modelo que maximize R^2 .
3. Ajuste do modelo selecionado para cada uma das observações do medicamento teste e o medicamento referência;
4. Especificação da região de similaridade dos perfis com base na variação dos parâmetros obtidos pelo ajuste do modelo;
5. Cálculo da distância de Mahalanobis estimada D_M entre as médias das dissoluções do medicamento teste e do medicamento referência;
6. Cálculo da região de confiança para a distância de Mahalanobis;
7. Comparação da região de confiança com a região de similaridade. Caso a região de confiança estiver contida na região de similaridade, conclui-se que os perfis de dissolução são equivalentes.

A aplicação do modelo dependente consiste em realizar os passos descritos acima. No restante desta seção será dado os detalhes associados a cada um destes passos, para isto, adota-se o modelo Weibull.

Passo 1

Ajuste os modelos para os dados do medicamento referência agrupados. Na Tabela 3 apresenta-se alguns modelos sugeridos pelo guia [2] e artigo [5].

Tabela 2: Modelos sugeridos no guia [2] e artigo [5]

Modelo	Forma
Weibull	$y(t) = y_{max}(1 - \exp(-\alpha t^\beta))$
Probit	$y(t) = y_{max}\Phi(\alpha + \beta \ln(t))$
Logístico	$y(t) = y_{max} \exp(\alpha + \beta \ln(t)) / \{1 + \exp(\alpha + \beta \ln(t))\}$
Gompertz	$y(t) = y_{max} \exp(-\alpha \exp(-\beta \ln(t)))$
Higuchi	$y(t) = y_{max}(\beta \sqrt{t})$

Após a linearização em cada modelo, tem-se:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Tabela 3: Linearização dos modelos

Modelo	Forma
Weibull	$y^*(t) = \ln \left(-\ln \left(1 - \frac{y(t)}{y_{max}} \right) \right) = \ln(\alpha) + \beta \ln(t)$
Probit	$y^*(t) = \phi^{-1} \left(\frac{y(t)}{y_{max}} \right) = \alpha + \beta \ln(t)$
Logístico	$y^*(t) = \ln \left(\frac{\frac{y(t)}{y_{max}}}{1 - \frac{y(t)}{y_{max}}} \right) = \alpha + \beta \ln(t)$
Gompertz	$y^*(t) = \ln \left(-\ln \left(\frac{y(t)}{y_{max}} \right) \right) = \alpha + \beta \ln(t)$
Higuchi	$y^*(t) = \frac{y(t)}{y_{max}} = \beta \sqrt{t}$

Passo 2

Seleção do modelo que melhor se adequa aos dados.

AIC

O Critério de Informação de Aikake (AIC) é definido como

$$AIC_p = -2 \log(L_p) + 2[(p + 1) + 1]$$

em que:

- L_p é a função de máxima verossimilhança do modelo (para mais detalhes ver [7]);
- p é o número de variáveis explicativas do modelo.

Tem-se que, quanto menor é o seu valor, mais parcimonioso é o modelo e, portanto, pode-se buscar o modelo com o menor AIC.

SQR

A Soma do Quadrado do Resíduo (SQR) é definida como

$$SQR = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

em que

- y_i : i-ésimo valor observado;
- $\hat{y}_i$: valor estimado para a i-ésima observação.

Assim, quanto menor é o seu valor, mais próximas as estimativas estão dos valores observados e melhor é o modelo.

R²

O coeficiente de determinação R² é definido como

$$R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT}$$

em que

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

- $SQR = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$;
- $SQT = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$;
- y_i : i -ésimo valor observado;
- $\hat{y}_i$: valor estimado para a i -ésima observação;
- $\bar{y}$: média das observações.

Quanto maior é o seu valor, maior é a porcentagem de variação explicada pelo modelo e, portanto, mais adequado ele está aos dados.

Passo 3

Com o modelo selecionado, estima-se os parâmetros. Em geral, conforme a Tabela 2, tem-se que:

- $y(t)$ representa a dissolução acumulada no tempo t , em porcentagem;
- y_{max} representa a dissolução máxima;
- α representa o parâmetro de escala do modelo;
- β representa o parâmetro de forma do modelo.

Ressalta-se que y_{max} não deve ser menor ou igual ao máximo das observações dos lotes teste e referência.

Para estimar os parâmetros α e β do modelo, utiliza-se o método de mínimos quadrados, transformando os dados conforme a Tabela 3. Assim, tem-se um modelo para cada medicamento, ou seja, tem-se doze modelos para cada medicamento.

Passo 4

A região de similaridade é definida com base na variância dos parâmetros obtidos para o medicamento referência. Assim, sendo

$$d_1 = \sqrt{\text{var}(\alpha_R)} \text{ e } d_2 = \sqrt{\text{var}(\beta_R)}$$

a composição da região de similaridade é dada por:

- Eixo x : $(-k \times d_1; k \times d_1)$
- Eixo y : $(-k \times d_2; k \times d_2)$

em que:

- $\text{var}(\alpha)$ representa a variância dos parâmetros de escala para os comprimidos do medicamento referência;
- $\text{var}(\beta)$ representa a variância dos parâmetros de forma para os comprimidos do medicamento referência;
- k representa o número de desvios-padrão. Sathe et al, [6] considerou $k = 1, 2, 3$, que correspondem a aproximadamente 68%, 95% e 99% dos casos.

Deve-se verificar se o logaritmo dos parâmetros estimados, $\ln(\alpha)$ e $\ln(\beta)$, têm distribuição normal multivariada. Para isto, aplica-se o teste de Royston, conforme descrito na subseção 8.2. Se o logaritmo dos parâmetros estimados têm distribuição normal multivariada, a região de similaridade é dada conforme a Figura a seguir:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	



Figura 5: Região de similaridade.

Passo 5

Denote $\bar{\mathbf{z}} = (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}})$, em que:

- $\bar{\mathbf{x}} = \left(\frac{\sum_i^n \alpha_i}{n}; \frac{\sum_i^n \beta_i}{n} \right)$ representa a média dos parâmetros para o medicamento referência;
- $\bar{\mathbf{y}} = \left(\frac{\sum_i^n \alpha_i}{n}; \frac{\sum_i^n \beta_i}{n} \right)$ representa a média dos parâmetros para o medicamento teste;
- n representa o número de comprimidos para cada medicamento.

A distância de Mahalanobis estimada é dada por

$$D_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}}.$$

A distância de Mahalanobis estimada, conforme descrito na Seção 7, corresponde a distância obtida para a diferença entre as médias observadas ponderada pela matriz de variância e covariância agrupada, a qual é dada por:

$$S_{pool} = \frac{S_R + S_T}{2}$$

em que:

- S_R é a matriz de variância e covariância dos parâmetros do medicamento referência;
- S_T é a matriz de variância e covariância dos parâmetros do medicamento teste.

Passo 6

Com a estimativa da distância de Mahalanobis, calcula-se a região de confiança para o verdadeiro valor da distância de Mahalanobis. A região de confiança, CR , com nível de significância α é dada por:

$$CR = \{K(y - \bar{\mathbf{z}})^T S_{pool}^{-1} (y - \bar{\mathbf{z}}) \leq F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}\}. \quad (11)$$

Em que $K = \frac{m*n}{m+n} \frac{(m+n-p-1)}{(m+n-2)p}$ e $F_{(p, m+n-p-1, 1-\alpha)}$ o quantil de $100(1 - \alpha)\%$ da distribuição F de Snedecor com p graus de liberdade no numerador e $m + n - p - 1$ graus de liberdade no denominador.

Os y que satisfazem a desigualdade formam uma elipse, a qual representa a região de confiança.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Passo 7

Conclui-se que os perfis de dissolução são similares se a região de confiança estiver contida dentro da região de similaridade.

O fluxograma 6 ilustra as etapas a serem realizadas no estudo de equivalência entre os perfis de dissolução segundo o modelo dependente.

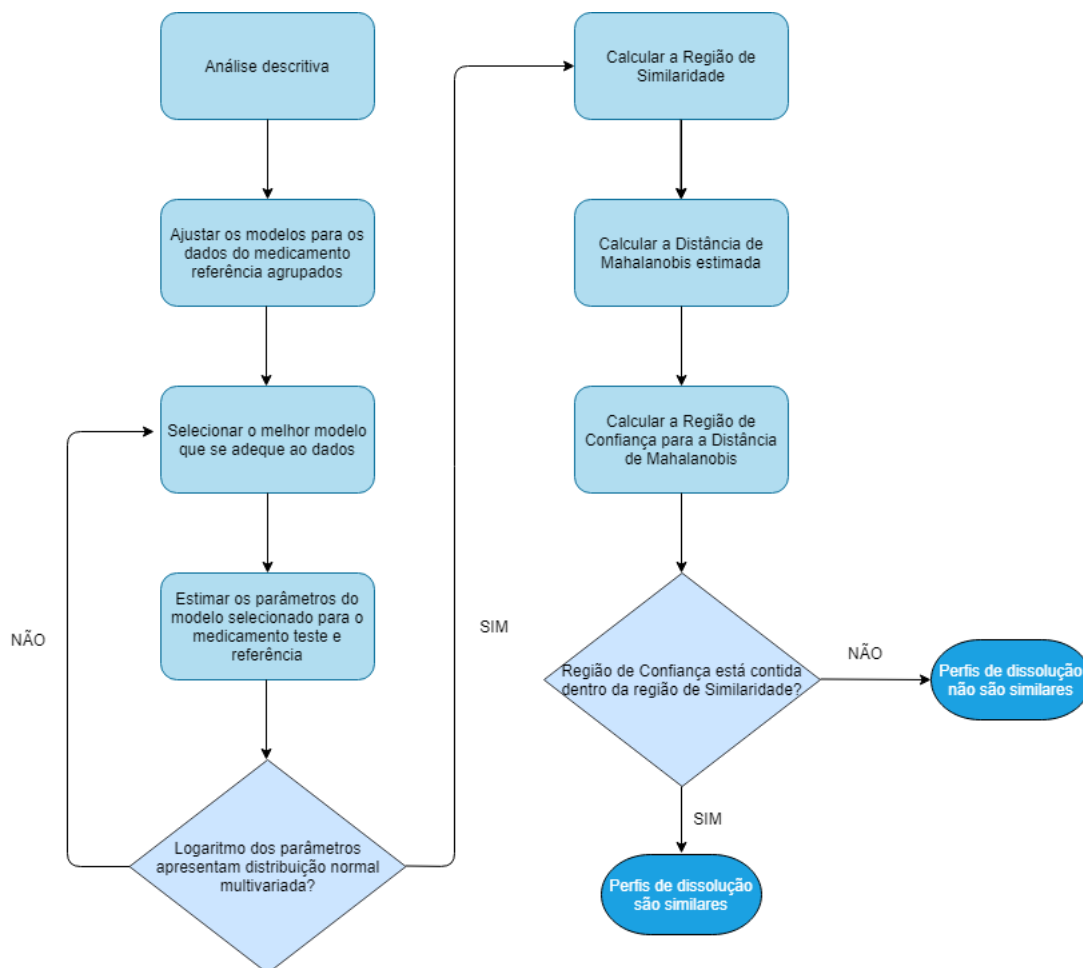


Figura 6: Fluxograma para o modelo dependente.

10.1 Gráfico de médias transformadas

O gráfico de médias transformadas da dissolução apresenta, no eixo x, os valores transformados dos tempos, e, no eixo y, os valores linearizados das dissoluções de acordo com o modelo selecionado, conforme Tabela 3. Assim, tem-se o gráfico do ajuste do modelo de regressão linear para os dados de teste e de referência e, quanto mais próximas as retas estiverem, maior é o indício de que os perfis são similares.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

11 Aplicação

A seguir aplicam-se as metodologias do estudo de equivalência de perfis descritas no protocolo. Deseja-se avaliar se um determinado medicamento Teste é equivalente em dissolução ao medicamento de Referência. Apresentam-se exemplos de aplicação do Modelo Independente Simples (fator de similaridade), Modelo Independente Multivariado, fator de similaridade via *bootstrap* e Modelo Dependente.

11.1 Modelo Independente Simples

Tem-se as seguintes medições exibidas na Tabela 4. Foram utilizadas 12 amostras para o medicamento teste e 12 para o medicamento de referência em 7 diferentes tempos de coleta. Aplicam-se os passos descritos na seção 6.

Tabela 4: Experimento perfil de dissolução - exemplo 1.

Medicamento	10	15	20	30	45	60	90
Teste	4,447211	6,676777	17,97265	38,41231	74,33061	87,07301	93,73867
Teste	6,911449	9,236841	18,04717	38,89742	74,34231	85,85281	93,71245
Teste	6,297723	6,097209	18,16644	37,20107	75,13821	85,64233	95,36936
Teste	7,291583	8,464648	18,12143	39,2817	76,50749	85,28448	93,74845
Teste	6,1795	8,690881	17,69454	38,64857	76,2731	87,07596	93,19338
Teste	6,28397	8,544052	17,62469	39,54655	76,26338	85,52231	94,38614
Teste	6,904296	7,420781	18,8003	38,17453	74,69602	86,8076	94,61373
Teste	5,559168	6,621777	19,3979	38,99274	74,23254	86,87937	94,99449
Teste	7,53353	7,961008	18,32628	38,67826	76,31552	86,07635	94,15828
Teste	6,368516	7,872004	17,93695	39,57193	75,01048	85,52524	94,67581
Teste	5,653523	7,161945	19,22604	37,61278	75,69893	86,78667	93,83007
Teste	5,899801	7,882108	17,9522	36,40311	75,93099	88,26274	93,70567
Referência	9,051624	19,62095	25,7419	46,86086	86,91256	93,26098	98,29941
Referência	8,943188	17,12295	28,70118	46,05174	84,07297	96,59048	100,426
Referência	9,950955	16,97342	29,10791	47,33912	85,76344	95,26156	99,61632
Referência	10,89442	18,38186	28,23038	48,91314	84,86284	96,93756	100,5006
Referência	9,685285	19,14906	29,33318	48,01121	86,22612	94,8678	100,9795
Referência	10,21548	17,58594	26,74063	48,23474	86,70814	93,97161	97,89668
Referência	11,21916	18,43402	29,23465	46,92073	84,57016	95,00845	98,94096
Referência	9,827234	17,69795	27,12492	47,95666	85,74829	97,92509	100,7573
Referência	10,32502	17,5657	28,76808	46,86251	87,73023	96,06223	101,7472
Referência	9,62915	17,35696	29,27765	49,40652	84,70598	96,78184	101,2163
Referência	9,783233	18,13203	28,01477	47,7301	85,893	95,48108	101,4122
Referência	7,346516	17,91542	28,56962	48,51934	85,27902	95,46368	100,6295

Primeiramente calcula-se o vetor de médias das medições de dissolução para o medicamento de teste e de referência. Sendo $\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_n$ e $\mathbf{y}_1, \dots, \mathbf{y}_m$ as dissoluções do medicamento de referência e de teste, tem-se:

$$\bar{\mathbf{x}}_1 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{1i} = \frac{9,052 + \dots + 7,347}{12} = 9,739$$

$$\bar{\mathbf{x}}_2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{2i} = \frac{19,621 + \dots + 17,915}{12} = 17,995$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$\bar{x}_3 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{3i} = \frac{25,742 + \dots + 28,570}{12} = 28,237$$

$$\bar{x}_4 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{4i} = \frac{46,861 + \dots + 48,519}{12} = 47,734$$

$$\bar{x}_5 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{5i} = \frac{86,913 + \dots + 85,279}{12} = 85,706$$

$$\bar{x}_6 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{6i} = \frac{93,261 + \dots + 95,464}{12} = 95,634$$

$$\bar{x}_7 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{7i} = \frac{98,299 + \dots + 100,629}{12} = 100,202$$

$$\bar{y}_1 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{1i} = \frac{4,447 + \dots + 5,9}{12} = 6,278$$

$$\bar{y}_2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{2i} = \frac{6,677 + \dots + 7,882}{12} = 7,719$$

$$\bar{y}_3 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{3i} = \frac{17,973 + \dots + 17,952}{12} = 18,272$$

$$\bar{y}_4 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{4i} = \frac{38,412 + \dots + 36,403}{12} = 38,452$$

$$\bar{y}_5 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{5i} = \frac{74,331 + \dots + 75,931}{12} = 75,395$$

$$\bar{y}_6 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{6i} = \frac{87,073 + \dots + 88,263}{12} = 86,399$$

$$\bar{y}_7 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{7i} = \frac{93,739 + \dots + 93,706}{12} = 94,177$$

Então, o vetor de médias dos medicamentos de referência e teste são:

$$\bar{\mathbf{x}} = (9,739; 17,995; 28,237; 47,734; 85,706; 95,634; 100,202)^T$$

e

$$\bar{\mathbf{y}} = (6,278; 7,719; 18,272; 38,452; 75,395; 86,399; 94,177)^T$$

O próximo passo é calcular os coeficientes de variações CV_{ref} e CV_{test} para cada ponto de coleta. Sendo s_{ref_i} e s_{test_i} os desvios padrão da dissolução dos medicamentos teste e de referência, para $i = 1, \dots, 7$. Tem-se:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$s_{\text{ref}_1} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{1i} - \bar{y}_1)^2}{n-1}} = 1$$

$$CV_{\text{ref}_1} = \frac{s_{\text{ref}_1}}{\bar{y}_1} \times 100\% = \frac{1}{9,739} \times 100\% = 10,266\%$$

$$s_{\text{ref}_2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{2i} - \bar{y}_2)^2}{n-1}} = 0,797$$

$$CV_{\text{ref}_2} = \frac{s_{\text{ref}_2}}{\bar{y}_2} \times 100\% = \frac{0,797}{17,995} \times 100\% = 4,431\%$$

$$s_{\text{ref}_3} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{3i} - \bar{y}_3)^2}{n-1}} = 1,144$$

$$CV_{\text{ref}_3} = \frac{s_{\text{ref}_3}}{\bar{y}_3} \times 100\% = \frac{1,144}{28,237} \times 100\% = 4,052\%$$

$$s_{\text{ref}_4} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{4i} - \bar{y}_4)^2}{n-1}} = 0,97$$

$$CV_{\text{ref}_4} = \frac{s_{\text{ref}_4}}{\bar{y}_4} \times 100\% = \frac{0,97}{47,734} \times 100\% = 2,032\%$$

$$s_{\text{ref}_5} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{5i} - \bar{y}_5)^2}{n-1}} = 1,075$$

$$CV_{\text{ref}_5} = \frac{s_{\text{ref}_5}}{\bar{y}_5} \times 100\% = \frac{1,075}{85,706} \times 100\% = 1,255\%$$

$$s_{\text{ref}_6} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{6i} - \bar{y}_6)^2}{n-1}} = 1,312$$

$$CV_{\text{ref}_6} = \frac{s_{\text{ref}_6}}{\bar{y}_6} \times 100\% = \frac{1,312}{95,634} \times 100\% = 1,372\%$$

$$s_{\text{ref}_7} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{7i} - \bar{y}_7)^2}{n-1}} = 1,243$$

$$CV_{\text{ref}_7} = \frac{s_{\text{ref}_7}}{\bar{y}_7} \times 100\% = \frac{1,243}{100,202} \times 100\% = 1,24\%$$

$$s_{\text{test}_1} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{1i} - \bar{x}_1)^2}{n-1}} = 0,843$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$CV_{\text{test}_1} = \frac{s_{\text{test}_1}}{\bar{x}_1} \times 100\% = \frac{0,843}{6,278} \times 100\% = 13,429\%$$

$$s_{\text{test}_2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{2i} - \bar{x}_2)^2}{n-1}} = 0,949$$

$$CV_{\text{test}_2} = \frac{s_{\text{test}_2}}{\bar{x}_2} \times 100\% = \frac{0,949}{7,719} \times 100\% = 12,298\%$$

$$s_{\text{test}_3} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{3i} - \bar{x}_3)^2}{n-1}} = 0,572$$

$$CV_{\text{test}_3} = \frac{s_{\text{test}_3}}{\bar{x}_3} \times 100\% = \frac{0,572}{18,272} \times 100\% = 3,131\%$$

$$s_{\text{test}_4} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{4i} - \bar{x}_4)^2}{n-1}} = 0,966$$

$$CV_{\text{test}_4} = \frac{s_{\text{test}_4}}{\bar{x}_4} \times 100\% = \frac{0,966}{38,452} \times 100\% = 2,513\%$$

$$s_{\text{test}_5} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{5i} - \bar{x}_5)^2}{n-1}} = 0,868$$

$$CV_{\text{test}_5} = \frac{s_{\text{test}_5}}{\bar{x}_5} \times 100\% = \frac{0,868}{75,395} \times 100\% = 1,151\%$$

$$s_{\text{test}_6} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{6i} - \bar{x}_6)^2}{n-1}} = 0,888$$

$$CV_{\text{test}_6} = \frac{s_{\text{test}_6}}{\bar{x}_6} \times 100\% = \frac{0,888}{86,399} \times 100\% = 1,028\%$$

$$s_{\text{test}_7} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_{7i} - \bar{x}_7)^2}{n-1}} = 0,638$$

$$CV_{\text{test}_7} = \frac{s_{\text{test}_7}}{\bar{x}_7} \times 100\% = \frac{0,638}{94,177} \times 100\% = 0,677\%$$

Tabela 5: Tabela de coeficientes de variação exemplo 1.

Conjuntos	10	15	20	30	45	60	90
Teste	13,43%	12,3%	3,13%	2,51%	1,15%	1,03%	0,68%
Referência	10,27%	4,43%	4,05%	2,03%	1,25%	1,37%	1,24%

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

O coeficiente de variação para os primeiros 40% pontos de coleta, os primeiros 3 pontos, são menores que 20% nos dois medicamentos e os demais pontos de coleta são menores que 10%. Assim, pode-se aplicar os fatores de similaridade e de diferença para avaliar a similaridade dos medicamentos.

Tabela 6: Tabela de Médias de Dissolução Exemplo 1

Conjuntos	10	15	20	30	45	60	90
Teste	6,278	7,719	18,272	38,452	75,395	86,399	94,177
Referência	9,739	17,995	28,237	47,734	85,706	95,634	100,202

A partir da dissolução no tempo de coleta 60, como pode-se observar na Tabela 6, as médias do grupo teste e referência são superiores a 85. Como descrito em 6, no cálculo do fator de similaridade e de diferença são utilizadas as dissoluções até o primeiro tempo em que a dissolução de ambos os medicamentos sejam superiores a 85.

Tem-se que a soma do quadrado das diferenças das médias é dada por:

$$\sum_{i=1}^6 (\bar{x}_i - \bar{y}_i)^2 = 11,984 + 105,586 + 99,298 + 86,158 + 106,319 + 85,291 = 494,636$$

Assim, obtém-se o fator de similaridade f_2 .

$$f_2 = 50 \log_{10} \left(\left(1 + \frac{494,636}{6} \right)^{-0,5} 100 \right) = 51,966$$

Para o cálculo do fator de diferença, calcula-se as seguintes somas:

$$\sum_{i=1}^6 |\bar{x}_i - \bar{y}_i| = 3,462 + 10,276 + 9,965 + 9,282 + 10,311 + 9,235 = 52,531$$

$$\sum_{i=1}^6 \bar{x}_i = 285,045$$

E obtém-se o fator de diferença

$$f_1 = \frac{52,531}{285,045} \times 100\% = 18,4289\%$$

Tomando como critério o fator de similaridade, tem-se que $f_2 > 50$. Assim, conclui-se que os experimentos são equivalentes.

Na ferramenta de dissolução do Action Stat, a análise pode ser feita mostrando ou ocultando o valor do fator de diferença. Caso seja de interesse aparecer o fator de diferença, na “Configuração de Ensaio” deve-se selecionar a opção “Calcular o fator de diferença”, da seguinte forma:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Action RDC 31

Nº Ensaio:

PDP-002/2019001

Salvar

Carregar

Restaurar Padrão

Configuração de Ensaio

Perfil de Dissolução

Cadastro

Configuração

Consultas

Admin

Configuração de Ensaio

Fator de similaridade f2

☒ Calcular o fator de diferença

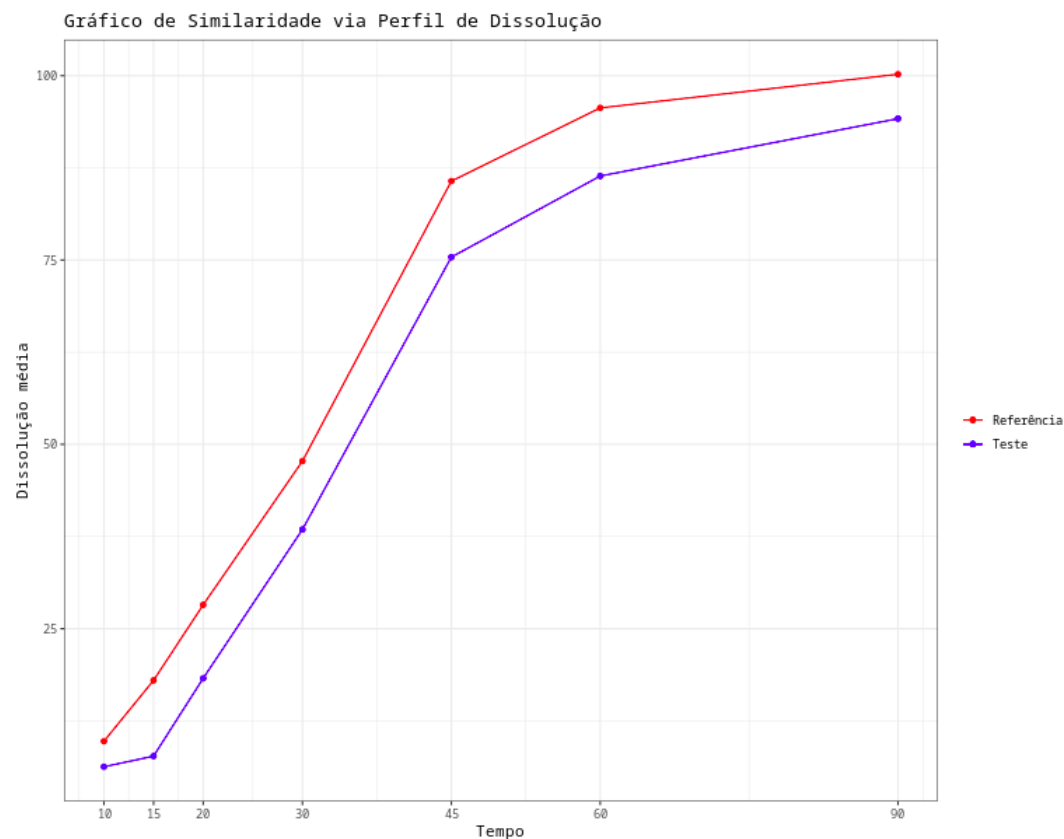
E, assim, os resultados obtidos serão:

Resumo Descritivo para Medicamento Referência							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	9.739	17.995	28.237	47.734	85.706	95.634	100.202
Desvio-padrão	1	0.797	1.144	0.97	1.075	1.312	1.243
RSD (%)	10.268	4.429	4.051	2.032	1.254	1.372	1.24

Resumo Descritivo para Medicamento Teste							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	6.278	7.719	18.272	38.452	75.395	86.399	94.177
Desvio-padrão	0.843	0.949	0.572	0.966	0.868	0.888	0.638
RSD (%)	13.428	12.294	3.13	2.512	1.151	1.028	0.677

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Gráfico de perfis



Resultado de análise

Fator de diferença	Fator de similaridade	Conclusão
18.429	51.966	Similar

Caso não seja de interesse aparecer o fator de diferença, em “Configuração de Ensaio” não deve-se selecionar a opção “Calcular o fator de diferença”, ou seja:

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Action RDC 31

Nº Ensaio:

PDP-002/2019001

Salvar

Carregar

Restaurar Padrão

Configuração de Ensaio

Perfil de Dissolução

Cadastro

Configuração

Consultas

Admin

Configuração de Ensaio

Fator de similaridade f2

☐ Calcular o fator de diferença

E, assim, a tabela com o resultado da análise não fornecerá o fator de diferença, como mostra a Figura a seguir:

Resultado de análise	
Fator de similaridade	Conclusão
51.966	Similar

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

11.2 Modelo Independente Multivariado

Na Tabela 7 apresentam-se os dados utilizados na análise. Foram utilizadas 12 amostras para o medicamento teste e 12 para o medicamento de referência em 7 diferentes tempos de coleta.

Tabela 7: Experimento perfil de dissolução - exemplo 2.

Medicamento	10	15	20	30	45	60	90
Teste	3,88	8,34	13,71	27,41	58,92	88,76	102,85
Teste	1,77	5,78	11,33	25,68	60,56	86,87	104,61
Teste	2,4	7,25	13,28	27,05	65,34	94,13	105,61
Teste	6,27	11,46	19,06	34,69	65,84	91,98	103,5
Teste	5,83	8,68	13,95	28,78	60,58	94,35	105,52
Teste	7,27	11,91	18,98	36,79	70,93	91,14	107,12
Teste	3,96	8,41	13,82	28,05	59,62	89,99	102,33
Teste	1,8	5,83	11,52	25,88	62,02	87,74	104,41
Teste	2,42	7,63	13,45	27,3	65,76	96,06	106,15
Teste	6,29	11,54	19,54	35,23	66,44	94,38	103,8
Teste	5,93	8,8	14,1	29,06	61,29	95,36	105,75
Teste	7,35	11,92	19,16	37,44	72,6	91,69	107,72
Referência	0,76	3,54	8,25	22,94	59,82	93,37	102,85
Referência	0,81	4,67	10,24	25,48	56,12	88,46	100,93
Referência	1,72	5,89	11,14	27,31	58,64	90,85	102,19
Referência	2,66	7,39	13,45	30,5	63,7	94,58	103,36
Referência	1,1	4,85	9,56	25,87	59,01	89,81	103,14
Referência	1,63	6,13	10,98	27,89	64,4	94,33	103,68
Referência	0,52	3,56	9,09	25,78	62,59	92,25	100,27
Referência	0,47	3,57	9,48	22,42	56	88,08	100,28
Referência	1,44	5,26	10,13	24,04	55,87	81,69	100,63
Referência	1,74	6,82	11,37	28	61,78	91,18	100,23
Referência	0,65	4,02	9,63	22,52	57,36	87,23	101,18
Referência	1,45	4,92	10,35	25,32	59,98	93,41	101,31

Primeiramente obtêm-se os vetores de médias do medicamento de teste e de referência

$$\bar{x} = (4, 598; 8, 963; 15, 158; 30, 280; 64, 158; 91, 871; 104, 948)^T$$

$$\bar{y} = (1, 246; 5, 052; 10, 306; 25, 672; 59, 606; 90, 437; 101, 671)^T$$

E os coeficientes de variação.

Tabela 8: Tabela de coeficientes de variação exemplo 2.

Conjuntos	10	15	20	30	45	60	90
Teste	46,4%	25,1%	20,5%	14,6%	6,9%	3,3%	1,6%
Referência	52,1%	25,7%	13%	9,6%	5%	4,1%	1,3%

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Tem-se que os primeiros coeficientes de variação são superiores a 20%. Então, não pode-se aplicar o modelo independente simples, logo utiliza-se o modelo independente multivariado. Seguindo os passos como descrito em 3, obtêm-se as matrizes de variância e covariância das medições do medicamento teste e referência.

$$S_T^2 = \begin{bmatrix} 4,544 & 4,474 & 5,728 & 8,343 & 5,136 & 2,248 & 1,128 \\ 4,474 & 5,069 & 6,851 & 9,609 & 6,931 & 2,288 & 0,956 \\ 5,728 & 6,851 & 9,623 & 13,404 & 10,349 & 2,819 & 1,243 \\ 8,343 & 9,609 & 13,404 & 19,489 & 15,875 & 3,036 & 2,740 \\ 5,136 & 6,931 & 10,349 & 15,875 & 19,609 & 3,781 & 5,150 \\ 2,248 & 2,288 & 2,819 & 3,036 & 3,781 & 9,376 & 1,908 \\ 1,128 & 0,956 & 1,243 & 2,740 & 5,150 & 1,908 & 2,757 \end{bmatrix}$$

$$S_R^2 = \begin{bmatrix} 0,421 & 0,798 & 0,788 & 1,357 & 1,006 & 0,798 & 0,395 \\ 0,798 & 1,680 & 1,603 & 2,814 & 1,935 & 1,261 & 0,609 \\ 0,788 & 1,603 & 1,782 & 2,814 & 1,762 & 1,358 & 0,495 \\ 1,357 & 2,814 & 2,814 & 6,107 & 5,358 & 4,953 & 1,369 \\ 1,006 & 1,935 & 1,762 & 5,358 & 9,000 & 9,058 & 1,869 \\ 0,798 & 1,261 & 1,358 & 4,953 & 9,058 & 13,675 & 2,574 \\ 0,395 & 0,609 & 0,495 & 1,369 & 1,869 & 2,574 & 1,699 \end{bmatrix}$$

Assim obtêm-se a matriz de variância e covariância agrupada.

$$S_{pool}^2 = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$$

$$S_{pool}^2 = \begin{bmatrix} 2,482 & 2,636 & 3,258 & 4,850 & 3,071 & 1,523 & 0,761 \\ 2,636 & 3,375 & 4,227 & 6,211 & 4,433 & 1,775 & 0,782 \\ 3,258 & 4,227 & 5,703 & 8,109 & 6,056 & 2,088 & 0,869 \\ 4,850 & 6,211 & 8,109 & 12,798 & 10,617 & 3,994 & 2,055 \\ 3,071 & 4,433 & 6,056 & 10,617 & 14,305 & 6,420 & 3,510 \\ 1,523 & 1,775 & 2,088 & 3,994 & 6,420 & 11,525 & 2,241 \\ 0,761 & 0,782 & 0,869 & 2,055 & 3,510 & 2,241 & 2,228 \end{bmatrix}$$

E calcula-se sua inversa

$$S_{pool}^{-1} = \begin{bmatrix} 3,176 & -1,715 & -0,029 & -0,709 & 0,597 & -0,111 & -0,646 \\ -1,715 & 7,031 & -2,798 & -1,254 & 0,384 & -0,101 & -0,137 \\ -0,029 & -2,798 & 3,533 & -0,842 & -0,174 & 0,067 & 0,598 \\ -0,709 & -1,254 & -0,842 & 1,961 & -0,619 & 0,087 & 0,090 \\ 0,597 & 0,384 & -0,174 & -0,619 & 0,490 & -0,091 & -0,381 \\ -0,111 & -0,101 & 0,067 & 0,087 & -0,091 & 0,129 & -0,020 \\ -0,646 & -0,137 & 0,598 & 0,090 & -0,381 & -0,020 & 1,021 \end{bmatrix}$$

Sendo o limite de similaridade $\Delta = 10$, calcula-se a distância máxima:

$$D_{Max} = \sqrt{(\Delta)^T S_{pool}^{-1} (\Delta)} = 13,158.$$

Em seguida, obtêm-se o vetor de diferença das médias $\bar{z}$

$$\bar{z} = (\bar{x} - \bar{y}) = (3,352; 3,911; 4,852; 4,608; 4,552; 1,434; 3,277).$$

E assim calcula-se a distância de Mahalanobis estimada

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$\hat{D}_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}} = 4,686.$$

O próximo passo consiste em calcular o intervalo de confiança para a distância de Mahalanobis (D_M^l, D_M^u). Fixa-se um nível de significância de 10% e para o delineamento apresentado (12 comprimidos de cada medicamento e 7 tempos de coleta), tem-se que a constante K é igual a:

$$K = \left(\frac{mn}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right) = \left(\frac{12 \times 12}{24} \right) \left(\frac{24-7-1}{(24-2)7} \right) = 0,623$$

Os valores de y_1^* e y_2^* são respectivamente:

$$y_1^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 0.9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_1^* = (4,674; 5,454; 6,766; 6,426; 6,348; 2,000; 4,570)^T$$

$$y_2^* = \bar{\mathbf{z}} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p, 2n-p-1, 0.9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_2^* = (2,030; 2,368; 2,938; 2,790; 2,756; 0,868; 1,984)^T$$

Assim, calcula-se o intervalo com 90% de confiança para a distância de Mahalanobis

$$\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*} = 6,532593$$

$$\sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} = 2,836579$$

$$D_M^u = 6,532593$$

$$D_M^l = 2,836579$$

Tem-se que o limite superior do intervalo de confiança é menor que a distância máxima tolerada, $D_M^u < D_{Max}$. Portanto conclui-se que há similaridade entre o medicamento teste e o de referência. Os resultados do Action Stat são dados a seguir.

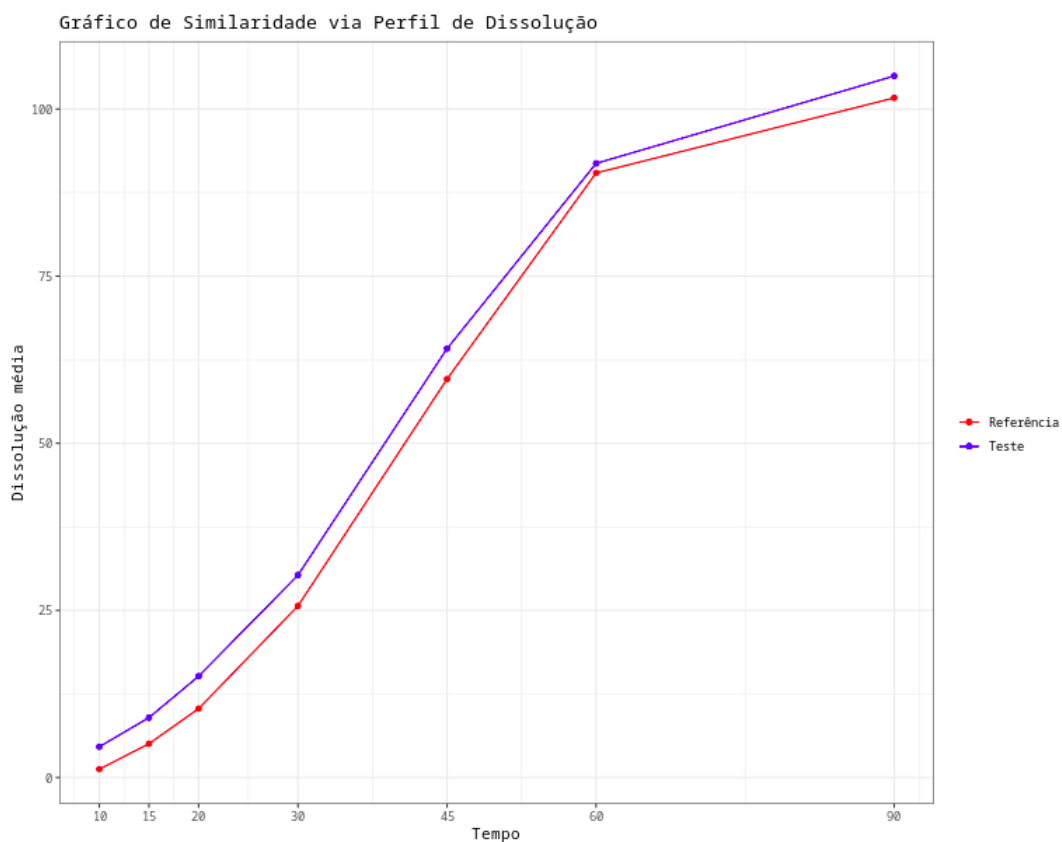
Resumo Descritivo para Medicamento Referência							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	1.246	5.052	10.306	25.672	59.606	90.437	101.671
Desvio-padrão	0.649	1.296	1.335	2.471	3	3.698	1.303
RSD (%)	52.087	25.653	12.954	9.625	5.033	4.089	1.282

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resumo Descritivo para Medicamento Teste

	10	15	20	30	45	60	90
Média	4.598	8.963	15.158	30.28	64.158	91.871	104.948
Desvio-padrão	2.132	2.252	3.102	4.415	4.428	3.062	1.66
RSD (%)	46.368	25.126	20.464	14.581	6.902	3.333	1.582

Gráfico de perfis



	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Distância Mahalanobis

Estimativa ▴ ▾	Limite Inferior ▴ ▾	Limite Superior ▴ ▾	Distância Máxima Tolerada ▴ ▾	Conclusão ▴ ▾
4.685	2.838	6.533	13.158	Similar

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

11.3 Modelo Independente Multivariado - comparação entre dois medicamentos de referência

Considere os dados apresentados na Tabela 9. Foram utilizadas 12 amostras para o medicamento teste, 12 para o medicamento de referência, 12 para o medicamento Referência1 e 12 para o medicamento Referência2 em 5 diferentes tempos de coleta.

Tabela 9: Experimento perfil de dissolução - exemplo 3.

Medicamento	5	10	15	30	60
Teste	1,23	9,93	45,26	98,42	103,1
Teste	0,65	11,15	74,78	100,81	102,78
Teste	1,02	13,64	60,45	98,5	101,65
Teste	1,17	23,12	79,23	99,58	101,42
Teste	1,76	14,75	62,57	99,79	103,4
Teste	1,67	10,74	43,12	96,01	101,56
Teste	0,31	14,29	61,28	98,09	102,2
Teste	1,02	10,38	67,46	98,05	101,01
Teste	0,57	22,1	55,18	96,85	101,27
Teste	0,95	18,81	67,21	97,59	101,09
Teste	0,91	15,25	75,85	99,54	101,72
Teste	2,06	14,4	85,88	100,49	101,67
Referencia	1,82	8,59	52,3	95,89	102,95
Referencia	1,58	12,91	61,06	96,9	102,79
Referencia	1,85	20,86	66,41	96,81	103,58
Referencia	2,82	18,34	76,29	99,28	102,64
Referencia	2,12	33,49	84,32	100,02	102,44
Referencia	2,08	8,13	57,51	98,55	103,45
Referencia	1,15	18,02	55,96	97,1	102,5
Referencia	1,39	15,07	77,86	99,72	101,9
Referencia	2,5	24,21	73,57	98,98	102,83
Referencia	1,02	21,5	76,66	100,05	102,53
Referencia	0,98	16,67	57,36	96,66	102,24
Referencia	3,33	61,77	96,02	103,03	103,38
Referencia1	0,11	3,1	16,34	96,58	104,42
Referencia1	0	5,62	62,77	102,03	103,9
Referencia1	0	3,76	42,15	95,85	101,5
Referencia1	0,46	3,73	38,88	95,38	101,38
Referencia1	0	5,93	72,39	101,06	103,9
Referencia1	0,14	3,95	23,83	92,58	101,78
Referencia1	0	4,7	28,93	93,32	101,46
Referencia1	0	4,78	33,33	93,69	103,01
Referencia1	1,37	5,82	29,84	93,99	100,85
Referencia1	0	2,43	38,87	93,18	101,33
Referencia1	0	3,74	20,05	89,28	100,68
Referencia1	0	3,37	71,31	97,18	100,25
Referencia2	1,82	8,59	52,3	95,89	102,95
Referencia2	1,58	12,91	61,06	96,9	102,79
Referencia2	1,85	20,86	66,41	96,81	103,58
Referencia2	2,82	18,34	76,29	99,28	102,64
Referencia2	2,12	33,49	84,32	100,02	102,44
Referencia2	2,08	8,13	57,51	98,55	103,45
Referencia2	1,15	18,02	55,96	97,1	102,5
Referencia2	1,39	15,07	77,86	99,72	101,9
Referencia2	2,5	24,21	73,57	98,98	102,83
Referencia2	1,02	21,5	76,66	100,05	102,53
Referencia2	0,98	16,67	57,36	96,66	102,24
Referencia2	3,33	61,77	96,02	103,03	103,38

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Primeiramente obtêm-se os vetores de médias do medicamento de teste e de referência

$$\bar{x} = (1, 11; 14, 88; 64, 856; 98, 643; 101, 906)^T$$

$$\bar{y} = (1, 887; 21, 63; 69, 61; 98, 582; 102, 769)^T$$

E os coeficientes de variação.

Tabela 10: Tabela de coeficientes de variação exemplo 3.

Conjuntos	5	10	15	30	60
Teste	46,1%	29,6%	20,1%	1,5%	0,8%
Referência	38,8%	66,6%	19,2%	2,1%	0,49%

Tem-se que os primeiros coeficientes de variação são superiores a 20%. Então, não pode-se aplicar o modelo independente simples, logo utiliza-se o modelo independente multivariado. De acordo com a Seção 3, a distância máxima tolerada pode ser calculada transformando o limite de similaridade Δ em termos da distância de Mahalanobis ou calculando a distância de Mahalanobis entre dois medicamentos referência. Para esse conjunto de dados, iremos considerar a distância de Mahalanobis entre dois medicamentos referência (que são os medicamentos “Referência1” e “Referência2”).

Seguindo os passos como descrito na Seção 8.1, obtêm-se as matrizes de variância e covariância das medições do medicamento Referência1 e Referência2.

$$S_{Ref1}^2 = \begin{bmatrix} 0,160 & 0,160 & -1,734 & -0,190 & -0,155 \\ 0,160 & 1,265 & 7,037 & 1,764 & 0,506 \\ -1,734 & 7,037 & 367,676 & 52,907 & 3,091 \\ -0,190 & 1,764 & 52,907 & 12,754 & 3,101 \\ -0,155 & 0,506 & 3,091 & 3,101 & 1,966 \end{bmatrix}$$

$$S_{Ref2}^2 = \begin{bmatrix} 0,535 & 6,428 & 5,702 & 0,855 & 0,193 \\ 6,428 & 207,179 & 158,535 & 23,011 & 1,652 \\ 5,702 & 158,535 & 177,974 & 25,037 & -0,198 \\ 0,855 & 23,011 & 25,037 & 4,096 & 0,025 \\ 0,193 & 1,652 & -0,198 & 0,025 & 0,256 \end{bmatrix}$$

Assim obtém-se a matriz de variância e covariância agrupada.

$$S_{pool}^2 = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$$

$$S_{pool}^2 = \begin{bmatrix} 0,347 & 3,294 & 1,984 & 0,332 & 0,019 \\ 3,294 & 104,222 & 82,786 & 12,388 & 1,079 \\ 1,984 & 82,786 & 272,825 & 38,972 & 1,447 \\ 0,332 & 12,388 & 38,972 & 8,425 & 1,563 \\ 0,019 & 1,079 & 1,447 & 1,563 & 1,111 \end{bmatrix}$$

E calcula-se sua inversa

$$S_{pool}^{-1} = \begin{bmatrix} 4,175 & -0,143 & 0,035 & -0,162 & 0,251 \\ -0,143 & 0,018 & -0,005 & 0,008 & -0,019 \\ 0,035 & -0,005 & 0,021 & -0,117 & 0,141 \\ -0,162 & 0,008 & -0,117 & 0,846 & -1,043 \\ 0,251 & -0,019 & 0,141 & -1,043 & 2,197 \end{bmatrix}$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Em seguida, obtém-se o vetor de diferença das médias $\bar{z}$

$$\bar{z} = (\text{Ref1} - \text{Ref2}) = (1,713; 17,386; 29,719; 3,239; 0,731).$$

E assim calcula-se a distância de Mahalanobis estimada

$$\hat{D}_M = \sqrt{\bar{z}^T S_{pool}^{-1} \bar{z}} = 3,692.$$

O próximo passo consiste em calcular o intervalo de confiança para a distância de Mahalanobis (D_M^l, D_M^u). Fixa-se um nível de significância de 10% e para o delineamento apresentado (12 comprimidos de cada medicamento e 5 tempos de coleta), tem-se que a constante K é igual ao calculado anteriormente, ou seja, $K = 0,982$.

Os valores de y_1^* e y_2^* são respectivamente:

$$y_1^* = \bar{z} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p,m+n-p-1,0,9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_1^* = (2,407; 24,427; 41,756; 4,551; 1,027)^T$$

$$y_2^* = \bar{z} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p,2n-p-1,0,9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_2^* = (1,019; 10,344; 17,682; 1,927; 0,435)^T$$

Assim, calcula-se o intervalo com 90% de confiança para a distância de Mahalanobis

$$\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*} = 5,188$$

$$\sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} = 2,197$$

$$D_M^u = 5,188$$

$$D_M^l = 2,197$$

Como a distância máxima tolerada é definida como sendo o limite superior do intervalo de confiança, a distância máxima tolerada é 5,188.

Assim, tem-se a distância máxima tolerada. O próximo passo é encontrar a distância de Mahalanobis entre o Teste e o Referência e seu intervalo de confiança. Para isso, é necessário repetir o procedimento acima, mas com os dados dos medicamentos teste e Referência. Primeiro, obtém-se as matrizes de variância e covariância das medições do medicamento teste e Referência.

$$S_T^2 = \begin{bmatrix} 0,262 & -0,441 & 0,539 & 0,139 & 0,059 \\ -0,441 & 19,413 & 17,994 & -0,270 & -1,410 \\ 0,539 & 17,994 & 169,800 & 14,416 & -2,058 \\ 0,138 & -0,270 & 14,416 & 2,099 & 0,509 \\ 0,059 & -1,410 & -2,058 & 0,509 & 0,627 \end{bmatrix}$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$S_R^2 = \begin{bmatrix} 0,535 & 6,428 & 5,702 & 0,855 & 0,193 \\ 6,428 & 207,179 & 158,535 & 23,011 & 1,652 \\ 5,702 & 158,535 & 177,974 & 25,037 & -0,198 \\ 0,855 & 23,011 & 25,037 & 4,096 & 0,025 \\ 0,193 & 1,652 & -0,198 & 0,025 & 0,256 \end{bmatrix}$$

Assim obtém-se a matriz de variância e covariância agrupada.

$$S_{pool}^2 = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$$

$$S_{pool}^2 = \begin{bmatrix} 0,398 & 2,993 & 3,121 & 0,497 & 0,126 \\ 2,993 & 113,296 & 88,265 & 11,370 & 0,121 \\ 3,121 & 88,265 & 173,887 & 19,727 & -1,128 \\ 0,497 & 11,370 & 19,727 & 3,098 & 0,267 \\ 0,126 & 0,121 & -1,128 & 0,267 & 0,442 \end{bmatrix}$$

E calcula-se sua inversa

$$S_{pool}^{-1} = \begin{bmatrix} 3,665 & -0,064 & -0,043 & 0,021 & -1,149 \\ -0,064 & 0,016 & -0,004 & -0,022 & 0,016 \\ -0,043 & -0,004 & 0,037 & -0,231 & 0,247 \\ 0,021 & -0,022 & -0,231 & 2,030 & -1,817 \\ -1,149 & 0,016 & 0,247 & -1,817 & 4,316 \end{bmatrix}$$

Em seguida, obtém-se o vetor de diferença das médias $\bar{z}$

$$\bar{z} = (\bar{x} - \bar{y}) = (-0,777; -6,750; -4,754; 0,061; -0,863).$$

E assim calcula-se a distância de Mahalanobis estimada

$$\hat{D}_M = \sqrt{\bar{z}^T S_{pool}^{-1} \bar{z}} = 2,595.$$

O próximo passo consiste em calcular o intervalo de confiança para a distância de Mahalanobis (D_M^l, D_M^u). Fixa-se um nível de significância de 10% e para o delineamento apresentado (12 comprimidos de cada medicamento e 5 tempos de coleta), tem-se que a constante K é igual a:

$$K = \left(\frac{mn}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right) = \left(\frac{12 \times 12}{24} \right) \left(\frac{24-5-1}{(24-2)5} \right) = 0,982$$

Os valores de y_1^* e y_2^* são respectivamente:

$$y_1^* = \bar{z} \left(1 + \sqrt{\frac{F_{(p, m+n-p-1, 0,9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

$$y_1^* = (-1,224; -10,640; -7,494; 0,096; -1,361)^T$$

$$y_2^* = \bar{z} \left(1 - \sqrt{\frac{F_{(p, 2n-p-1, 0,9)}}{K \hat{D}_M^2}} \right)$$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

$$y_2^* = (-0,329; -2,860; -2,015; 0,026; -0,366)^T,$$

pois $F_{(p,m+n-p-1,0,9)} = F_{(p,12+12-5-1,0,9)} = 2,196$.

Assim, calcula-se o intervalo com 90% de confiança para a distância de Mahalanobis

$$\sqrt{(y_1^*)^T S_{pool}^{-1} y_1^*} = 4,091$$

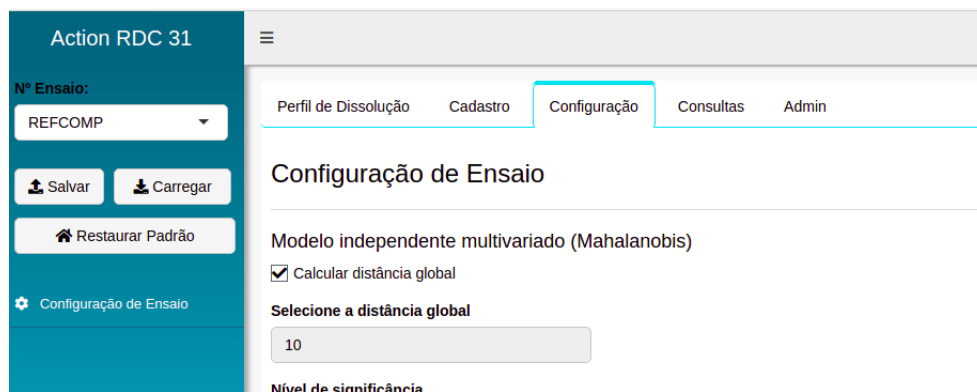
$$\sqrt{(y_2^*)^T S_{pool}^{-1} y_2^*} = 1,100$$

$$D_M^u = 4,091$$

$$D_M^l = 1,100$$

Tem-se que o limite superior do intervalo de confiança utilizando os dados do teste e referência é menor que a distância máxima tolerada, $4,091 = D_M^u < D_{Max} = 5,188$. Portanto conclui-se que há similaridade entre o medicamento teste e o de referência.

Para selecionar que o Action faça a análise através da distância entre dois medicamentos referência, deve-se selecionar a opção “Calcular distância global” na Configuração de Ensaio, conforme Figura a seguir.



Os resultados do Action Stat são dados a seguir.

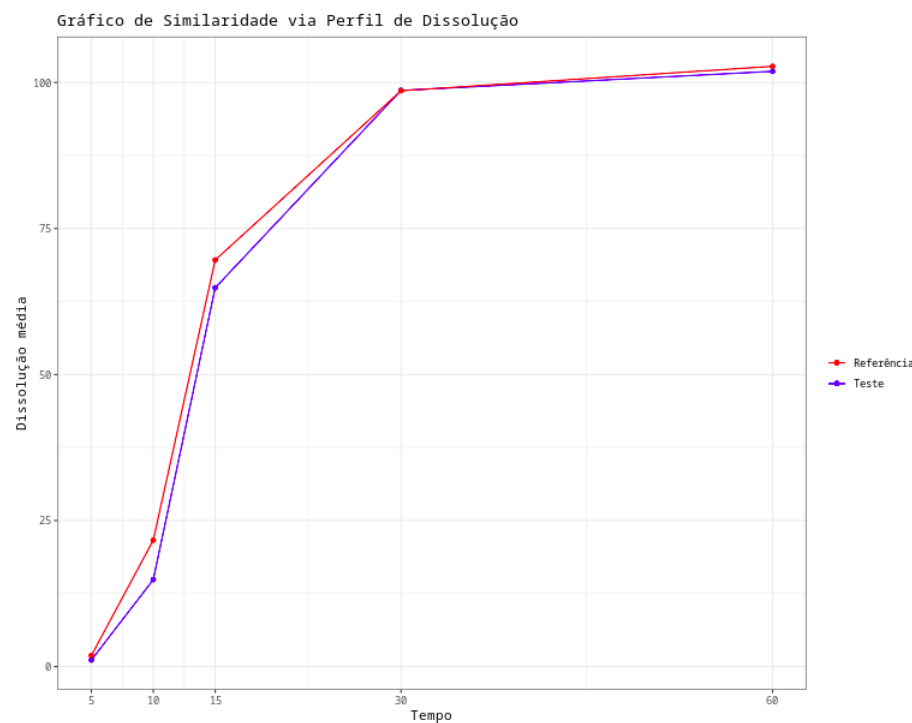
Resumo Descritivo para Medicamento Referência					
	5	10	15	30	60
Média	1.887	21.63	69.61	98.582	102.769
Desvio-padrão	0.731	14.394	13.341	2.024	0.506
RSD (%)	38.739	66.546	19.165	2.053	0.492

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resumo Descritivo para Medicamento Teste

	5	10	15	30	60
Média	1.11	14.88	64.856	98.643	101.906
Desvio-padrão	0.512	4.406	13.031	1.449	0.792
RSD (%)	46.126	29.61	20.092	1.469	0.777

Gráfico de perfis



	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resultado de análise

Teste de Royston			
Medicamento	Estatística do teste	Valor-p	
Teste	5.239	0.379	
Referência	9.414	0.059	

Teste M de Box			
Estatística	G.L.	Valor-p	
Chi-Sq (approx.)	33.346	0.004	

Distância Mahalanobis				
Estimativa	Limite Inferior	Limite Superior	Distância Máxima Tolerada	Conclusão
2.595	1.100	4.091	5.188	Similar

Se a distância máxima tolerada fosse calculada sem os medicamentos Referência1 e Referência2, ou seja, transformando o limite de similaridade Δ em termos da distância de Mahalanobis, em que o limite de similaridade é $\Delta = 10$, tem-se que a distância máxima é seria dada por

$$D_{Max} = \sqrt{(\Delta)^T S_{pool}^{-1} (\Delta)} = 19,921,$$

e, assim, também se concluiria que há similaridade entre o medicamento de teste e o de referência pois $4,091 = D_M^u < D_{Max} = 19,921$. Esse resultado também pode ser encontrado no Action, porém não selecionando a opção “Calcular distância global”, e é dado na Figura a seguir.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resultado de análise

Teste de Royston

Medicamento	Estatística do teste	Valor-p
Teste	5.239	0.379
Referência	9.414	0.059

Teste M de Box

	Estatística	G.L.	Valor-p
Chi-Sq (approx.)	118.199	45.000	0.000

Distância Mahalanobis

Estimativa	Limite Inferior	Limite Superior	Distância Máxima Tolerada	Conclusão
2.595	1.100	4.091	19.921	Similar

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

11.4 Fator de similaridade via *bootstrap*

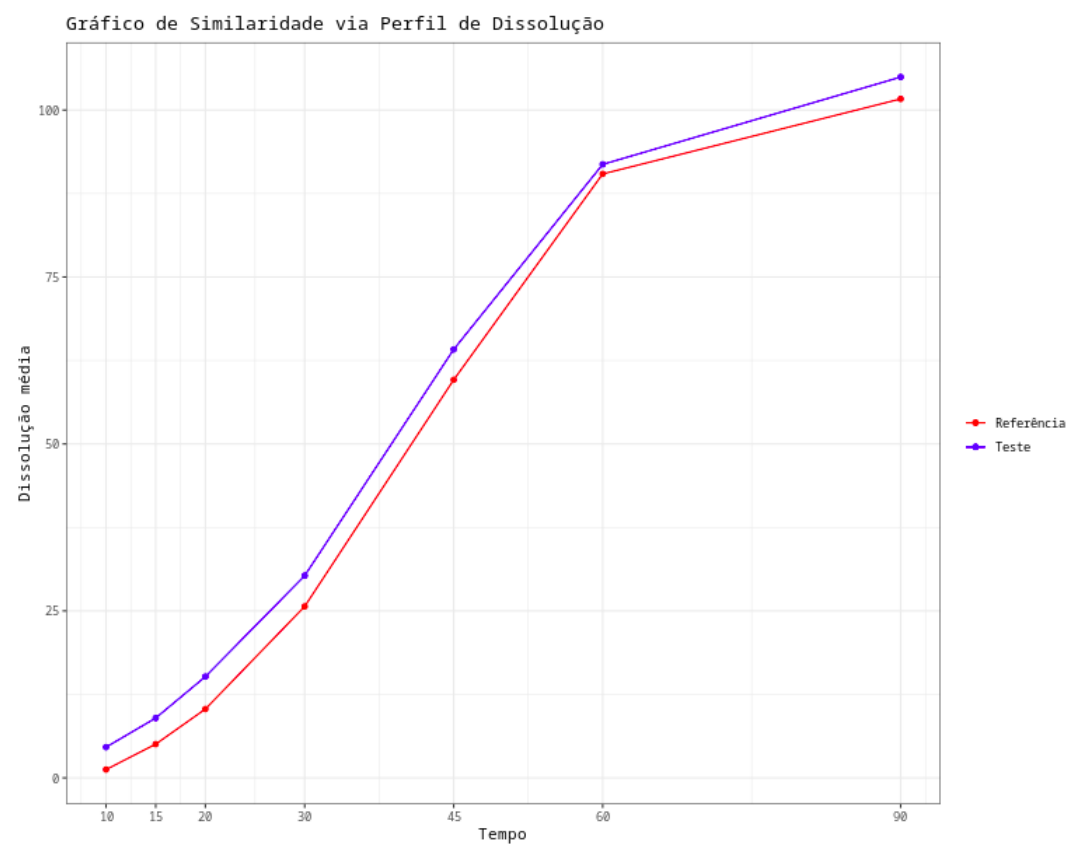
Conforme apresentado em 9, o fator de similaridade via *bootstrap* é um estudo de simulação e, por isso, os resultados são reprodutíveis sob certas circunstâncias, como a semente escolhida e o número de reamostragens selecionado. Recomenda-se o uso de, no mínimo, 20000 amostras e estabelece-se o valor da semente como 2021. Sob essas condições, usando os dados da Tabela 7, tem-se que os resultados são:

Resumo Descritivo para Medicamento Referência							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	1.246	5.052	10.306	25.672	59.606	90.437	101.671
Desvio-padrão	0.649	1.296	1.335	2.471	3	3.698	1.303
RSD (%)	52.087	25.653	12.954	9.625	5.033	4.089	1.282

Resumo Descritivo para Medicamento Teste							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	4.598	8.963	15.158	30.28	64.158	91.871	104.948
Desvio-padrão	2.132	2.252	3.102	4.415	4.428	3.062	1.66
RSD (%)	46.368	25.126	20.464	14.581	6.902	3.333	1.582

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

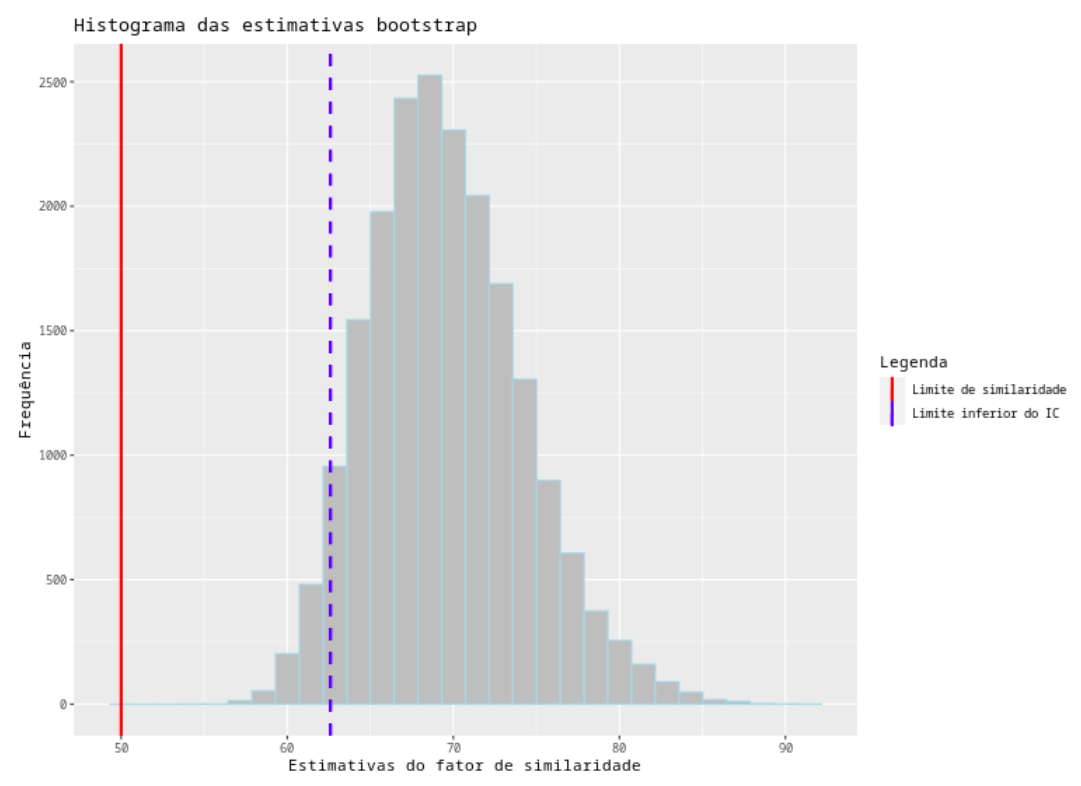
Gráfico de perfis



	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resultado de análise

Limite inferior do intervalo	Limite superior do intervalo	Conclusão
62.602	77.762	Similar



E conclui-se que os perfis são similares.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

11.5 Modelo Dependente

Tem-se as seguintes medições exibidas na Tabela 11. Foram utilizadas 12 amostras para o medicamento teste e 12 para o medicamento de referência em 7 diferentes tempos de coleta.

Tabela 11: Experimento perfil de dissolução - exemplo 3.

Medicamento	10	15	20	30	45	60	90
Teste	1,75540	6,11765	8,12849	23,11199	62,59756	93,68092	102,08882
Teste	1,90504	4,78254	7,78196	26,22654	48,84576	90,09046	98,99838
Teste	0,99544	5,35327	9,03355	27,83873	56,31316	86,30538	100,28904
Teste	0,35104	6,26978	9,24692	26,54179	65,55399	88,94080	99,51165
Teste	1,95470	3,73882	10,48516	24,35081	58,53757	86,68736	99,57920
Teste	0,73469	4,15171	9,59335	26,58880	62,07072	88,45386	97,80333
Teste	0,43558	4,60079	9,55663	23,38638	60,98411	91,41679	101,21666
Teste	0,93251	5,88974	9,50763	26,59055	53,16869	84,77471	100,53056
Teste	0,29434	6,21265	6,75975	23,88144	59,53573	89,98092	101,47881
Teste	0,49723	4,81281	9,45157	27,29151	57,78985	92,91417	98,97528
Teste	1,71216	6,01989	10,47091	22,36621	55,80351	89,22002	100,35959
Teste	1,15622	5,68868	11,47067	21,78706	63,85500	97,07380	100,59205
Referência	6,26355	7,88517	19,03471	19,85315	69,27524	94,32446	104,48222
Referência	1,91936	8,78903	13,06000	29,89500	62,01864	92,31186	105,51553
Referência	5,90287	10,47132	19,17107	27,02512	63,61098	91,42777	105,74631
Referência	1,90607	9,46438	18,29586	36,41865	65,67760	90,42559	104,93029
Referência	5,25388	13,09009	20,58026	40,79825	69,41460	92,06778	103,87861
Referência	6,29913	11,53029	15,46481	24,42475	61,20546	87,65682	103,77419
Referência	4,84910	10,83830	16,60113	29,11001	62,31255	89,75092	104,83272
Referência	6,18121	8,10613	22,67939	28,49656	61,69196	95,95838	104,10408
Referência	1,40350	11,50675	11,33095	35,03031	54,44499	93,03407	104,03505
Referência	1,85253	6,61161	13,64478	29,13091	62,00603	89,74296	103,99741
Referência	4,46082	9,65391	13,54588	30,40949	68,02129	94,27593	103,10410
Referência	9,10968	10,36376	12,80054	32,43720	64,83148	91,81177	104,50940

Primeiramente, obtêm-se os vetores de médias do medicamento de teste e referência

$$\bar{x} = (4, 62; 9, 86; 16, 35; 30, 25; 63, 71; 91, 90; 104, 40)^T$$

$$\bar{y} = (1, 06; 5, 30; 9, 30; 25, 58; 75, 89; 96, 100; 10, 10)^T$$

E os coeficientes de variação.

Tabela 12: Coeficientes de variação exemplo 3.

Conjuntos	10	15	20	30	45	60	90
Teste	59,34%	16,29%	13,73%	8,30%	8,09%	3,82%	1,20%
Referência	51,80%	18,45%	21,94%	18,25%	6,54%	2,52%	0,72%

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Tem-se que os tempos de coleta 10 e 20 minutos, os quais estão contidos nos primeiros 40% pontos de coleta, possuem coeficientes de variação superiores a 20%. Então, não pode-se aplicar o modelo independente simples e utiliza-se o modelo dependente. Adotando-se $y_{max} = 110$ e seguindo os passos como descrito em 10 utilizando o modelo Weibull, tem-se os resultados abaixo.

O primeiro tempo de medição de dissolução transformado é dado por:

$$\log(10) = 2,30259$$

A primeira medição de dissolução transformada do medicamento teste é dada por:

$$\ln \left(-\ln \left(1 - \frac{y(t)}{y_{max}} \right) \right) = \ln \left(-\ln \left(1 - \frac{1,75540}{110} \right) \right) = -4,129750$$

E a primeira medição de dissolução transformada do medicamento referência é dada por:

$$\ln \left(-\ln \left(1 - \frac{y(t)}{y_{max}} \right) \right) = \ln \left(-\ln \left(1 - \frac{6,26355}{110} \right) \right) = -2,836562$$

Na Tabela 13 apresentam-se as medições transformadas dos perfis de dissolução do medicamento teste e referência.

Tabela 13: Dados transformados do experimento perfil de dissolução.

Medicamento	2,30259	2,70805	2,99573	3,40120	3,80666	4,09434	4,49981
Teste	-4,12975	-2,86083	-2,56697	-1,44452	-0,17220	0,64613	0,96782
Teste	-4,04726	-3,11336	-2,61221	-1,30062	-0,53259	0,53607	0,83397
Teste	-4,70051	-2,99793	-2,45700	-1,23170	-0,33224	0,42868	0,88675
Teste	-5,74574	-2,83554	-2,43261	-1,28687	-0,09849	0,50268	0,85451
Teste	-4,02130	-3,36447	-2,30085	-1,38541	-0,27493	0,43921	0,85725
Teste	-5,00544	-3,25779	-2,39413	-1,28483	-0,18542	0,48875	0,78815
Teste	-5,52958	-3,15297	-2,39815	-1,43119	-0,21278	0,57561	0,92728
Teste	-4,76610	-2,89988	-2,40353	-1,28475	-0,41492	0,38705	0,89707
Teste	-5,92216	-2,84497	-2,75795	-1,40750	-0,24947	0,53286	0,93920
Teste	-5,39692	-3,10691	-2,40972	-1,25471	-0,29410	0,62178	0,83306
Teste	-4,15489	-2,87740	-2,30228	-1,48142	-0,34550	0,51072	0,88975
Teste	-4,55004	-2,93557	-2,20613	-1,51083	-0,14077	0,76138	0,89972
Referência	-2,83656	-2,59854	-1,66072	-1,61425	-0,00638	0,66700	1,09611
Referência	-4,03970	-2,48563	-2,06840	-1,14841	-0,18673	0,60300	1,16311
Referência	-2,89759	-2,30224	-1,65285	-1,26605	-0,14686	0,57595	1,17948
Referência	-4,04671	-2,40830	-1,70423	-0,91108	-0,09542	0,54596	1,12402
Referência	-3,01714	-2,06594	-1,57437	-0,76905	-0,00293	0,59547	1,06080
Referência	-2,83073	-2,20065	-1,88712	-1,38197	-0,20719	0,46622	1,05493
Referência	-3,09923	-2,26598	-1,81032	-1,17964	-0,17935	0,52613	1,11780
Referência	-2,85019	-2,56983	-1,46580	-1,20452	-0,19494	0,72196	1,07371
Referência	-4,35510	-2,20281	-2,21908	-0,95869	-0,38110	0,62550	1,06973
Referência	-4,07545	-2,78082	-2,02163	-1,17880	-0,18705	0,52590	1,06757
Referência	-3,18452	-2,38754	-2,02941	-1,12829	-0,03737	0,66541	1,01869
Referência	-2,44823	-2,31310	-2,08977	-1,05156	-0,11644	0,58762	1,09776

Com os dados transformados, obtêm-se as estimativas dos parâmetros, por meio do método de mínimos quadrados, para os parâmetros dos modelos para o medicamento teste e referência.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Na Tabela 14 apresenta-se as estimativas para os parâmetros obtidos para cada comprimido do medicamento teste. Observe que, conforme requerido pela resolução [1] da ANVISA e o guia [2] do FDA, tem-se $n = 12$ comprimidos.

Tabela 14: Estimativas dos parâmetros para o medicamento teste.

Escala	Forma
-9,63280	0,88815
-9,48440	0,85807
-10,09568	0,92873
-11,23054	1,04315
-9,53339	0,86744
-10,60258	0,97891
-11,30465	1,04816
-10,04425	0,92138
-11,67954	1,07913
-11,01923	1,02154
-9,36933	0,85217
-10,00383	0,93003

Da Tabela 14 obtém-se que a média das estimativas dos parâmetros escala e forma, respectivamente, são dadas por:

$$\bar{y}_1 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{1i} = \frac{-9,63280 + \dots + (-10,00383)}{12} = -10,33335$$

$$\bar{y}_2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{2i} = \frac{0,88815 + \dots + 0,93003}{12} = 0,95141$$

Assim $\bar{\mathbf{y}} = (-10,33335; 0,95141)^T$

Na Tabela 15 apresenta-se as estimativas para os parâmetros obtidos para cada comprimido do medicamento referência.

Tabela 15: Estimativas dos parâmetros para o medicamento referência.

Escala	Forma
-7,65572	0,67235
-9,08198	0,84474
-7,43629	0,64864
-8,76719	0,81662
-7,21826	0,63116
-7,24147	0,60740
-7,62359	0,66887
-7,45454	0,65189
-9,16099	0,85004
-9,21259	0,85241
-7,93762	0,71112
-7,06363	0,59376

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Da Tabela 15 obtém-se que a média das estimativas dos parâmetros escala e forma, respectivamente, são dadas por:

$$\bar{x}_1 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{1i} = \frac{-7,65572 + \dots + (-7,06363)}{12} = -7,987825$$

$$\bar{x}_2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{2i} = \frac{0,67235 + \dots + 0,59376}{12} = 0,71242$$

Assim $\bar{\mathbf{x}} = (-7,987825; 0,71242)^T$

Previamente a definição da região de similaridade, deve-se verificar se os parâmetros estimados seguem uma distribuição normal multivariada. Conforme descrito na subseção 8.2, aplica-se o teste de Royston, do qual obtém-se:

Tabela 16: Teste de normalidade multivariada para o medicamento teste.

Estatística H	P-valor
0,720150	0,1934026

Tabela 17: Teste de normalidade multivariada para o medicamento referência.

Estatística H	P-valor
2,292835	0,0524035

Adotando-se o nível de significância de 5%, tem-se que, para os medicamentos teste e referência, Tabelas 16 e 17 respectivamente, as estimativas dos parâmetros seguem distribuição normal multivariada.

E a região de similaridade é dada por:

$$d_1 = \sqrt{\text{var}(\alpha_R)} = \sqrt{0,6834944} = 0,8267372$$

$$d_2 = \sqrt{\text{var}(\beta_R)} = \sqrt{0,009986852} = 0,09993424$$

Adotando-se $k = 1, 2, 3$, obtém-se a composição da região de similaridade, a qual é dada por:

- Eixo x : $(-k \times d_1; k \times d_1) =$
 - $(-0,82674; 0,82674)$, para $k = 1$
 - $(-1,65348; 1,65348)$, para $k = 2$
 - $(-2,48022; 2,48022)$, para $k = 3$
- Eixo y : $(-k \times d_2; k \times d_2) =$
 - $(-0,09993; 0,09993)$, para $k = 1$
 - $(-0,19986; 0,19986)$, para $k = 2$
 - $(-0,29979; 0,29979)$, para $k = 3$

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

O vetor de diferença das médias entre os medicamentos teste e referência é dado por:

$$\bar{\mathbf{z}} = (\bar{\mathbf{x}} - \bar{\mathbf{y}}) = (-2, 34553; 0, 23899)$$

Seguindo os passos descritos na subseção 10, obtêm-se as matrizes de variância e covariância das medições do medicamento teste e referência, as quais são dadas por:

$$S_T^2 = \begin{bmatrix} 0,648448 & -0,064657 \\ -0,064657 & 0,006477 \end{bmatrix}$$

$$S_R^2 = \begin{bmatrix} 0,683494 & -0,082381 \\ -0,082381 & 0,009987 \end{bmatrix}$$

Assim obtêm-se a matriz de variância e covariância agrupada.

$$S_{pool}^2 = \frac{(n-1)S_R^2 + (m-1)S_T^2}{n+m-2}$$

$$S_{pool}^2 = \begin{bmatrix} 0,665971 & -0,073519 \\ -0,073519 & 0,008232 \end{bmatrix}$$

E calcula-se sua inversa

$$S_{pool}^{-1} = \begin{bmatrix} 106,5617 & 951,6886 \\ 951,6886 & 8620,8836 \end{bmatrix}$$

Calculando-se a distância de Mahalanobis estimada, obtém-se:

$$\hat{D}_M = \sqrt{\bar{\mathbf{z}}^T S_{pool}^{-1} \bar{\mathbf{z}}} = 8,37466$$

O próximo passo consiste em calcular a região de confiança para a distância de Mahalanobis CR . Fixa-se um nível de significância de 10% e para o delineamento apresentado (12 comprimidos de cada medicamento e 2 parâmetros), tem-se que a constante K é igual a:

$$K = \left(\frac{mn}{m+n} \right) \left(\frac{m+n-p-1}{(m+n-2)p} \right) = \left(\frac{12 \times 12}{24} \right) \left(\frac{24-2-1}{(24-2)2} \right) = 0,47727$$

A região de confiança é dada por:

$$CR = \{0,477273(y - (-2,34553; 0,23899))^T S_{pool}^{-1} (y - (-2,34553; 0,23899)) \leq F_{(2,21,0,90)}\}$$

Observando a Figura 7, tem-se que a elipse obtida a partir da região de confiança não está inteiramente contida na região de similaridade, assim conclui-se que os perfis de dissolução não são equivalentes.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

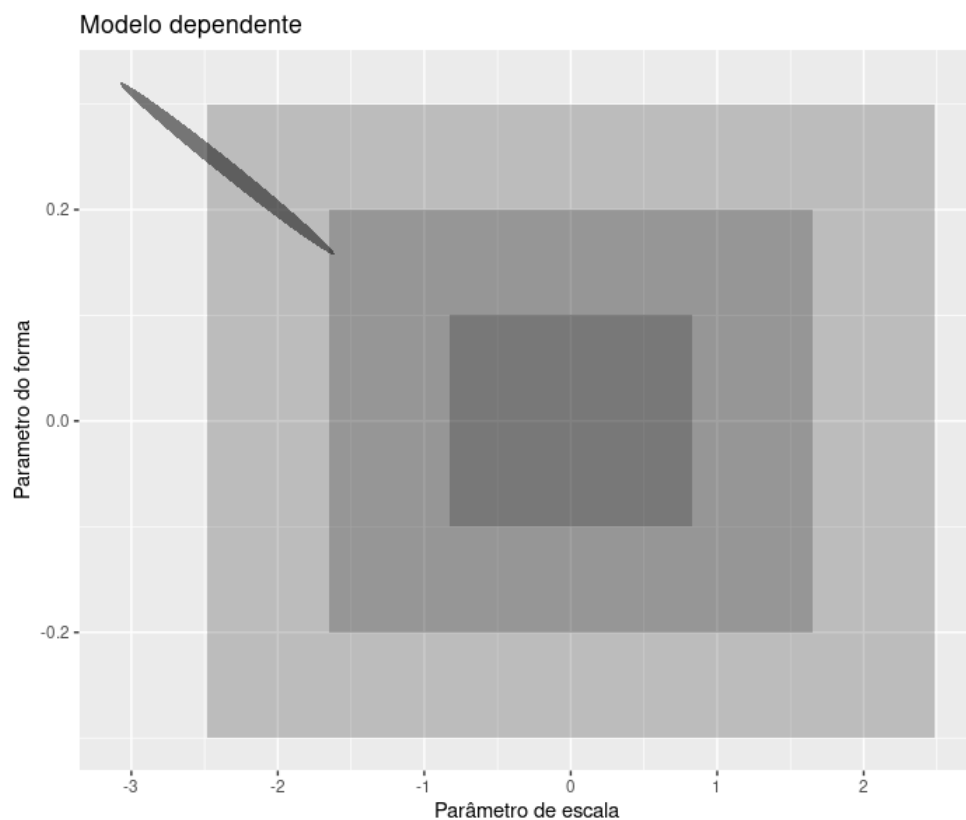


Figura 7: Gráfico da região crítica do modelo dependente.

Os resultados do Action Stat são dados a seguir.

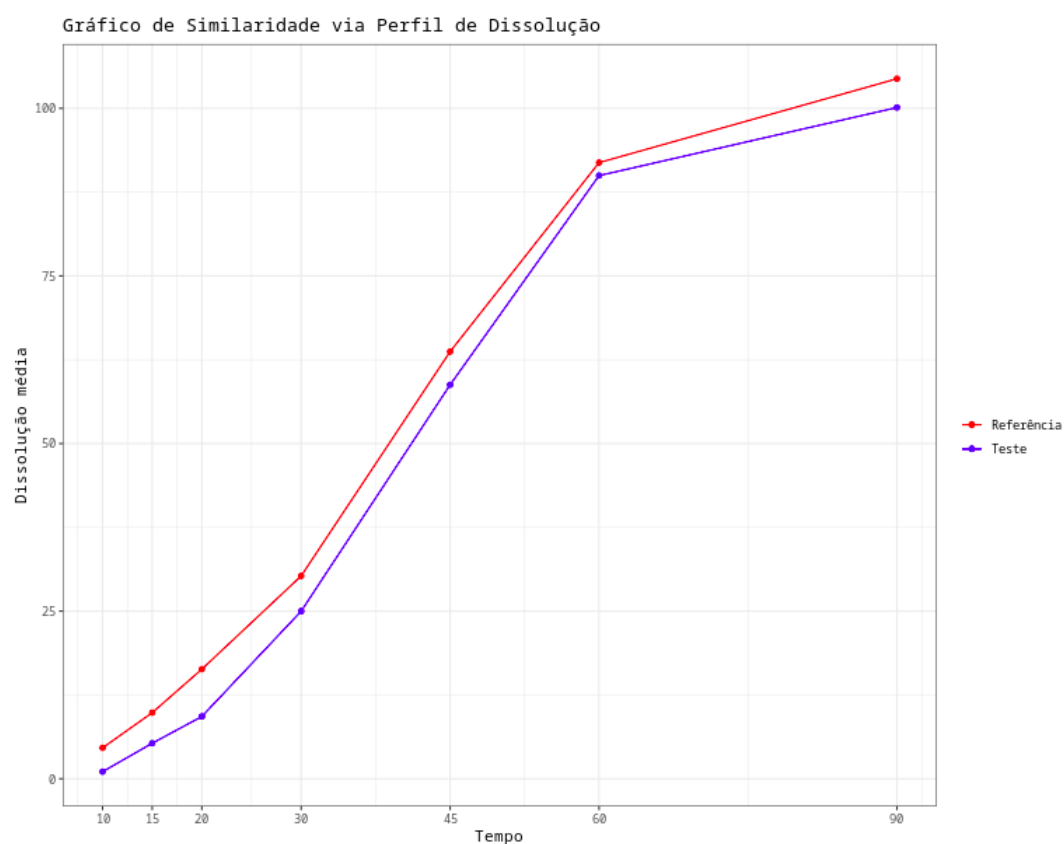
Resumo Descritivo para Medicamento Referência							
	10	15	20	30	45	60	90
Média	4.617	9.859	16.351	30.252	63.709	91.899	104.409
Desvio-padrão	2.391	1.819	3.587	5.52	4.169	2.319	0.755
RSD (%)	51.787	18.45	21.937	18.247	6.544	2.523	0.723

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resumo Descritivo para Medicamento Teste

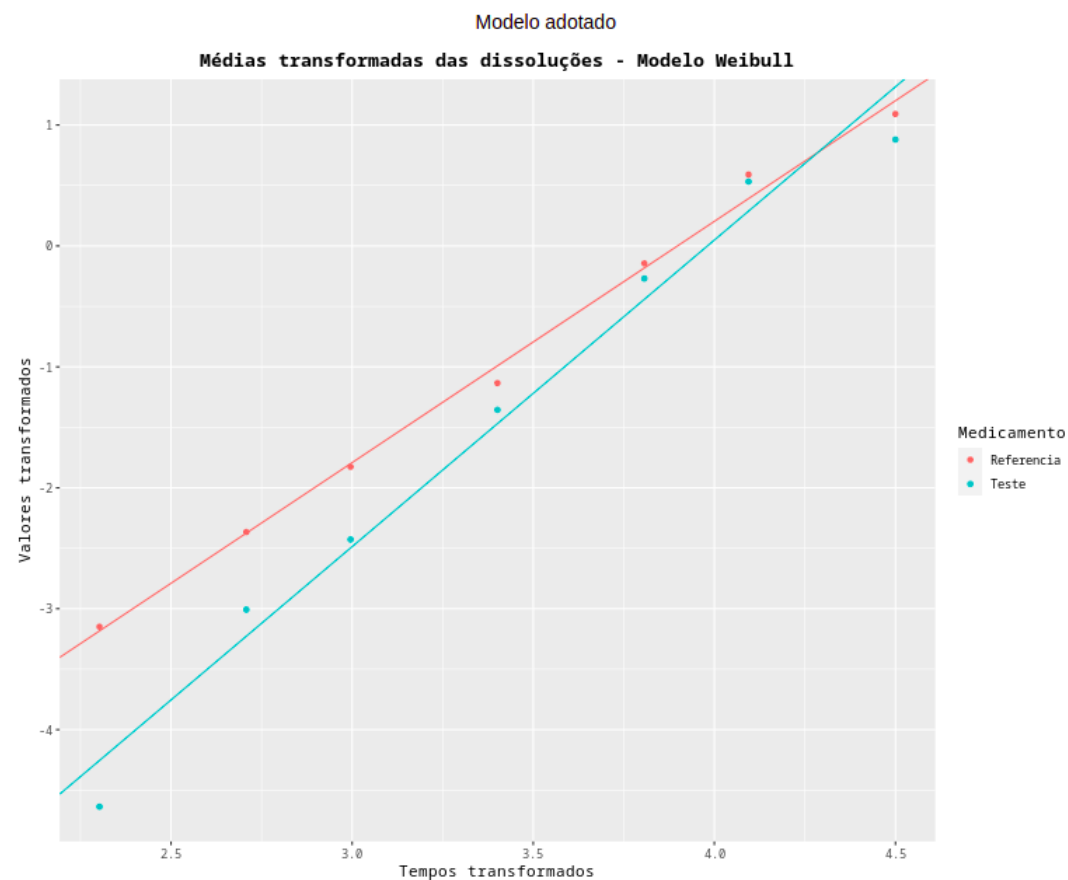
	10	15	20	30	45	60	90
Média	1.06	5.303	9.291	24.997	58.755	89.962	100.119
Desvio-padrão	0.629	0.864	1.276	2.075	4.754	3.439	1.206
RSD (%)	59.34	16.293	13.734	8.301	8.091	3.823	1.205

Gráfico de perfis



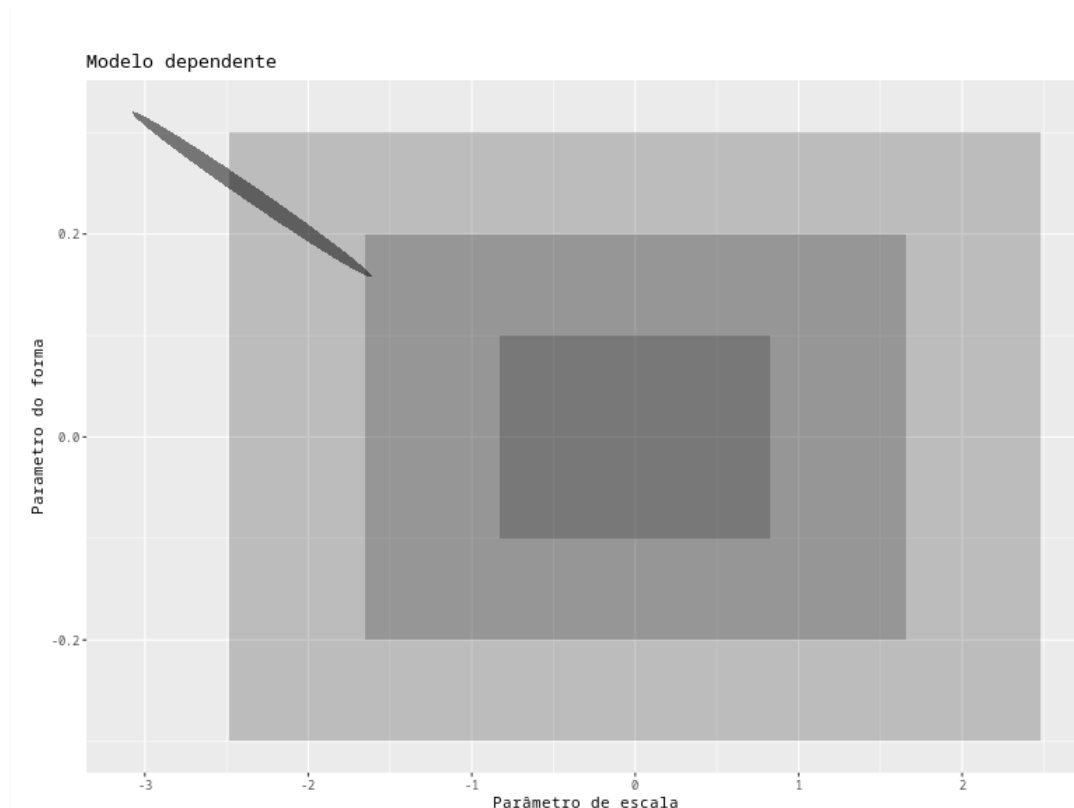
	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

Resultado de análise



Modelo	Valor critério	Normalidade (Ref)	Normalidade (Teste)
Weibull	0.963	0.052	0.193

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	



Referências

- [1] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N 31, de 11 de Agosto de 2010.
- [2] Guidance for industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms, CDER, Food and Drug Administration and others, USA, 1997.
- [3] Gómez Mantilla, José David. "Statistical approaches to perform dissolution profile comparisons."(2013).
- [4] Moore, J.W., Flanner, H.H., 1996. Mathematical comparison of dissolution profiles. Pharm. Tech. 20.
- [5] Tsong, Yi, Sathe, Pradeep M. and Shah, Vinod P., 2003, In Vitro Dissolution Profile Comparison ,Encyclopedia of Biopharmaceutical Statistics,1:1, 456 – 462.
- [6] Sathe, P. M., Tsong, Y., & Shah, V. P. (1996). In-vitro dissolution profile comparison: statistics and analysis, model dependent approach. Pharmaceutical research, 13(12), 1799-1803.
- [7] John Neter, William Wasserman and Michael H. Kutner (1985) - Applied linear statistical models: regression, analysis of variance, and experimental designs, 2nd ed., Homewood, Ill. : R.D. Irwin.
- [8] Royston, J. P. Some techniques for assessing multivariate normality based on the Shapiro-Wilk W. Applied Statistics, p. 121-133, 1983.

	Análise de Perfil de Dissolução Comparativo		Data de Emissão: 5 de maio de 2022
	Action Stat RDC 31 Versão 4.1	Objetivo: Validar as técnicas estatísticas	
		Protocolo Estatístico	

- [9] Conover, William Jay, and William Jay Conover. "Practical nonparametric statistics."(1980).
- [10] S. S. Shapiro & R. S. Francia (1972) An Approximate Analysis of Variance Test for Normality, Journal of the American Statistical Association, 67:337, 215-216
- [11] G. J. S. Ross. MLP, Maximum Likelihood Program. Harpenden: Rothamsted Experimental Station, 1980. [p153]
- [12] J.P. Royston, "An Extension of Shapiro and Wilk's W Test for Normality to Large Samples," Applied Statistics, vol. 31, no. 2, pp. 115-124, 1982.