



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Guilherme Mourato Monteiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Accelerated Drug Release Studies in Long Acting Injectables” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, do Dr. Paulo Monteiro, do Mestre Diogo Santos Teixeira e do Professor Doutor António José Ribeiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Guilherme Mourato Monteiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Accelerated Drug Release Studies in Long Acting Injectables” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, do Dr. Paulo Monteiro, do Mestre Diogo Santos Teixeira e do Professor Doutor António José Ribeiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2022

Eu, Guilherme Mourato Monteiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2016227927, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “ACCELERATED DRUG RELEASE STUDIES IN LONG ACTING INJECTABLES” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 09 de Setembro de 2022.

Guilherme Mourato Monteiro

(Guilherme Mourato Monteiro)

Agradecimentos

Ao meu orientador Professor Doutor António Ribeiro por me acompanhar no desenvolvimento desta monografia, por estar disponível para esclarecer as dúvidas e guiá-me no sentido de melhorar ao máximo o trabalho desenvolvido com rigor.

Ao Doutor Paulo e a toda a equipa da Farmácia São José por toda a ajuda, conhecimento transmitido, momentos passados, boa disposição e companhia durante o estágio. À doutora Carla Oliveira em especial pela amizade desenvolvida.

Ao Mestre Diogo Teixeira e a toda a equipa da Bluepharma por tudo o que me ensinaram no estágio e todos os momentos que foram partilhados.

À minha família, em especial aos meus pais e ao meu irmão por todo o apoio incondicional que me deram em todas as fases do meu percurso e por tudo o que me ensinaram e valores que me deram, dos quais me orgulho.

Quero também agradecer aos meus avós, à “madrinha” Teresa e à Dolores por, juntamente com os meus pais cuidarem de mim, me ajudarem a crescer e fazerem da minha infância e anos passados memórias que me são muito queridas.

Aos meus primos, madrinha, padrinho e restante família por estarem também presentes nos momentos mais importantes da minha vida.

Aos meus melhores amigos da faculdade, Filipe, Lucas, Joel e Bárbara, e de etapas anteriores, Gonçalo Canhão, Tomás, Luís Henrique, Luís Lucas, João Patrício e Francisco Costa por me acompanharem nesta jornada que agora se finda, por toda a diversão, companheirismo e lealdade que ficarão eternizadas.

A todos os demais que contribuíram para o meu percurso até aqui, um sincero agradecimento!

Índice

PARTE I	6
Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária E Casos Práticos	6
Abreviaturas	7
1.-Introdução	7
2-Análise SWOT	8
2.1-Strengths	8
2.1.1-Equipa	8
2.1.2-Organização Estagiários.....	8
2.1.3-Variedade de Produtos.....	8
2.1.4-Diversidade de Utentes.....	8
2.2-Weaknesses	9
2.2.1-Lacunas no Conhecimento	9
2.3-Opportunities	9
2.3.1-Diversidade de Serviços e Trabalhos.....	9
2.3.2-Preparação de Manipulados.....	9
2.3.3-Formações	10
2.4-Threats	10
2.4.1-Dificuldades Iniciais.....	10
Conclusão	11
3-Casos Práticos.....	11
Caso Prático 1	11
Caso Prático 2.....	11
Caso Prático 3.....	12
Caso Prático 4.....	12
Caso Prático 5.....	13
PARTE II	14
Relatório de Estágio de Indústria Farmacêutica	14
Abreviaturas	15
1-Introdução.....	15
2-Análise SWOT	17
2.1-Strengths.....	17
2.1.1-Equipa	17

2.1.2-Kaizen	17
2.1.3-Equipamento	17
2.2-Weaknesses	18
2.2.1-Acessibilidade Ferramentas de Trabalho	18
2.3-Opportunities	18
2.3.1-Aprofundar e Obter Novos Conhecimentos	18
2.3.2-Ferramentas <i>Microsoft</i>	19
2.3.3-Formações Internas.....	19
2.4-Threats	19
2.4.1-Teletrabalho	19
Conclusão	19
3-Bibliografia.....	20
PARTE III	21
<i>Monografia “Accelerated Drug Release Studies in Long Acting Injectables”</i>	21
Abbreviations	22
Abstract.....	23
Resumo.....	24
Index of Tables.....	25
Index of Figures	25
1-Introduction	26
2-Accelerated <i>in vitro</i> Release Tests	27
2.1-Apparatus	33
2.2-Temperature.....	36
2.3-Release Medium Content	37
2.4-pH.....	38
2.5-Other parameters	39
3-Real-Time and Accelerated Methodology Comparison.....	39
3.1- Correlation Coefficient.....	47
3.2- Thermodynamic equations.....	47
3.3- Direct comparison	48
3.4- Kinetic equations.....	49
3.5- Difference and Similarity factors.....	51
4-Conclusion	52
5-Bibliography.....	53

PARTE I

Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária

E

Casos Práticos



Farmácia
São José

Orientado por:
Dr. Paulo Monteiro

Abreviaturas

MICF-Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

DT- Diretor Técnico

FSJ- Farmácia São José

CHUC- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

IPO Coimbra- Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gil

FFUC- Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

I.-Introdução

De acordo com as diretrizes em vigência no atual plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), é necessário realizar um estágio na área da Farmácia Comunitária, sob orientação do(a) Diretor(a) Técnico(a) (DT) da mesma ou de um(a) Farmacêutico(a) por ele(a) designado(a). Nesta etapa final é possível colocar em prática todo o conteúdo teórico leccionado no curso de MICF, complementar este conhecimento e entrar em contacto com a realidade laboral numa Farmácia de Oficina. Desta forma iniciei o estágio curricular em Farmácia Comunitária na Farmácia São José (FSJ) no dia 01 de Abril de 2022, sob orientação do Doutor Paulo Monteiro, DT da farmácia.

A FSJ está localizada na Avenida Calouste Gulbenkian, no Centro Comercial *Mayflower*, estando nos arredores de vários estabelecimentos de Serviços de Saúde como o Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), o Centro de Saúde de Celas, o Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gil (IPO Coimbra), entre outros.

Esta farmácia conta já com mais de 70 anos de história. Graças à sua localização, à qualidade do serviço prestado, à ampla disponibilidade de medicamentos e produtos que possui, tem um elevado fluxo de utentes, uma grande percentagem destes já conhecidos pelos profissionais da farmácia que mantêm a FSJ como a sua primeira opção, o que demonstra a grande satisfação pelo serviço prestado à comunidade.

De seguida encontra-se uma análise SWOT do estágio que efectuei onde avalio os Pontos Fortes (*Strenghts*), os Pontos Fracos (*Weaknesses*), as Oportunidades que este ofereceu (*Opportunities*) e as Ameaças sentidas (*Threats*).

2-Análise SWOT

2.1-Strengths

2.1.1-Equipa

É sabido que uma equipa unida com bom ambiente de trabalho aumenta o seu rendimento e dinamismo. Isto constatou-se com a equipa da FSJ, que desde o início demonstrou uma excelente cooperação entre todos os colaboradores, com bom humor, interajuda, união e companheirismo que contribuíram para um bom ambiente de trabalho que, aliado às excelentes competências técnicas da equipa, culmina numa boa qualidade dos serviços prestados ao público. Isto facilitou a integração na equipa que sempre se mostrou disponível para esclarecer qualquer dúvida e ajudar quando necessário nas tarefas a executar na farmácia.

2.1.2-Organização Estagiários

A FSJ contribui largamente para a formação dos estudantes de MICF da Faculdade de Farmácia de Coimbra (FFUC), sendo uma das farmácias que aceita maior número de estagiários finalistas da FFUC. Apesar do elevado número de estagiários e de a situação pandémica não estar totalmente resolvida, a farmácia demonstrou uma boa organização dividindo os estagiários em dois grupos que faziam turnos semanais alternados entre a manhã e a tarde. Assim houve a possibilidade de explorar, aprofundar e colocar mais em prática todo o conhecimento adquirido tanto na faculdade como no próprio estágio, através da realização das tarefas necessárias para o bom funcionamento da farmácia.

2.1.3-Variedade de Produtos

De forma a poder ajudar o maior número de utentes possíveis que requisitem os serviços da FSJ, esta adotou a filosofia de ter a maior diversidade de produtos e medicamentos possível e viável. Além disso, esta prática contribui para que os colaboradores mantenham um conhecimento mais alargado de uma vasta gama de produtos e medicamentos, sendo assim possível o estagiário estar em contacto com casos clínicos mais diversos e relembrar os conteúdos teóricos de áreas terapêuticas mais variadas.

2.1.4-Diversidade de Utes

A localização da farmácia e a grande variedade de produtos que esta tem, levam a que haja uma elevada diversidade de utentes que frequentam a FSJ, quer a nível de personalidade, estrato social e mesmo de literacia em saúde. Assim, é necessário uma adaptação do atendimento a cada utente, sendo a inteligência emocional um aspeto chave nesta área e que foi possível colocar em prática neste estágio.

2.2-Weaknesses

2.2.1-Lacunas no Conhecimento

Na profissão de farmacêutico é essencial ter um conhecimento geral, principalmente relativamente aos medicamentos, de forma a poder ajudar, esclarecer e aconselhar o utente o melhor possível. Neste aspeto, nem sempre senti estar totalmente confiante para esclarecer ou aconselhar os utentes, tanto por insegurança como por desconhecimento, tendo que confirmar com outros farmacêuticos que estivessem mais disponíveis de forma a dar informações o mais corretas possível, priorizando assim a saúde dos utentes. Devido a isto, por vezes, estava ainda presente um sentimento de dependência de outros colaboradores, sobretudo relativamente a produtos dermatológicos e cosméticos.

2.3-Opportunities

2.3.1-Diversidade de Serviços e Trabalhos

Na FSJ há uma variedade de serviços disponíveis para os utentes, como a medição da glicémia, medição da tensão, medição do colesterol total e triglicéridos, testes de antigénio de Covid, entre outros, que são essenciais para que os utentes possam controlar estes parâmetros bioquímicos e também para que o farmacêutico consiga acompanhá-los durante a sua terapêutica, aconselhando, avaliando e incentivando à adesão terapêutica, tendo em conta os resultados obtidos nessas medições. Foi assim possível praticar alguns destes serviços para os quais já estávamos minimamente aptos, como a medição da glicémia e da tensão. Tive também a oportunidade de aprender e conhecer melhor a parte da gestão da farmácia, que é essencial para o bom funcionamento e boa qualidade dos serviços prestados aos utentes. Pude assim executar várias tarefas relacionadas com esta área, como a realização de encomendas, a receção destas, a devolução de produtos, planeamento de lineares, verificação de prazos de validade, entre outros.

2.3.2-Preparação de Manipulados

Os manipulados são um grupo de medicamentos que, para um grupo de utentes cujas necessidades não são supridas através dos medicamentos disponíveis no mercado, apresentam-se frequentemente como críticos. Este grupo de medicamentos envolve qualquer fórmula magistral ou preparado oficial que é produzido e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico. Normalmente recorre-se a este nas seguintes situações: ajuste de dose terapêutica para uma não existente no mercado, alteração da forma farmacêutica adaptando-a às características fisiopatológicas dos utentes, alergias e/ou intolerância a algum excipiente presente nos medicamentos comercializados e ausência da

combinação de princípios ativos em medicamentos comercializados que se pretende administrar.

Para ajudar nos casos supramencionados, a FSJ possui um laboratório onde é feita a preparação de manipulados. Inicia-se este processo pelo preenchimento da ficha de preparação, seguindo-se a produção do manipulado, de acordo com as Boas Práticas definidas pelo Ministério da Saúde na preparação destes medicamentos em farmácia de oficina, finalizando-se com o acondicionamento e rotulagem. Neste estágio, tive a oportunidade de assistir e de produzir alguns medicamentos manipulados, nomeadamente em forma de cápsulas e pomadas, sob a supervisão de um farmacêutico responsável por este processo.

2.3.3-Formações

Nas farmácias de oficina ocorrem, por vezes, formações de delegados de certas marcas comerciais de produtos cosméticos, dermatológicos e medicamentos não sujeitos a receita médica, de forma a dar a conhecer as novidades que a marca tem e os novos produtos ou atualizações destes. Na FSJ, tive a oportunidade de assistir a várias formações que contribuíram para um melhor conhecimento dos produtos disponíveis na farmácia, uma vez que estas formações, apesar de terem uma componente comercial, também tinham alguns aspetos científicos que eram muitas vezes completados pelos outros farmacêuticos presentes, quer através das questões que estes faziam durante a formação, quer posteriormente ao esclarecer as dúvidas ou fazer comentários sobre o produto.

2.4-Threats

2.4.1-Dificuldades Iniciais

Quando iniciei o estágio na FSJ, encontrava-me algo apreensivo devido ao receio que tinha do atendimento ao público, principalmente devido à insegurança que tinha relativamente ao aconselhamento e ao esclarecimento de dúvidas que os utentes pudessem ter em relação à sua terapêutica. Para além disso, houve também alguma dificuldade inicial na procura dos produtos que eram pedidos por parte dos utentes devido ao desconhecimento do esquema de organização dos produtos que estavam expostos, que era agravada pela preocupação em satisfazer os pedidos dos utentes rapidamente. No entanto estas dificuldades foram ultrapassadas não só com o tempo e experiência, mas também com o apoio que foi dado por parte de todos os colaboradores da farmácia, que estiveram sempre disponíveis para ajudar e esclarecer as dúvidas que me surgiam.

Conclusão

Após estes meses na Farmácia São José, considero que o estágio curricular em farmácia de oficina é uma componente essencial para qualquer estudante de MICF, uma vez que nos possibilita colocar todos os conteúdos teóricos aprendidos em prática. Além disso este estágio permite-nos experienciar todo o ambiente de uma farmácia, ter contacto com os utentes, praticar o atendimento ao público e aprofundar as *soft skills* que são também importantes neste contexto.

Com este estágio cresci também como farmacêutico e ganhei mais conhecimento, segurança e confiança aquando no aconselhamento ao utente, uma tarefa muito crítica e importante devido à nossa responsabilidade para com a saúde de quem estamos a ajudar.

Quero agradecer por último ao Dr. Paulo e a toda a equipa da FSJ por me receberem de braços abertos com carinho, por toda a ajuda, apoio e acompanhamento e por todos os dias passados cheios de humor e alegria

3-Casos Práticos

Caso Prático 1.

Uma utente deslocou-se à farmácia, referindo que tinha tosse e necessitava de algo para parar os sintomas como um antibiótico. Foi questionado há quanto tempo tinha tosse, se era seca ou produtiva, se tinha outros sintomas, se estava a tomar alguma medicação e se tinha alguma alergia. A utente disse que só tinha tosse há 1 dia, que era seca, mas por vezes parecia que queria expelir algo ao tossir. Além do mencionado anteriormente não tinha mais sintomas ou quaisquer alergias nem tomava qualquer medicação. Face às informações obtidas, foi recomendado o BronchoDual que contém extracto seco de *Thymus vulgaris* e extrato líquido de raiz de *Althea officinalis*, tomando 15ml a cada 3 a 4 horas. O primeiro contém monoterpenos que são expectorantes e o segundo contém polissacáridos com ação emoliente e demulcente, sendo indicado tanto para tosse produtiva como tosse seca. Além disso foi aconselhado que bebesse água com mais frequência, evitasse usar ar condicionado quando possível e se os sintomas não melhorassem ou surgissem sintomas novos, deveria consultar um médico.

Caso Prático 2.

Uma utente veio à farmácia alegando que tinha problemas de sono. Questionou se podia tomar o medicamento que o pai tomava para dormir, o Sedoxil[®]. Foi então questionado se era frequente ter este tipo de problema, se tinha dificuldade a adormecer ou despertares noturnos, se estava a tomar alguma medicação e se estaria sob algum *stress* devido a algum

problema. A utente disse que não tinha problemas a adormecer, mas acordava durante a noite. Ainda não estava a tomar nada e só tinha começado a ter este problema mais recentemente, há menos de 1 semana. Não se recordou de qualquer situação que a estivesse a incomodar e que pudesse causar distúrbios de sono, tendo inclusive já tentado algumas medidas não farmacológicas e não tinham resultado. Assim, foi aconselhado que não tomasse o Sedoxil, seguisse os passos para uma boa higiene do sono (manter horário fixo de sono, não usar dispositivos electrónicos perto da hora de deitar, não ter uma alimentação pesada, etc) e experimentasse o Valdispert Noite acção prolongada, que contém Melatonina que é libertada em 2 fases: a primeira de libertação imediata com acção rápida que diminui o tempo para adormecer, a segunda de libertação gradual que promove uma acção prolongada e diminui os despertares nocturnos. Além disso, possui ainda Vitamina B6 e Niacina, que contribuem para a redução do cansaço e da fadiga. Foi recomendado tomar 1 comprimido 15 minutos antes de se deitar e que mantivesse o mesmo horário de sono todos os dias. Caso não melhorasse dentro de 1 a 2 semanas, deveria consultar um especialista do sono ou um médico.

Caso Prático 3.

Um homem deslocou-se à farmácia e pediu algo para uma queimadura que tinha na perna. Foi questionado se poderia mostrar o local com a queimadura. Pôde-se assim confirmar que se tratava de uma queimadura de 1º grau pela ausência de bolhas, presença de vermelhidão, dor e calor. Foi então aconselhado Biafine para aplicar no local, 2 a 4 vezes ao dia uma camada espessa, massajando suavemente para promover a penetração, até que a zona afectada fique curada, uma vez que este tem um efeito hidratante activo e oclusivo, facilitando e acelerando a cicatrização devido à trolamina. Foi também aconselhado a que bebesse mais água, não expusesse a queimadura ao sol e passasse a colocar protector solar sempre que se expusesse ao sol, evitando sair nas horas de maior calor.

Caso Prático 4.

Uma senhora na farmácia pediu ajuda porque apresentava comichão e fissuras interdigitais em ambas as mãos. Pediu-se para mostrar as fissuras, inquiriu-se sobre há quanto tempo tinham surgido e se havia outros sintomas. A utente disse que sentia as mãos bastante secas e calor nas fissuras. Referiu também que os sintomas começaram a aparecer depois de ter lavado tapetes à mão com sabão e lixívia, sem ter usado luvas. Devido aos sintomas indicados, à descamação, vermelhidão e maceração que se verificaram no local, foi indicado Canesten creme, aplicando 2 a 3 vezes por dia durante 3 a 4 semanas. Este é indicado para micoses interdigitais nas mãos, como a *Tinea manum*, por conter clotrimazol que é

antifúngico. Além disso foi ainda indicado um creme hidratante barreira para hidratar as mãos uma vez que estavam bastante secas e a pele fragilizada no geral, devido ao contacto com a lixívia. Também foi indicado que passasse a usar luvas sempre que precisasse de usar lixívia e não colocasse o creme hidratante no local infectado antes do creme antifúngico, para que não impedisse a acção do Canesten.

Caso Prático 5.

Um utente na farmácia diz que vai efectuar uma viagem e que normalmente enjoa nestas, por isso necessitava de algo para evitar este problema. Foi perguntado se estava a tomar alguma medicação e se tinha algum problema de saúde. A utente disse que não tomava nenhuma medicação nem tinha qualquer doença. Assim foi recomendado Vomidrine, que contém 50 mg de Dimenidrinato e é indicado para náuseas e vómitos associados ao movimento, tomando 1 comprimido 30 minutos antes da viagem e podendo repetir de 4 a 6 horas se necessário, até 400 mg por dia. Foi também aconselhado que não ingerisse alimentos gordos ou bebesse líquidos em excesso antes da viagem e dada a informação de que poderia sentir alguma sonolência devido ao medicamento.

PARTE II

*Relatório de Estágio de Indústria
Farmacêutica*



Orientado por:
Mestre Diogo Teixeira

Abreviaturas

MICF- Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

FFUC- Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

BLGN- Bluepharma Genéricos - Comércio de Medicamentos S.A.

MOQ- *Minimum Order Quantities*

I-Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) oferece um vasto leque de conhecimentos, ferramentas e estágios curriculares que nos permite trabalhar num grande número de áreas, sendo uma das quais a indústria farmacêutica, onde tive a possibilidade de efetuar um estágio de forma a complementar a minha formação e percurso académico.

Assim, no dia 10 de Janeiro de 2022 tive a oportunidade de iniciar o estágio no Sector de Licenciamentos do Departamento Comercial da Bluepharma Genéricos - Comércio de Medicamentos S.A. (BLGN), uma das empresas do Grupo Bluepharma, sob a orientação do Mestre Diogo Santos Teixeira.

A Bluepharma é uma empresa farmacêutica, sediada em Coimbra em São Martinho do Bispo, tendo iniciado a sua atividade a Fevereiro de 2001 (Bluepharma, 2011). Devido à sua expansão ao longo dos anos a *Bluepharma* está já presente em mais de 40 territórios, conta com aproximadamente 800 colaboradores e mais de 230 clientes em todo o mundo, detém atualmente 20 empresas, sendo uma das empresas a BLGN (Bluepharma, 2018). Esta iniciou a sua atividade em 2002, está focada na distribuição de medicamentos genéricos e teve nos últimos anos um elevado crescimento (Bluepharma Genéricos, 2015). De facto, em 2009, graças ao aumento de capital em 2 milhões, conseguiu as suas orimeiras exportações para a América do Sul. Um ano depois, entra também no mercado de Angola e Moçambique. Quatro anos mais tarde, em 2014, é alcançada a marca de 3 milhões de caixas vendidas em todo o mundo. De forma a extender e fortificar a sua presença para a área digital, a BLGN valorizou mais a sua marca com o lançamento da *Bluepharma app*. Atualmente conta já com mais de 110 medicamentos no seu portfólio, abrangendo as principais áreas terapêuticas de ambulatório (Bluepharma Genéricos, 2015).

Este crescimento da empresa que se tem verificado ao longo dos anos está muito ligado ao sucesso do Sector de Licenciamentos, uma vez que é este o responsável pelo estudo de mercado das várias oportunidades de negócio. Este estudo está intimamente ligado com as necessidades que se observam tanto no mercado como no portfólio da própria empresa, procurando assim novos medicamentos e fornecedores, para estes ou para medicamentos

que já estejam no portfólio. Este estudo é feito através da análise do mercado utilizando ferramentas como o hmr, que contém os produtos organizados por categorias e os dados de mercado de cada produto e categoria. Assim são identificadas *leads* que serão objeto de uma simulação através de um *business case*, verificando assim a sua viabilidade e os parâmetros essenciais a serem abordados na fase seguinte de negociação, como as *Minimum Order Quantities* (MOQ) e respetivos preços.

Após esta fase e caso se confirme a viabilidade do medicamento, é feito então o contacto com os fornecedores iniciando-se assim a fase de negociação, caso estes tenham o produto pretendido e disponibilidade para negociar. Com base nos preços propostos pelos fornecedores vão-se construindo novos *business cases* para comparar com os valores ideais, continuando a negociação até se alcançar um mútuo acordo ou até uma das partes verificar que não é possível prosseguir.

Quando se chega a um acordo e é aprovado o licenciamento, é feito então um Contrato de Licenciamento e Fornecimento entre ambas as partes, ao qual é sempre necessário fazer uma análise metódica e rigorosa, verificando todos os pontos presentes neste. No final é assinado o contrato de licenciamento, terminando assim a fase de licenciamento e passa-se então para a parte do lançamento do produto no mercado.

Na fase de lançamento é necessário fazer um planeamento deste primeiro e um *forecast* para a data de lançamento, seguindo todos os processos regulamentares. É também necessário elaborar os *artworks* do produto, que terão de ser aprovados, fazer um pedido de preço e, se possível, de comparticipação. Após todos estes passos estarem concluídos e de se adquirir o produto, deve-se notificar as autoridades e o mercado do lançamento do produto.

O meu estágio inseriu-se na fase dos licenciamentos, tendo tido oportunidade de participar em todo este processo, executando análises de mercado na procura de *leads*, contactando fornecedores e negociando preços, construindo *business cases* e mesmo analisando e negociando contratos. Tive também oportunidade de trabalhar em produtos da Cuidafarma, uma empresa participada da BLGN, que se foca mais em medicamentos não sujeitos a receita médica e dispositivos médicos fora do âmbito dos medicamentos sujeitos a receita médica, sendo necessário por vezes uma adaptação do processo de licenciamentos anteriormente descrito à natureza destes produtos, nomeadamente nas análises do mercado.

De forma a analisar o meu estágio na BLGN serão indicados de seguida os pontos fortes (*Strength*), os pontos fracos (*Weaknesses*), as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças

(*Threats*) que foram sentidas durante o meu período de estágio, na formade uma análise SWOT.

2-Análise SWOT

2.1-Strengths

2.1.1-Equipa

Desde o início do estágio constatei que a equipa da BLGN era bastante unida e dinâmica, mantendo sempre um ambiente de bem-estar, respeito mútuo e interajuda entre os vários colaboradores do Departamento Comercial. Este ambiente ajudou e facilitou assim a integração na equipa, mesmo no período de teletrabalho, que dificultou a interação com toda a equipa. Durante esse regime de teletrabalho, fui acompanhado maioritariamente pelo Mestre Diogo Teixeira e por vezes também pela Mestre Jéssica Sobreira, que ajudaram bastante durante todo o meu percurso neste estágio e se demonstraram sempre disponíveis para esclarecer qualquer dúvida ou auxiliar nalguma tarefa mais complexa em que estivesse com alguma dificuldade em levar a cabo.

2.1.2-Kaizen

A metodologia *Kaizen* tem como propósito a melhoria contínua da organização na qual esta está a ser aplicada. Na BLGN, este método foi aplicado também através da implementação de reuniões diárias, havendo a cada dia da semana um foco em temas diferentes, sendo que o primeiro dia seria para informar a restante equipa sobre as tarefas principais a executar nessa semana e o último dia sobre os objetivos alcançados nessa mesma semana, promovendo assim um dinamismo e produtividade em toda a equipa. Nos restantes dias discutiam-se outras tarefas que eram posteriormente atribuídas a cada colaborador e era seguido o seu desenvolvimento através de um sistema de *checkpoints*. Através deste método foi também possível manter a equipa toda a par do plano de trabalho de cada secção do Departamento Comercial da BLGN, permitindo assim ter uma melhor noção da realidade da empresa e, através do *brainstorm* que era feito nestas reuniões entre todos os colaboradores, chegar a mais soluções para quaisquer problemas que naturalmente possam surgir. Esta metodologia contribuiu assim para uma melhor integração na equipa, para adquirir uma visão geral sobre a empresa e para uma melhor organização, coordenação, produtividade e dinamismo da equipa de trabalho.

2.1.3-Equipamento

O início do estágio foi coincidente com o período no qual houve uma maior incidência e crescimento dos casos e mortes por Covid, tendo sido decretado a nível nacional a

obrigatoriedade de proceder ao teletrabalho sempre que o regime presencial não fosse essencial para as executar as respetivas funções dos trabalhadores. Assim, os primeiros dois meses de estágio foram realizados com recurso ao teletrabalho. Para este efeito, a Bluepharma disponibilizou o equipamento necessário e fulcral para que pudesse executar as minhas tarefas enquanto estagiário do Sector dos Licenciamentos do Departamento Comercial da BLGN, incluindo um portátil com carregador, um *headset*, um rato e um teclado. Apenas ficou a faltar o segundo ecrã, que me foi emprestado quando o regime de teletrabalho findou.

2.2-Weaknesses

2.2.1-Acessibilidade Ferramentas de Trabalho

Para executar certas tarefas neste estágio, foi necessário ter acesso a determinadas pastas que continham os documentos aos quais era necessário aceder. No entanto estas pastas estavam no *site* apenas acessível aos colaboradores e, dentro deste, estavam ainda bloqueados e era necessário obter autorização para aceder a estes, que apenas certos membros do Departamento Comercial podiam dar. Embora seja importante manter esta segurança devido ao conteúdo destes ficheiros, talvez fosse possível planear previamente alguns dos ficheiros que serão necessários mais vezes para dar logo as autorizações necessárias. No entanto, a espera pode ter sido agravada pelo teletrabalho, o que não permitiu que a situação se resolvesse mais depressa, uma vez que os colaboradores que conseguem ceder a autorização estavam por vezes indisponíveis devido às várias tarefas que tinham em mãos, sendo mais difícil contactá-los por teletrabalho.

2.3-Opportunities

2.3.1-Aprofundar e Obter Novos Conhecimentos

Estando este estágio inserido na área Comercial e trabalhando em conjunto com a área Regulamentar, tive oportunidade de relembrar e aprofundar os conhecimentos obtidos nas cadeiras de MICE, nomeadamente de Marketing e de Assuntos Regulamentares. No sector dos Licenciamentos pude ver como um farmacêutico se consegue inserir na área comercial e as vantagens que este curso tem, mesmo neste campo, em relação a outros devido ao maior conhecimento das moléculas e a sua utilidade. Foi ainda possível ver a realidade de uma empresa na indústria farmacêutica, a sua dinâmica e funcionamento através da gestão e organização de cada sector e departamento de forma a atingirem os objetivos globais da empresa.

2.3.2-Ferramentas Microsoft

Na execução das tarefas enquanto estagiário dos Licenciamentos tive de recorrer várias vezes a algumas ferramentas da *Microsoft*, nomeadamente ao *Excel*, *Word*, *Outlook*, *Planner* e *OneNote*. No *Excel* foi onde verifiquei uma maior aprendizagem uma vez que era neste que se faziam várias análises na procura de moléculas *Lead* e posteriormente *Business Cases* com essas moléculas, recorrendo a várias funções e ferramentas desta aplicação. Apesar de já ter recorrido frequentemente ao *Word* noutras situações, aprendi ainda assim a usar algumas funções que este tem e que desconhecia. Quanto ao *OneNote*, tive oportunidade de ver a sua utilidade na organização das tarefas a fazer e de toda a informação que é necessário reter e guardar para futuras ocasiões em que seja necessário.

2.3.3-Formações Internas

De forma a manter todos os colaboradores actualizados com alguns procedimentos, regras e mesmo conhecimentos, a *Bluepharma* proporciona algumas formações internas nas quais tive oportunidade de participar. Estas formações tinham várias áreas de foco, como a Gestão da Qualidade Interna, os procedimentos para reportar casos de efeitos secundários aos medicamentos comercializados, entre outros. No final havia uma pequena avaliação para perceber se a formação foi bem-sucedida e se há alguma melhoria a ser feita de forma a ajudar os colaboradores.

2.4-Threats

2.4.1-Teletrabalho

Como referido anteriormente, nos primeiros 2 meses do estágio foi decretada obrigatoriedade de passar a teletrabalho por razões sanitárias devido ao crescimento dos casos e mortes por infeção por *Covid*, pelo que apenas visitei presencialmente as instalações na zona de Taveiro e conheci pessoalmente toda a equipa da BLGN em Abril, no último mês do estágio. Apesar de ter sido bastante bem recebido por todos, o teletrabalho dificulta bastante a integração total na equipa, sendo que apenas interagiu com todos os membros da equipa de trabalho em algumas reuniões como o *Kaizen*. Ainda assim tive a sorte de ser muito bem acompanhado durante este período pelo Mestre Diogo Teixeira e pela Mestre Jéssica Sobreira.

Conclusão

Com o estágio na *Bluepharma* Genéricos, no setor de licenciamentos, pude alargar os horizontes e perceber que o farmacêutico, como profissional dos medicamentos que é, pode atuar em diversas áreas para além das usualmente conhecidas.

De facto este estágio revelou-se de imediato enriquecedor uma vez que proporcionou a primeira experiência a nível de entrevista de emprego, que é sempre crucial para o nosso futuro.

Além disso, possibilitou-me conhecer melhor a indústria de um ponto de vista diferente do que normalmente é mencionado na faculdade e participar em toda a rotina e dinâmica que é vivida nesse local de trabalho.

Pude assim aprender mais sobre a parte comercial e todos os processos regulamentares e negociais envolvidos no licenciamento e lançamento para o mercado de um medicamento genérico já na sua forma acabada, incluindo todo o processo por detrás deste lançamento que envolve a negociação, as análises de preços e de mercados, todos os aspetos regulamentares e também a importância fulcral dos contratos e da sua redação.

Quero agradecer assim a toda a equipa da BLGN por todo o conhecimento que me passou e pelo seu acompanhamento ao longo do meu estágio, que me recebeu de braços abertos, com um sorriso e toda a boa disposição.

Quero agradecer particularmente ao Diogo Teixeira e à Jéssica Sobreira por toda a ajuda que me proporcionaram, horas que passaram comigo mesmo em teletrabalho, e por toda a motivação e amizade.

3-Bibliografia

BLUEPHARMA - **Quem somos**, atual. 2011. [Consult. 9 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>>.

BLUEPHARMA - **Grupo Bluepharma**, atual. 2018. [Consult. 9 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>>.

BLUEPHARMA GENÉRICOS - **Empresa**, atual. 2015. [Consult. 9 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.bluepharmagenericos.pt/Empresa>>.

PARTE III

Monografia

"Accelerated Drug Release Studies in Long Acting Injectables"

Orientada por:

Prof. Doutor António José Ribeiro

Abbreviations

ADME- Absorption, distribution, metabolism and excretion

CR- Controlled Release

ISFIs- *In situ* forming implants

LAIs- Long-acting Injectables

PBS- Phosphate Buffered Saline

PLGA- Poly lactic-co-Glycolic acid

PVA- Poly Vinyl Alcohol

T_g- Glass temperature transition

THF- Tetrahydrofuran

TX- Triton X

SD- Standard Deviation

SDS- Sodium Dodecyl Sulfate

Abstract

The improvement of the effectiveness of therapeutic drugs is a great challenge, and for the last decades, it has been achieved using prolonged delivery systems such as long-acting injectables (LAIs).

Due to the extended duration of action of the LAIs, their real-time *in vitro* testing is a long labor task, which, if applied to the batch release testing, would reduce its effective product shelf life.

Since there are no standard nor compendial methods for accelerated *in vitro* release tests for parenteral extended release systems, an appropriate strategy has to be developed. This review aims to summarize accelerated *in vitro* release tests performed on LAIs and provide a critical analysis of the parameters used in these *in vitro* tests, such as the apparatus, temperature, release medium, pH, and agitation.

The USP apparatus 4 is the most used apparatus providing the best results compared with the sample-and-separate method, showing a better reproducibility and discriminatory ability. Among experimental parameters, the temperature is a leading player, and results reveal that values closer to the polymers' glass transition temperature (T_g) are also the main driver of accelerating the drug release.

In several cases, the use of organic solvents also increased the cumulative drug release and its rate.

The contribution of agitation to the accelerated release is still not linear and frequently depends on the apparatus used.

Among the different methods used for the correlation, the correlation coefficient, the use of the similarity and difference factors, and the modified Weibull equation seem to be the most appropriate ones, as they allow comparing the release profile and are not limited to only certain parts of the release profile.

Keywords: long-acting injectables, *in vitro* release, accelerated release, correlation methods, experimental parameters

Resumo

O aumento da eficácia dos medicamentos é um grande desafio e nas últimas décadas tem sido obtido através do uso de injectáveis de longa duração (LAIs-*long acting injectables*).

Devido ao seu elevado tempo de ação, os ensaios *in vitro* em tempo real dos LAIs são uma árdua e extensa tarefa, que quando aplicada no controlo de lotes, podem diminuir a relação custo/benefício no seu desenvolvimento.

Dado que para ensaios de libertação *in vitro* de sistemas de libertação prolongada parenterais realizados sob *stress* não há métodos *standard* nem compendiais, é necessário desenvolver um método que seja apropriado. O objetivo desta revisão é analisar os ensaios de libertação *in vitro* acelerados efetuados em LAIs e fazer uma análise crítica dos diferentes parâmetros usados nesses testes, como por exemplo, equipamento, temperatura, meio de libertação, pH, agitação, bem como as ferramentas de correlação.

O equipamento USP 4 é o mais usado, fornecendo melhores resultados que o método de amostra e separação, demonstrando maior reprodutibilidade e poder discriminatório.

Entre os parâmetros experimentais, a temperatura desempenha um papel principal e um valor perto da temperatura de transição vítrea dos polímeros usados na formulação é relevante para a aceleração da libertação do fármaco.

Em vários casos, o uso de solventes orgânicos levou a um aumento da quantidade cumulativa e da velocidade de libertação do fármaco.

A contribuição da agitação para a aceleração da libertação não é linear e depende frequentemente do tipo de equipamento.

Entre os diferentes métodos utilizados para a correlação, tanto o coeficiente de correlação, como o uso de fatores de diferença ou similaridade e a equação de *Weibull* modificada aparentam ser os mais apropriados, dado que permitem comparar os perfis de libertação total, não estando limitados apenas a uma fração do perfil de libertação.

Palavras-Chave: injetáveis de longa duração, libertação *in vitro*, libertação acelerada, métodos de correlação, parâmetros experimentais

Index of Tables

Table 1- Accelerated release test conditions used for delivery systems with disclosure of drug, if any, and summary of main results related to drug release.

Table 2- Summary of methods for calculation of correlation between accelerated and real-time *in vitro* release tests

Index of Figures

Figure 1- Contrast between the former *in vitro* tests with their use nowadays. The first arrow in red represents the former use of *in vitro* tests, while the second arrow in blue represents nowadays use of *in vitro* tests. The image is not time-scaled.

Figure 2- Main steps for developing an accelerated *in vitro* release test of a long-acting drug product. Adapted from (Kolhatkar, 2019), in 2019 Complex Generic Drug Product Development Workshop, organized by the Center for Drug Evaluation and Research

I-Introduction

The improvement of the effectiveness of therapeutic drugs is a great challenge, and it has been achieved through extended delivery systems such as long-acting injectables, usually abbreviated as LAIs (Goel *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2021).

There is a high diversity of LAI, among which microspheres, liposomes, implants, and eluting stents (Goel *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Otte *et al.*, 2021) stand out. There has been a growing interest in this type of parenteral delivery system since it can provide solutions to some of the drug's properties, such as instability or low poor permeability upon conventional drug administration routes. This route is the most used for innovative drug products in the clinical phase (Goel *et al.*, 2021).

LAIs are associated with the controlled release (CR) drug delivery technology which allows 1) a better drug release control; 2) to minimize the drug concentration fluctuations, thus keeping it on the therapeutic levels and decreasing its side effects; 3) direct drug delivery to the target site; 4) to reduce the number of administrations since the release of the drug is extended over more significant periods; 5) the improvement in therapeutic efficacy. (Goel *et al.*, 2021; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Shen e Burgess, 2012). LAI makes it possible to administer a minimally effective dosage while minimizing the risk of adverse extrapyramidal effects and decreasing the opportunity for relapse (Muthu *et al.*, 2009). An example of the previously stated is the use of risperidone to control psychotic symptoms.

The performance of a drug product, such as LAIs, is verified by either *in vivo* or *in vitro* experiments. Before the clinical use of a drug product, its safety and effectiveness must be evaluated; thus, several tests are carried out, starting with *in vitro* tests and then moving to *in vivo*. *In vitro* studies are preferable as they minimize the use of animals for testing and require fewer resources than *in vivo* studies (Otte *et al.*, 2021).

Due to the extended duration of action of the LAIs, their real-time *in vitro* tests require a significant amount of time and labor (Goel *et al.*, 2021; Shen e Burgess, 2012), thus assuming a significant drawback to the batch release testing, as they reduce the effective product shelf life of drug product (Andhariya *et al.*, 2017; Shen e Burgess, 2012).

Therefore, there is a need to implement and validate accelerated *in vitro* release tests for a rapid assessment of the formulation and its process variables (Goel *et al.*, 2021; Xie *et al.*, 2015) to assure batch-to-batch reproducibility (Andhariya *et al.*, 2017), reduce the test duration (Andhariya *et al.*, 2017), accelerate the production and release of the batch (Andhariya *et al.*, 2017), and provide quicker data read-out (Goel *et al.*, 2021).

Since there are no standard or compendial methods for accelerated *in vitro* release tests, an appropriate method for the drug product in the study has to be developed. This review aims

to summarize accelerated *in vitro* release tests performed on LAIs and provide a critical analysis of the different parameters used in these *in vitro* tests, such as the apparatus, the temperature, the release medium, the pH, agitation, and the correlation tools used.

2-Accelerated *in vitro* Release Tests

The *in vitro* tests are required in preclinical safety data support for the regulatory approval and eventually for the marketing authorization of the drug product. Initially, on a former drug product life cycle, these *in vitro* tests are only in the development stage of the drug, more specifically in preclinical trials.

Nowadays, *in vitro* tests are presented from drug discovery to preclinical development, giving support in the first case or influencing decisions on clinical safety (Goel *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2018; Zolnik, Leary e Burgess, 2006), thus highlighting the importance of *in vitro* trials.

A vital aspect of these tests is their capability to predict the drug behavior under *in vivo* conditions and simulate the best way the drug metabolism and the interfering factors on the absorption, distribution, metabolism, and excretion steps (ADME) while meeting a range of quality control formats (Bajpai e Esmay, 2002; Goel *et al.*, 2021).

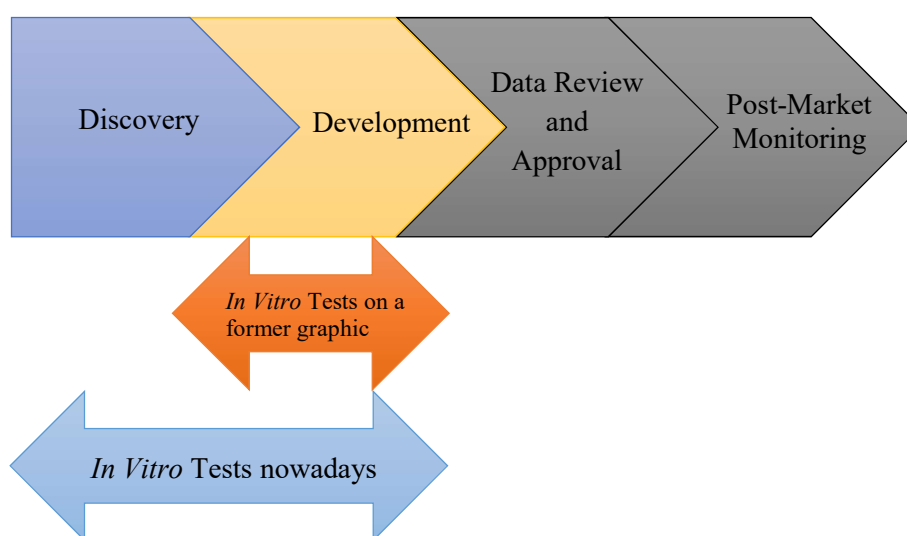


Figure 1- The contrast between the former *in vitro* tests, and their use nowadays. The first arrow in red represents the former use of *in vitro* tests, while the second arrow in blue represents nowadays use of *in vitro* tests. The image is not time-scaled.

One of the most important *in vitro* tests is evaluating drug release from the drug product, which will help ensure consistent product quality and performance with batch-to-batch reproducibility (Tipnis *et al.*, 2020). Moreover, any change in the formulation and

manufacturing method might affect the drug release profile (Shen *et al.*, 2016; Wischke e Schwendeman, 2008).

With the *in vitro* release test, it is possible to understand the *in vivo* performance of the drug product and, in the LAIs case, to evaluate its prolonged release from the drug product (Goel *et al.*, 2021; Xie *et al.*, 2015), including release kinetics properties (Andhariya *et al.*, 2017).

The conditions in which *in vitro* drug release tests are performed must be carefully chosen since their influence on the release profile cannot be neglected (D'Souza e DeLuca, 2005; Zolnik, Raton e Burgess, 2005). As a lack of standardization in these tests for injectable microparticles has been reported (Garner *et al.*, 2018; Shen e Burgess, 2012) and taking into account the unavailability of compendial methods, there is a need to minimize variations in drug release profile from LAI and make inter and intra-laboratory comparisons possible, to facilitate regulatory approval (Andhariya *et al.*, 2017).

The development of an accelerated *in vitro* release test using stressed experimental conditions such as temperature and release media, among others, has been successful in reducing the experimental time frame, thus speeding up the feedback time and, consequently, a quicker answer and better quality monitoring, while saving time and reducing the laboring costs.

However, there are still some drawbacks associated with accelerated performed methodology as the use of stress conditions to accelerate the drug release can change the mechanism(s) of drug release compared to real-time studies and therefore lose their predictive ability of real-time release tests (Andhariya *et al.*, 2017; Shen *et al.*, 2016; Shen e Burgess, 2012). Furthermore, stress tests do not always allow obtaining the same values for the rate and total drug release compared to real-time tests.

The main steps of accelerated *in vitro* drug release testing methodologies followed by researchers are depicted in Figure 2 (Kolhatkar, 2019).

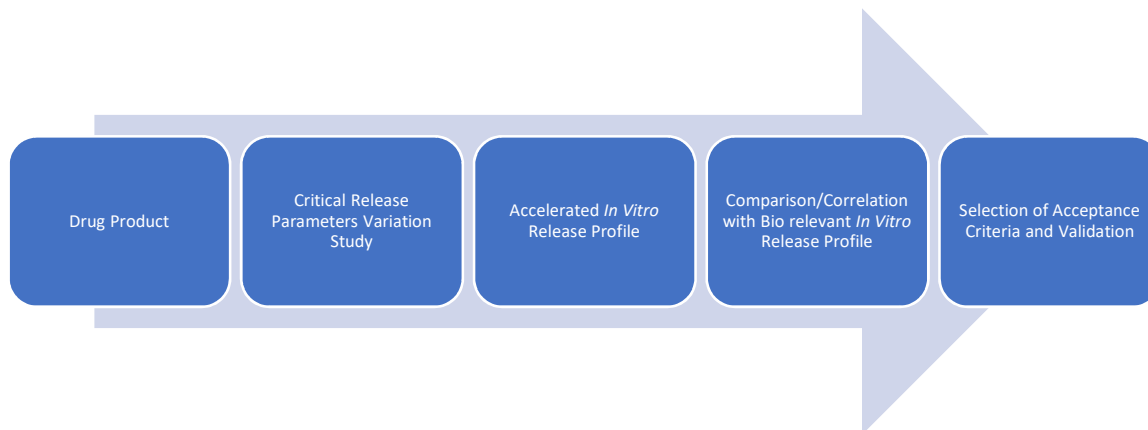


Figure 2- Main steps for developing an accelerated *in vitro* release test of a long-acting drug product. Adapted from (Kolhatkar, 2019), in 2019 Complex Generic Drug Product Development Workshop, organized by the Center for Drug Evaluation and Research

Depending on the drug product, its formulation, and the drug itself, a choice must be made carefully regarding the experimental parameters most likely to accelerate the release of the drug while maintaining the test's discriminatory ability. Upon change of parameters such as temperature, pH of the media (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Shen e Burgess, 2012), surfactant addition (Alexis, 2005; Rawat *et al.*, 2011), and stirring rate (Ye *et al.*, 2019) an increase in drug release can occur. Therefore, and after a careful evaluation, these parameters may be identified as critical release parameters, as shown in figure 2. Once these parameters are identified, an accelerated *in vitro* drug release test should be run.

The validation of these accelerated tests requires a minimum ranking order relationship with the real-time *in vitro* drug release test (Shen e Burgess, 2012) while assuring a 1:1 correlation between both release profiles (Zolnik, Leary e Burgess, 2006). The correlation can be measured with the help of several tools and equations, like the similarity factor and the correlation coefficient, which will be presented later in this work. An optimal correlation can be achieved by adjusting certain factors that measurably affect the accelerated tests (Xie *et al.*, 2015). In the end, it should be verified that the results of the accelerated *in vitro* release tests are according to the selected acceptance criteria.

In this review, we will analyze examples of common accelerated *in vitro* release tests, starting with discriminating parameters chosen to conduct tests and explaining their reasoning whenever possible. For each drug product, a resume of the optimized accelerated release conditions and the results obtained are presented in table I.

Table 1 - Accelerated release test conditions used for delivery systems with disclosure of drug, if any, and summary of main results related to drug release.

Delivery system (Drug)	Accelerated release Test Conditions Equipment (agitation rate); release medium; temperature, pH, and other relevant experimental conditions	Total release over time (Real-time results)	Reference
PLGA stent (Everolimus)	USP apparatus 7 (5 dpm); Gradient ACN in 0.4% Tween® 20 and 10mM sodium acetate; 37°C; pH 5.0.	> 90% within 24h (85% within 30 - days)	(Kamberi et al., 2009)
PLGA microspheres (Octreotide Acetate)	Oscillating shaker bath HZS-HA (50 rpm); Methanol-water (ratio 1:2); 45°C; pH NA.	>92 % within 9 days (NA)	(Wang et al., 2019)
PLGA microspheres (LXT-101 Peptide)	Water bath shaken (160 rpm); PBS 10mM with 0.02% Tween® 80 and 0.02% Tween® 20; 50°C; pH: 7.4.	Up to 90% of the peptides were released within 30 h (30 days)	(Du et al., 2006)
PLGA microspheres (Dexamethasone)	USP apparatus 4 Sotax CE7 smart, or CY 7 piston pump (flow rate of 20ml/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS 0.1M; 60°C; pH 7.4.	100% within 3 days (30 days)	(Zolnik, Leary Burgess, 2006)
PLGA microspheres/PVA hydrogel (Dexamethasone)	USP apparatus 4; PBS 0.1M with 10% (v/v) ethanol; 60°C; pH 7.4. NA; PBS 10mM; 53°C; pH: 7.4.	100% within 1,3 days (34 days)	(Shen Burgess, 2012)
		100% in less than 1 week (4,5 months)	(Gu, Wang Burgess, 2015)

Peptide-PLGA CR System (Therapeutic peptide)	Titer Plate shaker (model # 4625 or similar) (40rpm); Stabilized THF/TX/PBS (5:5:90 v/v/v); 50°C; pH: 7.4.	100% in 2-3 weeks (120-250 days)	(Goel et al., 2021)
PLGA microspheres (Somatostatin analog)	USP apparatus 4 (flow-rate 16ml/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS 0.02 M; 45°C; pH: 2.0.	Up to 90% within 6 days (over 70 days)	(Tomic et al., 2016)
PLGA microspheres (Triamcinolone acetonide)	USP apparatus 4 (flow rate of 8ml/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS 10 mM with 0.1% (w/v) SDS; 35°C; pH: 7.2.	More than 85% in 12 days (NA)	(Tipnis et al., 2020)
PLGA microspheres (Progesterone)	Orbital shaker (100 rpm), PBS 0.1 M, Tween® 80 2% (w/v) ; 47°C; pH: 7.4; Orbital shaking and Magnetic stirring	50% within 0.5h (71.5h)	(Ye et al., 2019)
PLGA microspheres (Risperidone)	USP apparatus 4 (flow rate of 8 mL/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS 10 mM; 45°C; pH 7.4.	Approximately 90% in 8 to 10 days (33-40 days) ^a	(Shen et al., 2016)
	Water bath (150 rpm); PBS 0.1 M with 20% (V/V) ethanol, Tween® 20 (0.02%, W/V) and Tween® 80 (0.02%, W/V); 45°C; pH: 7.0.	>85% in 35h (40 days)	(Hu et al., 2018)
	USP apparatus 4 Sotax CE7 smart with CY 7 piston pump (flow rate of 8 ml/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS 0.05 M; 45°C; pH 7.4.	100% within 7 days (40 days)	(Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012)
	USP apparatus 4, Sotax CE7 smart with CY 7 piston pump, with glass beads in the flow-through cell; (flow rate of 8ml/min); PBS 0.05 M; 45°C; pH 7.4.	100% within 7 days (40 days)	(Rawat et al., 2011)

PLGA <i>in situ</i> forming implant (Leuprolide acetate)	10 mm-light path cuvettes made of Quartz SUPRASIL [®] , type No. 100-QS, Hellma GmbH & Co.; Agarose gel (0.5% w/v), PBS 0.01M; 50°C; pH: 7.4.	100% within 14 days (50 days)	(Li et al., 2021)
PLGA microspheres (Leuprolide acetate)	Dialyzer in a glass cylinder with continuous stirring using a magnetic stir bar; PBS 0.1M; 55°C; pH: 7.4.	>90% in 3.5 days (28 days)	(D'Souza et al., 2014)
PLGA microspheres (Thymopentin)	Float-a-Lyzer dialyzer placed into a 50-mL glass cylinder; PBS 0.1 M; 55°C; pH: 7.4; Continually stirred at 300 rpm using a small magnetic stir bar	90% peptide diffusion in 4h (6h)	(D'Souza e DeLuca, 2005)
PLGA microspheres (Naltrexone)	5ml tube on water bath shaken (150 rpm); 20% ethanol-aqueous solution containing 0.06% Tween [®] 80, Gradient heat program from 40°C-50°C; pH: 7.0.	90% within 30h (30 days)	(Xie et al., 2015)
PLGA microspheres (Naltrexone)	USP apparatus 4, flow through cells (flow rate of 8 mL/min) with glass beads in the flow-through cell; PBS, 10 mM, 0.02% (v/v) Tween [®] 20, Sodium ascorbate (SA) (0.0625%, w/v); 45°C; pH: 7.4.	>90% within 6 days (30 to 40 days)	(Andhariya et al., 2017)

PLGA- Poly lactic-co-Glycolic acid; NA- Non Available; PBS- Phosphate Buffered Saline; THF- Tetrahydrofuran; TX- Triton X; Dpm-Dips per minute; ACN- Acetonitrile, RT-Real-Time; ±- Different formulations were tested; PVA- Poly Vinyl Alcohol; SDS- Sodium Dodecyl Sulfate

2.1-Apparatus

Some apparatus are used more frequently than others. Table I displays the apparatus used in accelerated *in vitro* release tests. The USP apparatus 4 is the most used equipment in the disclosed studies. It was used unmodified in one of the studies, and in the others (Rawat *et al.*, 2011; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Zolnik, Leary e Burgess, 2006), the apparatus was modified by packing the flow-through cells with the glass beads. In all these tests, the cumulative release ranged from more than 85 % to 100 %.

Some of the authors even compared the use of USP apparatus 4 with other apparatus. Tomic *et al.* (2016) used three methods for the *in vitro* release tests, the dialysis method, the USP apparatus 2 for the sample-and-separate method, and the USP apparatus 4. The dialysis method changed the drug release mechanism, while the other two methods had similar release profiles (Tomic *et al.*, 2016). Noteworthy, the authors preferred the USP apparatus 4 as it provided easy handling of the microspheres without risk of their aggregation or floating, limited evaporation of the test medium even at high temperatures. Furthermore, a better simulation of *in vivo* conditions due to the sample being exposed to constant perfusion by the test medium increased bio-relevant potential (Tomic *et al.*, 2016). The USP apparatus 4 was also compared with the sample-and-separate method in another study and revealed that in the first one, there is no sample separation, so no microsphere loss occurs when the USP apparatus 4 method is used. In contrast, in the sample-and-separate method, there is loss of microspheres, hence why the USP apparatus 4 system shows better reproducibility compared to the sample-and-separate method (Andhariya *et al.*, 2017; Shen *et al.*, 2016). Also, adding glass beads minimized microsphere aggregation and facilitated the release medium's laminar flow throughout the dissolution cells (Andhariya *et al.*, 2017). Another advantage of USP apparatus 4 is the existence of compendial information, allowing to create well-defined geometry and hydrodynamic conditions facilitating inter-laboratory comparisons (Andhariya *et al.*, 2017). Lastly, the USP apparatus 4 was both discriminatory and reproducible after testing the apparatus respectively for each one of these characteristics (Andhariya *et al.*, 2017). The same comparison between the USP apparatus 4 and the sample-and-separate method was performed using risperidone-containing LAI. In this study, both methods could discriminate equivalent risperidone microsphere formulations with similar particle sizes but different inner structures/porosity, but the drug release appeared faster when the USP apparatus 4 method was used (Shen *et al.*, 2016). Another advantage of the USP apparatus 4, pointed out is its better hydrodynamic flow conditions confirmed in previous authors' reports (Andhariya *et al.*, 2017). This apparatus can also accelerate the

release rate of diffusion-controlled systems by increasing the flow rate (Zolnik, Leary e Burgess, 2006). Besides that, the USP apparatus 4 method shows better discriminatory ability at high temperatures and better linear correlations between real-time (time-scaled) fractions and accelerated conditions (Shen *et al.*, 2016). In other studies, it is also concluded that the USP apparatus 4 is reproducible (Tipnis *et al.*, 2020), even when tested by different operators (Rawat *et al.*, 2011), reduces the test duration (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Tipnis *et al.*, 2020), and shows an excellent linear correlation with the real-time *in vitro* release profile (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012). The USP apparatus 4 also can discriminate between different microsphere formulations (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012), formulations with either similar and dissimilar release characteristics (Shen e Burgess, 2012), and even the burst release phase for formulations with different release characteristics (Shen e Burgess, 2012); therefore it is recommended by authors for rapid quality control test for PLGA based drug eluting coatings as well as other implants (Shen e Burgess, 2012). The USP apparatus 4 is also robust and causes no changes in the mechanism of drug release from the microspheres (Rawat *et al.*, 2011).

The dialysis method was used for leuprolide acetate PLGA microspheres (D'Souza *et al.*, 2014; D'Souza e DeLuca, 2005). A Float-a-Lyzer dialysis method was compared with the sample-and-separate method, and the results showed that the release profile obtained with the sample-and-separate method is different from the one from the dialysis method (D'Souza e DeLuca, 2005). It is also mentioned that a higher rate of drug release with the dialysis method can be obtained than with a non-agitated sample-and-separate method, although it was not very significant (D'Souza e DeLuca, 2005). The dialysis method's reproducibility was also studied and showed that it is highly reproducible (D'Souza e DeLuca, 2005). It is still noteworthy that the dialysis method is less desirable if the drug binds or adsorbs to the membrane present in the dialysis method (D'Souza e DeLuca, 2005).

In another dialysis study, the drug release time was shortened without any change in the drug release profile (D'Souza *et al.*, 2014). The reproducibility of intra- and inter batches results validated the predictability and reproducibility of the accelerated *in vitro* product performance test. The discriminatory power assessment validated the robustness and discriminatory power of the accelerated test and its utility in distinguishing product performance (D'Souza *et al.*, 2014).

The USP apparatus 7 (Reciprocating Disk/Stent Holder) 12-row system was used for the accelerated *in vitro* release test with Everolimus/PLGA 75/25 stents (Kamberi *et al.*, 2009). The developed *in vitro* release method of everolimus showed enough discriminatory power to detect manufacturing differences, and upon minor but deliberate variations in the

procedural parameters, the release method remained unaffected, thus ensuring its validity (Kamberi *et al.*, 2009).

Seven of the studies shown in table I used the sample-and-separate method. Following the high reproducibility of the predicting method of the release profiles of the progesterone PLGA microspheres, the method was considered a valid alternative to predict the real-time release (Ye *et al.*, 2019). Still, the method could not perfectly describe the final release profile due to bulk-erosion promoted microspheres breaking up, even though authors concluded that it could successfully describe the real-time release profile in general (Ye *et al.*, 2019).

The accelerated release method applied to peptide-PLGA delivery systems was able to predict the real-time release for all the tested formulations, discriminate between different types of peptide-PLGA formulations, and showed a good correlation with the *in vitro* real-time release, thus suggesting an excellent predictive power of the accelerated release method (Goel *et al.*, 2021).

In the article about thymopentin PLGA microspheres (Xie *et al.*, 2015), the developed accelerated method allowed for a prediction of the long-term release (Xie *et al.*, 2015). It also showed an excellent discriminatory ability (Xie *et al.*, 2015). Nonetheless, the release mechanism of the final modified accelerated test is unclear and needs further studies to be validated (Xie *et al.*, 2015).

The accelerated *in vitro* release test of dexamethasone PLGA loaded microspheres (Gu, Wang e Burgess, 2015) using the sample-and-separate method significantly shortened the testing period from months to days while retaining the ability to discriminate various formulations (Gu, Wang e Burgess, 2015).

Two other articles are worth to be mentioned that used flow cell devices (Garner *et al.*, 2018; Iyer, Barr e Karnes, 2007).

A modified flow-through cell was compared to a modified capillary device in accelerated *in vitro* release tests for biodegradable polycaprolactone implant naltrexone. In both cases, the integrity of the drug product was maintained throughout the studies, and the rate of release could be used for long-term prediction (Iyer, Barr e Karnes, 2007). No conclusions regarding the best method nor indications of any change in release mechanism were provided (Iyer, Barr e Karnes, 2007).

However, with a modified flow-through cell used for the accelerated *in vitro* release on risperidone PLGA microspheres, poor reproducibility limited its use to distinguish differences in release methods and manufacturing conditions (Garner *et al.*, 2018).

2.2-Temperature

The temperature is one of the most studied parameters regarding its impact on accelerating drug release studies from LAI. Most studies used temperatures above the T_g of the polymers of the LAI since temperatures near or above the T_g of polymers accelerate the drug release (Hu *et al.*, 2018). The drug release mechanism may be similar to the accelerated release performed at higher temperatures as in the real-time release (Andhariya *et al.*, 2017; Shen *et al.*, 2016). It must be emphasized that temperature can be a significant parameter impacting drug solubility (Garner *et al.*, 2018).

This higher temperature strategy has not been successful while seeking accelerated release studies for LAI. Some drugs and other LAI components will likely degrade under extreme temperatures, and a high burst release can occur (Hu *et al.*, 2018). A deviation of the release profile from the time-scaled real-time release profile when using the highest temperatures (50°C, 54.5°C) was attributed to a change in the drug release mechanism (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012).

Moreover, when investigating the effect of the temperature to mimic the physiological temperature, the highest temperature, 39°C, provided a slower drug release rate compared to both 35°C and 37°C (Tipnis *et al.*, 2020). This high-temperature effect could be due to surface pore closure of the microspheres due to polymer chain relaxation, or even a possible clogging up of the pores could happen as a result of short PLGA debris accumulation due to its degradation at higher temperatures, which may be one more contributing factor towards the slow release (Tipnis *et al.*, 2020). A high-temperature value is not always easy to apply in release studies, as temperatures of 70°C can create equipment maintenance problems (Zolnik, Leary e Burgess, 2006). Under the highest values (55°C, 60°C) the discriminatory ability was lower than the lowest temperature studied above the T_g of the polymer PLGA (50°C)(Li *et al.*, 2021). In the same way, with the highest temperature (60°C) tested a lower total drug release was obtained. Even with the ideal temperature (50°C), the peptide release did not reach the target value showing that temperature alone is not always sufficient to degrade the polymer matrix, not assuring the complete release of the peptide from -PLGA LAI (Goel *et al.*, 2021).

Briefly, it is necessary to carry out a preliminary study regarding disclosure of temperature close to T_g of formulations polymers. This approach has allowed good results, with the ability to predict the in vitro release profile in real-time, good discriminatory power, and reproducibility.

Upon a gradual temperature increase, from 40°C to 50°C, the correlation between the accelerated and the real-time release of thymopentin PLGA microspheres was improved

(Xie *et al.*, 2015). Still, this accelerated method needs to be validated for robustness and reproducibility (Xie *et al.*, 2015).

2.3-Release Medium Content

Most studies use PBS as the release medium, with or without surfactants such as Tween[®] 80 and Tween[®] 20, as seen in table I. In some of those studies, there was a comparison among different media (D'Souza e DeLuca, 2005). A steady and complete leuprolide diffusion from PLGA microspheres can be achieved within 4 hours, independent of the different buffers tested (D'Souza e DeLuca, 2005) with progesterone, the release profile from PLGA microspheres did not change upon release testing in different media (Ye *et al.*, 2019). In the release test of a somatostatin analog from the PLGA microsphere upon decreased buffer concentration, a significant increase in drug release rate was observed, along with a change in the drug release mechanism. The lower buffer concentration decreased osmotic pressure which accelerates the polymer degradation, making diffusion the primary rate-controlling mechanism (Tomic *et al.*, 2016). The cumulative release of triamcinolone acetonide from PLGA increased when the concentration of PBS was changed from 10 mM PBS to 50 mM PBS, releasing more than 87% in the same period on both PBS concentrations (Tipnis *et al.*, 2020). The authors justified this increase of release by saying that the high ionic strength can indeed increase the drug release, but it is dependent on the type of drug and its ionic interactions; otherwise, it decreases the drug solubility and can cause the effect of "salting out" (Tipnis *et al.*, 2020). There are also some cases where the effect of ionic strength in the *in vitro* release showed a marginal impact on drug release (Hu *et al.*, 2018), even though the cumulative release decreased as the ionic strength increased (Hu *et al.*, 2018).

Compared to an agarose gel, the release of the drug from PLGA in situ forming implants on PBS is faster than in the agarose gel; however, in the PBS media, the release rate of the drug is not as close to the *in vivo* data as in the agarose gel (Li *et al.*, 2021).

Another strategy based on organic solvents revealed that thymopentin release from PLGA microspheres was faster in this type of solvent (Xie *et al.*, 2015).

The organic solvents such as ethanol also accelerated dexamethasone release from PLGA microsphere/PVA hydrogel composites (Shen e Burgess, 2012) and PLGA microspheres (Hu *et al.*, 2018). However, the microspheres can become prone to get soft and consequently easier to aggregate in release medium, thus suggesting a selection of ethanol at low concentration (Hu *et al.*, 2018).

The surfactants enhance the wetting and permeability of the polymers, improving the release of the drug (Goel *et al.*, 2021). Regarding the effect of surfactant concentration, it must be

emphasized that when the concentration was too low, it could not inhibit microsphere aggregation efficiently, and when it was too high, it altered the release profile leading to a lower similarity degree (Xie *et al.*, 2015).

Nonionic surfactants are the most used in the depicted studies, contributing to a higher release rate of the drugs. However, in most of them, it was necessary to couple this parameter with others to obtain the best results. In the accelerated release of an everolimus PLGA stent, acetonitrile, which increases the total porosity of the matrices, had to be added to the Tween[®] 20 and the sodium acetate media in order to achieve a release of at least 80% of everolimus at the last time point (Kamberi *et al.*, 2009). For the accelerated *in vitro* release test of a long-acting-peptide PLGA controlled release system, a combo of an organic co-solvent THF with the surfactant TX had to be used together with a 50°C temperature in order to obtain the full release of the peptide with the desired release profile (Goel *et al.*, 2021).

Unlike the previously mentioned studies (Goel *et al.*, 2021; Kamberi *et al.*, 2009), in the accelerated release test of triamcinolone acetonide PLGA microspheres, an anionic surfactant, sodium dodecyl sulfate, was used given its higher solubility when compared with other surfactants (Tipnis *et al.*, 2020). This surfactant was also more water-soluble than nonionic surfactants such as Tweens and pluronic, thus promoting a higher solubility of the triamcinolone acetonide in PBS (Tipnis *et al.*, 2020).

It is also worth noticing the effect of an antioxidant, sodium ascorbate, which, according to the authors, prevents the degradation of naltrexone in the accelerated release test of naltrexone PLGA microspheres since this drug is basic and deprotonates easily in alkaline conditions, leading to oxidative degradation (Andhariya *et al.*, 2017). Usually, it would be necessary to replace the media frequently to avoid this degradation, but the antioxidant allows to perform a release test without the need for a frequent media replacement (Andhariya *et al.*, 2017).

2.4-pH

Most release studies are performed at physiological pH in the accelerated release test. This choice might be due to a few reasons, such as the fact that extreme pH conditions might change the release mechanism or have detrimental effects on the solubility of the peptide under study (Goel *et al.*, 2021; Gu, Wang e Burgess, 2015). The extreme pH values can even turn the drug unstable, like in the case of naltrexone in Andhariya *et al.* study (2017), and affect the release profile (Rawat *et al.*, 2011). Thymopentin was revealed to be unstable in acidic environments at high temperatures and degraded rapidly under alkaline conditions,

leading to a pH of 7.0, close to the physiological one (Xie *et al.*, 2015). There have been failures when pH was chosen to achieve accelerated drug release while maintaining the drug release profile (D'Souza e DeLuca, 2005; Shen e Burgess, 2012).

On the other hand, the somatostatin analog's solubility increased at an acidic pH (Tomic *et al.*, 2016). The dissolution curves of the somatostatin analogs in two acidic release media (pH 2, and pH 4) were similar, meaning that changing the pH of the media did not change the release mechanism (Tomic *et al.*, 2016). The only difference observed was in the release rate of the somatostatin analog from the PLGA microspheres, which was higher at pH 2 (Tomic *et al.*, 2016).

The release profile of everolimus from a PLGA stent in a non-buffered system (water, pH not mentioned) did not differ when the release medium was performed in a buffered system with a pH of 5.0 (Kamberi *et al.*, 2009).

The risperidone release from PLGA microspheres was tested at pH of 7.0, 5.0 and 9.0. The highest cumulative release was obtained with a pH of 7.0 (Hu *et al.*, 2018).

2.5-Other parameters

The agitation is another parameter that can be changed to accelerate the drug product release rate. Its impact on drug release performed with a dialyzer can be significant as the use of stirring can increase the drug release since it prevents the formation of an unstirred water layer at the outer dialyzing surface that is commonly attributed to the slow dissolution of insoluble drugs (D'Souza *et al.*, 2014; D'Souza e DeLuca, 2005).

In the sample-and-separate method, the magnetic stirring also increased the releasing rate of progesterone from the PLGA microspheres (Ye *et al.*, 2019).

But the agitation did not show good results in all of the studies. In Garner *et al.* the release rate of risperidone is slightly faster without any agitation from the incubator, although the difference was not statistically significant (Garner *et al.*, 2018).

In Rawat *et al.* (2011) studies with risperidone PLGA microspheres, they found that if the medium was not de-aerated during long-term *in vitro* release tests, entrapment of microspheres in the air bubbles (in the flow-through cell) resulted in a slower drug release profile (Rawat *et al.*, 2011; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012).

3-Real-Time and Accelerated Methodology Comparison

The accelerated *in vitro* drug release profile has to show a minimum rank order relationship with the real-time *in vitro* drug release profile (Shen e Burgess, 2012) and a 1:1 correlation

between both release profiles (Zolnik, Leary e Burgess, 2006) increases accelerated test ability in predicting the real-time *in vitro* drug release profile.

The correlation determination has been calculated upon multiple methods, from simply overlapping the release profiles or plotting them for comparison after time-scaling them to using various equations, like the Arrhenius equation, to estimate the activation energy or the Weibull function, depending on the most suitable option. The results of correlations in several studies are displayed in Table 2, together with the authors summarized conclusions.

These correlation methods will be further developed in each sub-section, except for the octreotide acetate and leuprolide acetate, since no comparison study was performed between the real-time *in vitro* drug release test and the accelerated *in vitro* drug release test.

Table 2- Summary of methods for calculation of correlation between accelerated and real-time *in vitro* release tests.

Method	Purpose	Delivery system (Drug)	Output	References
Correlation Coefficient	Ability to predict real-time release	PLGA microspheres (Risperidone)	$R_2 = 0.98$ Drug release at both temperatures (37°C and 45°C) may follow a similar mechanism. The developed accelerated release testing method may predict the real-time release profile well.	(Shen et al., 2016)
Time-Scaling Linear Regression	Retrospective evaluation of the predictive power of the accelerated method	Peptide-PLGA System (Therapeutic peptide)	$R_2 = 0.834$ to 0.997 The good predictive power of the accelerated release method (5:5:90 v/v/v stabilized THF/TX/PBS at 50°C)	(Goel et al., 2021)
Time-Scaling Linear Correlation coefficient	<i>in vitro</i> short-term vs real-time testing	PLGA microspheres (Risperidone)	R_2 (45°C vs. 37°C) = 0.9929; R_2 (50°C vs. 37°C) = 0.95; R_2 (54.5°C vs. 37°C) = 0.95. 45°C was helpful for quality control testing of the microspheres ($R_2 \sim 0.99$), although lack of <i>in vivo</i> relevance at this temperature	(Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012)
Time-Scaling Linear Correlation coefficient	<i>in vitro</i> short term vs real-time testing	PLGA microspheres (Risperidone)	$R_2 = 0.9929$ <i>in vitro</i> assay upon validation for robustness and reproducibility showed to be appropriate for <i>in vitro</i> release testing of microspheres. A one-to-one linear correlation was observed between accelerated (45°C) and in real-time release	(Rawat et al., 2011)
Comparison by Time-Scaling Correlation	<i>in vitro</i> short term vs RT testing	PLGA microspheres (Naltrexone)	$R_2 > 0.99$ Time-scaled real-time release profile overlapped with the respective accelerated	(Andhariya et al., 2017)

	coefficient (R^2)			(45°C) release profile. Drug release mechanisms at both temperatures (37°C and 45°C) may be similar.	
Thermodynamic equations	Arrhenius Equation-estimation of the Energy of Activation	Ability to predict real-time release	PLGA microspheres (Dexamethasone)	Energy of Activation calculated in agreement with the experimental value. All elevated temperature conditions investigated appeared to be appropriate. 60°C the best overall.	(Zolnik, Leary Burgess, 2006)
	Arrhenius Equation-estimation of the Energy of Activation	Ability to predict real-time release	PLGA microsphere/PVA hydrogel (Dexamethasone)	Elevated temperature (60°C) accelerated <i>in vitro</i> release tests showed a good prediction of the real-time release using the Arrhenius equation. They recommended that real-time studies be used to determine the burst release phase due to difficulties in distinguishing different formulations with similar release profiles at this stage of the release profile.	(Shen Burgess, 2012)
	Arrhenius Equation-estimation of the Energy of Activation Comparison by Time-Scaling Correlation coefficient (R^2)	Ability to predict real-time release	PLGA <i>in situ</i> forming implant (Leuprolide acetate)	R^2 of 4 different formulations (F1, F2, F3 and F4 respectively): $R^2 = 0.997$ $R^2 = 0.970$ $R^2 = 0.970$ $R^2 = 0.948$ The correlations between accelerated release profile (50°C) for formulations F1, F2 and F3 were considered acceptable. Formulation F4 displayed a relatively poor prediction for real-time release. Deviations from the ideal correlation are observed for all formulations, particularly the burst release phase. The main	(Li et al., 2021)

				reason for the poor prediction is the variable release mechanisms of ISFIs during the initial and lag phases. However, further studies in this area are needed.	(Iyer, Barr e Karnes, 2007)
Arrhenius equation	Demonstration of the validity of the temperatures used. Ability to predict real-time release	Biodegradable polycaprolactone implant (Naltrexone)	$R_1 = 0.9651$ $R_2 = 0.98$	The controlled use of temperature (45°C and 55°C) was a useful parameter to investigate accelerated drug release.	
Plotted for direct comparison	Effect of the Tg of formulations polymers on the drug release profile	PLGA microspheres/PVA hydrogel (Dexamethasone)		Accelerated tests at both 45 and 53°C could distinguish the three formulations. The 53°C were more suitable for quality assurance purposes.	(Gu, Wang e Burgess, 2015)
Plotted for direct comparison	Comparison of an accelerated <i>in vitro</i> release method	PLGA microsphere (Triamcinolone acetamide)		Elevated temperature (39°C) may not be a suitable parameter to accelerate drug release in the case of all extended-release microsphere products. The release profiles at both 35°C (10 mM PBS (pH 7.2) containing 0.1% (w/v) SDS, 35 °C) and 37 °C were similar	(Tipnis et al., 2020)
Mean Standard Deviation (SD) T-test Direct Comparison	Examine <i>in vitro</i> risperidone release kinetics	PLGA microsphere (Risperidone)		Flow-Cell apparatus: -SD between samples very large, poor reproducibility Vessel: -Glass jar/glass flask have significantly higher release than either the glass tube or the centrifuge tube	(Garner et al., 2018)

Kinetic equations	Weibull function Zero Order vitro release data Higuchi Model Korsmeyer- Peppas Model	Model accelerated in vitro release data	PLGA microsphere (Somatostatin analog)	Solid Beads: -Lack of difference between glass beads and DVB Sampling Volumes: -1 mL (out of the total 40 mL) lengthens the lag phase significantly when compared to a 30-mL Agitation: -Release of risperidone is slightly faster without any agitation from the incubator, but the difference is not statistically significant	(Tomic et al., 2016)
Difference and Similarity factors	Weibull function Zero Order vitro release data Higuchi Model Korsmeyer- Peppas Model Weibull function	Model accelerated in vitro release data and ability to predict the real-time release.	PLGA microsphere (Progesterone)	The accelerated release tests could predict and deduce the shape of the real-time release tests (47°C), and the method was simple. The final part of the profile of the real-time release did not show a perfect correlation with the deduced function	(Ye et al., 2019)
Difference and Similarity factors	Modified Weibull Equation	Model characterize drug release	PLGA microsphere (Leuprolide acetate)	R _t > 0.99 An accelerated methodology using an elevated temperature of 55°C is predictive of real-time release at 37°C	(D'Souza et al., 2014)
Difference and Similarity factors	Difference Factor (f1)	Assess the similarity of two release	PLGA microspheres (Risperidone)	The release of risperidone from PLGA microspheres under this accelerated release	(Hu et al., 2018)

	Similarity Factor profiles (f2)			(pH 7.0, 45°C, 20% ethanol) could be used to predict the absorption of risperidone from PLGA microspheres <i>in vivo</i> . Good correlation between percent risperidone released from PLGA microspheres under this accelerated release condition	
Difference and Similarity factors and Correlation Coefficient	Similarity Factor Correlation coefficient (R ₂)	Evaluate similarity between the short- and long-term release curves	PLGA microsphere (Thymopentin)	Correlation coefficients (R ²) obtained for 3 different formulations: R ² = 0.9896 R ² = 0.9898 R ² = 0.9886 Showed a point-to-point linear correlation with <i>in vitro</i> release data. This may be a suitable discriminatory method to test for batch-to-batch variation in formulations where erosion and diffusion appear to be the dominant drug release mechanisms. The developed accelerated method (20% ethanol-aqueous solution, 0.06% Tween [®] 80, a gradient heating program from 40°C to 50°C) correlates well with the real-time release at 37°C and allows for a prediction of the long-term release from the accelerated release profile.	(Xie et al., 2015)
	Plotting different levels of release Calculation of correlation coefficients	<i>in vitro</i> short term vs RT testing	PLGA stent (Everolimus)	Correlation coefficients (R ²) were obtained for 3 formulations with different manufacturing processes: - R ₁ = 0.9774 - R ₂ = 0.9822	(Kamberi et al., 2009)

NA	NA	NA	PLGA microspheres (Octreotide Acetate)	NA	- R ² = 0.9966 The short-term accelerated release method (gradient ACN in 0.4% Tween® 20 and 10mM sodium acetate; 37°C; pH 5.0) reflected and discriminated between different formulations and correlated with the real-time release at 37°C. The accelerated method reflected and discriminated between different sources of variations in the manufacturing process and correlated with the real-time release.	(Wang et al., 2019)
NA	NA	<i>in vitro</i> short term vs RT testing	PLGA microspheres (LXT-101 Peptide)	NA	Peptide release from drug-loaded microspheres at 50°C within 30h correlated well with the real-time release at 37°C within 30d by optimization of release conditions such as temperature and surfactant concentration.	(Du et al., 2006)
NA	NA	NA	PLGA microsphere (Leuprolide acetate)	NA	The temperature did not influence diffusion greatly between 37°C and 55°C Equilibrium with no binding was achieved within 4 hours, independent of the buffer and the pH of the media. The faster rate of diffusion through the membrane into the outer sink with continuous stirring of the outer media	(D'Souza e DeLuca, 2005)

PLGA- Poly lactic-co-Glycolic acid; NA- Non Available; PBS- Phosphate Buffered Saline; THF- Tetrahydrofuran; TX- Triton X; ACN-Acetonitrile; PVA- Poly Vinyl Alcohol; SD-Standard Deviation; SDS- Sodium Dodecyl Sulfate; ISFIs- *in situ* forming implants

3.1- Correlation Coefficient

The correlation coefficient is the most used method for comparing release profiles, mainly between the accelerated *in vitro* release profile and the real-time *in vitro* release profile. In order to obtain the correlation coefficient, a time-scaling of the release profiles is always present, which allows us to compare them and get a better correlation.

Goel *et al.* (2021) built a time-scaling model to determine the level of agreement between release datasets (Goel *et al.*, 2021). When applying the time-scale model, a simple linear regression yielded R^2 values ranging from 0.834 to 0.997, suggesting an excellent predictive power of the accelerated release method (Goel *et al.*, 2021).

The correlation coefficient method allows determining if the release mechanisms are similar or not since when time-scaled real-time release profiles overlap with their respective accelerated release profiles, it is considered that the release mechanisms may be similar (Andhariya *et al.*, 2017; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012). It can also be used while studying possible parameters to accelerate the release profile (Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012).

In all of the studies using this correlation method it was possible to discriminate between different types of formulations when it was studied (Andhariya *et al.*, 2017; Goel *et al.*, 2021; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Shen *et al.*, 2016).

The results with the correlation coefficient method also showed some of the highest correlations and a good predictive ability of the real-time *in vitro* release profile (Andhariya *et al.*, 2017; Goel *et al.*, 2021; Rawat *et al.*, 2011; Rawat, Bhardwaj e Burgess, 2012; Shen *et al.*, 2016).

3.2- Thermodynamic equations

Thermodynamic equations, namely the Arrhenius equation, are another method used to assess the correlation between release profiles. With this formula, it is possible to calculate the activation energy associated with several parameters such as formulation composition, polymer properties, and dissolution conditions (Li *et al.*, 2021). Due to this, a different E_a value represents a different release mechanism (Li *et al.*, 2021), hence why it has an excellent discriminatory ability (Li *et al.*, 2021; Shen e Burgess, 2012; Zolnik, Leary e Burgess, 2006)

Moreover, it can detect when the release mechanism is predominantly erosion-controlled during the zero-order release (Li *et al.*, 2021; Shen e Burgess, 2012). This formula was only possible on fractions of the release profile that followed a zero-order release rate (Iyer, Barr e Karnes, 2007; Li *et al.*, 2021; Shen e Burgess, 2012; Zolnik, Leary e Burgess, 2006).

Arrhenius equation:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} * \frac{1}{T}$$

k- zero-order release rate constant

A- Arrhenius factor

E_a- Energy of activation

R- Gas constant

T- Absolute temperature

Still, this equation showed some limitations, mainly the inability to correlate the release phases that did not follow a zero-order release, meaning that it can only compare part of the release profile. Those limitations might be one of the reasons why it was reported in a few studies that there were problems with the prediction of the real-time burst release phase and with the discriminatory ability on this phase as well (Li *et al.*, 2021; Shen e Burgess, 2012; Zolnik, Leary e Burgess, 2006).

On another accelerated release *in vitro* test that used this formula, there was also some trouble with formulations whose release mechanism was predominantly diffusion-controlled (Zolnik, Leary e Burgess, 2006).

Using the correlation coefficient alongside the Arrhenius equation makes it possible to have excellent and acceptable correlation values (Li *et al.*, 2021).

3.3- Direct comparison

This method simply plots the release profiles for a direct comparison between them. It is possible to compare the entire release profile and detect differences and similarities between them by observing the graphics (Gu, Wang e Burgess, 2015).

Even though a comparison can be made between the release profiles, no correlation is made between them. It is all based on the observation of the analyst, hence why there are no values to classify the comparison made but rather a comment of the investigators on what was observed when comparing the release profiles (Garner *et al.*, 2018; Gu, Wang e Burgess, 2015; Tipnis *et al.*, 2020).

Two works that used the direct comparison obtained a good and reproducible accelerated release test (Tipnis *et al.*, 2020) and a good and discriminatory accelerated release test (Gu, Wang e Burgess, 2015).

3.4- Kinetic equations

The kinetic equations were another method used to correlate, model, and describe the release profile of the drug products.

One of them was even recommended for the description of the release profiles in microspheres by the American Association of Pharmaceutical Scientists/International Pharmaceutical Federation (AAPS/FIP) workshop, which was the Weibull Function (D'Souza *et al.*, 2014; Ye *et al.*, 2019). It is the most used equation in microspheres. It is usually the choice when the release profile that is trying to be modeled has the following characteristics: a zero to low initial burst, zero to minimal diffusion mediated release rate, an erosion-dominated process coupled with minimal diffusive release rates (D'Souza *et al.*, 2014; Ye *et al.*, 2019). It is a descriptive function that compares dissolution profiles (Tomic *et al.*, 2016). The various terms of the Weibull equation also provide an insight into the nature and extent of the *in vitro* release phenomenon, in an example, the α defines the time scale of the process, and the β characterizes the shape of the curve as exponential ($\beta = 1$), sigmoid ($\beta > 1$), or parabolic ($\beta < 1$) (D'Souza *et al.*, 2014; Tomic *et al.*, 2016).

Weibull Equation:

$$\frac{X_t}{X_{inf}} = 1 - e^{-\left(\frac{t}{\alpha}\right)^\beta}$$

X_t- Percentage of drug release at time t

X_{inf}- Denotes 100% release

t- Time

α- Scale of process

β- Shape factor

Different approaches were made to use this formula: Tomic *et al.* (2016) used three other mathematical models to analyze the release mechanism, namely the Zero order release, the Higuchi model, and the Korsmeyer-Peppas model (Tomic *et al.*, 2016). The Zero order release is used for modified release dosage forms with constant release kinetics independent of drug concentration, the Higuchi for several modified release systems where diffusion is the dominant release mechanism, and the Korsmeyer-Peppas, through the n value, indicates if the release mechanism follows a non-fickian diffusion, $n < 0.43$, a fickian diffusion, $n=0.43$, an anomalous diffusion, $0.43 < n < 0.85$, or a case II diffusion, $n > 0.85$ (Tomic *et al.*, 2016; Ye *et al.*, 2019).

Korsmeyer-Peppas model:

$$\frac{X_t}{X_{inf}} = K t^n$$

K- Release rate constant

X_t/X_{inf}- Fraction of drug released at time t

t- Time

n- Release exponent

Ye *et al.* (2019) used the Weibull and the Korsmeyer-Peppas models to help reveal the relationship between the real-time release profile and accelerated release profile to predict the real-time release (Ye *et al.*, 2019). The Korsmeyer-Peppas equation was used to explain the release mechanisms, describe the shape of the release profiles, and predict the real-time release (Ye *et al.*, 2019). However, this model presented some issues as it could not be appropriate to describe the actual release mechanism, especially when the release profile had a significant initial burst (Ye *et al.*, 2019). At 52°C, the release was finished in a short time so that a few available timing points could be fitted by the Korsmeyer-Peppas equation and Weibull function (Ye *et al.*, 2019)

In Tomic *et al.* (2016) the burst release sample was excluded when modeling the release profiles with the kinetic equations (Tomic *et al.*, 2016). The equations could describe and classify the release profiles and their mechanisms, except for the dialysis method, where the lag phase could not be distinguished from the erosion phase based on the Korsmeyer-Peppas model (Tomic *et al.*, 2016).

D'Souza *et al.* (2014) noticed that the Weibull equation could not capture the characteristics of systems that show a slight initial burst (3–5%) or more, which occurs in parenteral controlled delivery systems such as PLGA polymeric microspheres (D'Souza *et al.*, 2014). This high initial burst is often necessary to provide a drug loading dose *in vivo*, and therefore an essential element of the *in vitro* product performance test (D'Souza *et al.*, 2014). Since previous attempts to normalize the *in vitro* release data and eliminate the burst release phase did not provide a good model fit (D'Souza *et al.*, 2014; D'Souza, Faraj e DeLuca, 2005), D'Souza *et al.* (2014) modified the Weibull equation to include the initial burst and was successful in describing a tri-phasic sigmoidal drug release profile (D'Souza *et al.*, 2014).

Modified Weibull equation:

$$\frac{X_t}{X_{inf}} = \frac{X_{burst}}{X_{inf}} + (1 - e^{-\left(\frac{t}{\alpha}\right)^\beta})$$

X_t- Percentage of drug release at time t

X_{inf}- Denotes 100% release

X_{burst}- Percent burst release of peptide

t- Time

α- Scale of process

β- Shape factor

With the modified Weibull model, a solid mathematical and statistical correlation was obtained between the real-time and the accelerated release profiles ($R^2 > 0.99$), with a near overlapping of the profiles after time-scaling (D'Souza *et al.*, 2014). The reproducibility of the accelerated test method within and between lots was also confirmed (D'Souza *et al.*, 2014). The utility of the modified Weibull model in quantifying the differences obtained from the *in vitro* product performance test between process variants was also validated, thereby enhancing the discriminatory power of the accelerated methodology (D'Souza *et al.*, 2014).

3.5- Difference and Similarity factors

These factors are another tool that can be used to compare two release profiles and assess their similarity (Hu *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2015). The difference factor (*f*₁) measures the percent difference in the fractional release between two drug release curves' overall time (Hu *et al.*, 2018). The release profiles are considered similar when the value is between 0 and 15 (Hu *et al.*, 2018). The similarity factor (*f*₂) is a measure of the similarity in the fractional release between the curves over all time points (Hu *et al.*, 2018). The release profiles are considered similar when this value is 50 or more (50-100) (Hu *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2015). *f*₂ is usually recommended for comparing dissolution profiles of extended-release oral dosage forms. However, it is sometimes extended to sustained-release parenteral microspheres, given that its essence of comparing the profiles obtained from multipoint dissolution does not change (Xie *et al.*, 2015).

These methods were mainly used when studying the effect of different parameters on the release profile (Hu *et al.*, 2018; Kamberi *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2015). It is also possible to use them when studying the reproducibility of the release tests since the release profiles should be similar under these reproducibility tests (Kamberi *et al.*, 2009). The discriminatory ability is another factor that is possible to study using this method (Kamberi *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2015), since the *f*₁ and *f*₂ values can reflect if there is any difference between the

release profiles, so it should be able to discriminate between release profiles of different formulations.

Nonetheless, the final comparison between the accelerated *in vitro* release profile and the real-time *in vitro* release profile was always made with the help of the correlation coefficient (Hu *et al.*, 2018; Kamberi *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2015)

In the thymopentin study, the correlation coefficient values were 0.9896, 0.9898, and 0.9886 (Xie *et al.*, 2015). The accelerated method correlated well with the "real-time" release profile and had an excellent discriminatory ability (Xie *et al.*, 2015).

In Kamberi *et al.* (2009) the correlation coefficients between the accelerated and the real-time release profile were 0.9774, 0.9822, and 0.9966, which was considered a good correlation that allows for a prediction of the long-term release from the accelerated release profile (Burgess *et al.*, 2002; Kamberi *et al.*, 2009). The similarity factor values of the reproducibility test of the accelerated method ranged from 74 to 86, which validated the accelerated release method and its reproducibility (Kamberi *et al.*, 2009). The method also reflected and discriminated between different sources of variations in the manufacturing process (Kamberi *et al.*, 2009).

4-Conclusion

There is a need to improve the implementation and validation of accelerated *in vitro* drug release test methodologies applied for long-acting injectables.

This validation will put forward accelerated tests in routine quality control and, most importantly, an effective and faster marketing authorization of innovative drug products.

The compendial-based USP apparatus 4 has been the most used equipment to ensure reproducible release data and facilitate inter-laboratory comparisons. The sample-and-separate method is also commonly used due to its simple setup, operation procedures, and reduced instrumentation cost.

Assuming that the drug is not sensitive to high-temperature, experimental temperatures close to or higher than the T_g of formulations' polymers help to accelerate the drug release. Using a gradient heating program is also exciting and correlates very well with the real-time *in vitro* release profile and should be studied more often.

The use of organic solvents also led to an increase in the cumulative release and its rate.

Extreme pH in most cases was not used as it does not appear to be an excellent solution to accelerate the release tests,

Regarding agitation, it appeared to help increase the drug release rate when used on a dialysis apparatus on the receiving media. However, with the flow cell apparatus, it even slowed the release a bit, which means that it is not clear or linear whether it helps or not in accelerating the drug release, and probably it can even depend on the type of apparatus that is being used.

The most appropriate correlation methods, not limited to only specific fragments of the release profile and giving the best results most of the time, are the correlation coefficient, the use of the similarity and difference factors, and the modified Weibull equation. The best results are obtained mainly with the correlation coefficient, time-scaling method, and the modified Weibull equation. This last seems to be an exciting option that is worth to further investigate as it can also describe the release profile and evaluate the reproducibility and discriminatory ability.

Overall, the success of the accelerated *in vitro* release tests of the LAIs depends not only on the drug product but the methods and parameters that are chosen also play the leading role in it, sometimes even more significant than the drug product itself. Therefore, further studies have to be made to understand this topic better.

5-Bibliography

ALEXIS, Frank - Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly(lactic acid) and poly[(lactic acid)-co-(glycolic acid)]. **Polymer International**. . ISSN 0959-8103. 54:1 (2005) 36–46. doi: 10.1002/pi.1697.

ANDHARIYA, Janki V.; CHOI, Stephanie; WANG, Yan; ZOU, Yuan; BURGESS, Diane J.; SHEN, Jie - Accelerated *in vitro* release testing method for naltrexone loaded PLGA microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 520:1–2 (2017) 79–85. doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.01.050.

BAJPAI, Manoj; ESMAY, Joel D. - *In vitro* studies in drug discovery and development: an analysis of study objectives and application of good laboratory practices (GLP). **Drug Metabolism Reviews**. . ISSN 0360-2532. 34:4 (2002) 679–689. doi: 10.1081/DMR-120015690.

BURGESS, Diane J.; HUSSAIN, Ajaz S.; INGALLINERA, Thomas S.; CHEN, Mei-Ling - Assuring quality and performance of sustained and controlled release parenterals: Workshop report. **AAPS PharmSci**. . ISSN 1522-1059. 4:2 (2002) 13–23. doi: 10.1208/ps040205.

D'SOUZA, Susan; FARAJ, Jabar A.; DORATI, Rossela; DELUCA, Patrick P. - A Short Term Quality Control Tool for Biodegradable Microspheres. **AAPS PharmSciTech**. . ISSN

1530-9932. 15:3 (2014) 530–541. doi: 10.1208/s12249-013-0052-0.

D'SOUZA, Susan S.; DELUCA, Patrick P. - Development of a dialysis in vitro release method for biodegradable microspheres. **AAPS PharmSciTech.** . ISSN 1530-9932. 6:2 (2005) E323–E328. doi: 10.1208/pt060242.

D'SOUZA, Susan S.; FARAJ, Jabar A.; DELUCA, Patrick P. - A model-dependent approach to correlate accelerated with real-time release from biodegradable microspheres. **AAPS PharmSciTech.** . ISSN 15309932. 6:4 (2005) 553–564. doi: 10.1208/pt060470.

DU, Lina; CHENG, Junping; CHI, Qiang; QIE, Jiankun; LIU, Yan; MEI, Xingguo- Biodegradable PLGA Microspheres as a Sustained Release System for a New Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) Antagonist. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin.** . ISSN 0009-2363. 54:9 (2006) 1259–1265. doi: 10.1248/cpb.54.1259.

GARNER, John; SKIDMORE, Sarah; PARK, Haesun; PARK, Kinam; CHOI, Stephanie; WANG, Yan - Beyond Q1/Q2: The Impact of Manufacturing Conditions and Test Methods on Drug Release From PLGA-Based Microparticle Depot Formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences.** . ISSN 00223549. 107:1 (2018) 353–361. doi: 10.1016/j.xphs.2017.10.027.

GOEL, Meenakshi; LEUNG, Dennis; FAMILI, Amin; CHANG, Debby; NAYAK, Purnendu; AL-SAYAH, Mohammad - Accelerated in vitro release testing method for a long-acting peptide-PLGA formulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** . ISSN 09396411. 165 (2021) 185–192. doi: 10.1016/j.ejpb.2021.05.008.

GU, Bing; WANG, Yan; BURGESS, Diane J. - In vitro and in vivo performance of dexamethasone loaded PLGA microspheres prepared using polymer blends. **International Journal of Pharmaceutics.** . ISSN 03785173. 496:2 (2015) 534–540. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.056.

HU, Xiaoqin; ZHANG, Jianwei; TANG, Xuemei; LI, Mingyuan; MA, Siyu; LIU, Cheng; GAO, Yue; ZHANG, Yue; LIU, Yan; YU, Fanglin; YANG, Yang; GUO, Jia; LI, Zhiping; MEI, Xingguo - An Accelerated Release Method of Risperidone Loaded PLGA Microspheres with Good IVIVC. **Current Drug Delivery.** . ISSN 15672018. 15:1 (2018) 87–96. doi: 10.2174/1567201814666170516113406.

IYER, S.; BARR, W.; KARNES, H. - A 'biorelevant' approach to accelerated in vitro drug release testing of a biodegradable, naltrexone implant. **International Journal of Pharmaceutics.** . ISSN 03785173. 340:1–2 (2007) 119–125. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.03.033.

KAMBERI, Marika; NAYAK, Sushma; MIN-MYO, Kathy; CARTER, Troy P.; HANCOCK, Leonard; FEDER, Debra- A novel accelerated in vitro release method for biodegradable

coating of drug eluting stents: Insight to the drug release mechanisms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. . ISSN 09280987. 37:3–4 (2009) 217–222. doi: 10.1016/j.ejps.2009.02.009.

KOLHATKAR, Vidula - Considerations on In Vitro Drug Release Testing for Long Acting Drug Products for Quality Control • In vitro release test (IVRT). Em **In Regulatory Education for Industry: 2019 Complex Generic Drug Product Development Workshop**. Maryland, College Park

LI, Zhuoxuan; MU, Huiling; LARSEN, Susan Weng; JENSEN, Henrik; OSTERGAARD, Jesper- An in vitro gel-based system for characterizing and predicting the long-term performance of PLGA in situ forming implants. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 609 (2021) 121183. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121183.

LIU, Zhen; LI, Li; ZHANG, Shawn; LOMELO, Josh; ZHU, Aiden; CHEN, Jacie; BARRETT, Stephanie; KOYNOV, Athanas; FORSTER, Seth; WUELFING, Peter; XU, Wei- Correlative Image-Based Release Prediction and 3D Microstructure Characterization for a Long Acting Parenteral Implant. **Pharmaceutical Research**. . ISSN 0724-8741. 38:11 (2021) 1915–1929. doi: 10.1007/s11095-021-03145-2.

MUTHU, Madaswamy S.; RAWAT, Manoj K.; MISHRA, Amit; SINGH, Sanjay- PLGA nanoparticle formulations of risperidone: preparation and neuropharmacological evaluation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**. . ISSN 15499634. 5:3 (2009) 323–333. doi: 10.1016/j.nano.2008.12.003.

OTTE, Andrew; DAMEN, Frederick; GOERGEN, Craig; PARK, Kinam- Coupling the in vivo performance to the in vitro characterization of PLGA microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 604:November 2020 (2021) 120738. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120738.

RAWAT, Archana; STIPPLER, Erika; SHAH, Vinod P.; BURGESS, Diane J.- Validation of USP apparatus 4 method for microsphere in vitro release testing using Risperdal® Consta®. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 420:2 (2011) 198–205. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.08.035.

RAWAT, Archana; BHARDWAJ, Upkar; BURGESS, Diane J. - Comparison of in vitro–in vivo release of Risperdal® Consta® microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 434:1–2 (2012) 115–121. doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.05.006.

SHEN, Jie; LEE, Kyulim; CHOI, Stephanie; QU, Wen; WANG, Yan; BURGESS, Diane J.- A reproducible accelerated in vitro release testing method for PLGA microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 498:1–2 (2016) 274–282. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.12.031.

SHEN, Jie; BURGESS, Diane J. - Accelerated in vitro release testing of implantable PLGA microsphere/PVA hydrogel composite coatings. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 422:1–2 (2012) 341–348. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.10.020.

TIPNIS, Namita P.; SHEN, Jie; JACKSON, Derek; LEBLANC, Daniel; BURGESS, Diane J.- Flow-through cell-based in vitro release method for triamcinolone acetonide poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 579 (2020) 119130. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119130.

TOMIC, I.; VIDIS-MILLWARD, A.; MUELLER-ZSIGMONDY, M.; CARDOT, J-M.- Setting accelerated dissolution test for PLGA microspheres containing peptide, investigation of critical parameters affecting drug release rate and mechanism. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 505:1–2 (2016) 42–51. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.03.048.

WANG, Tengting; XUE, Peng; WANG, Aiping; YIN, Miaomiao; HAN, Junping; TANG, Shengnan; LIANG, Rongcai- Pore change during degradation of octreotide acetate-loaded PLGA microspheres: The effect of polymer blends. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. . ISSN 09280987. 138 (2019) 104990. doi: 10.1016/j.ejps.2019.104990.

WISCHKE, Christian; SCHWENDEMAN, Steven P. - Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**. . ISSN 03785173. 364:2 (2008) 298–327. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.04.042.

XIE, Xiangyang; LI, Zhiping; ZHANG, Ling; CHI, Qiang; YANG, Yanfang; ZHANG, Hui; YANG, Yang; MEI, Xingguo- A novel accelerated in vitro release method to evaluate the release of thymopentin from PLGA microspheres. **Pharmaceutical Development and Technology**. . ISSN 1083-7450. 20:5 (2015) 633–640. doi: 10.3109/10837450.2014.892131.

YE, Mingzhu; DUAN, Hongliang; YAO, Lixia; FANG, Yicheng; ZHANG, Xiaoyu; DONG, Ling; YANG, Feifei; YANG, Xinggang; PAN, Weisan- A method of elevated temperatures coupled with magnetic stirring to predict real time release from long acting progesterone PLGA microspheres. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**. . ISSN 18180876. 14:2 (2019) 222–232. doi: 10.1016/j.ajps.2018.05.010.

ZOLNIK, B. S.; RATON, J. L.; BURGESS, D. J. - Application of USP Apparatus 4 and In Situ Fiber Optic Analysis to Microsphere Release Testing. **Dissolution Technologies**. . ISSN 1521298X. 12:2 (2005) 11–14. doi: 10.14227/DT120205P11.

ZOLNIK, Banu S.; LEARY, Pauline E.; BURGESS, Diane J. - Elevated temperature accelerated release testing of PLGA microspheres. **Journal of Controlled Release**. . ISSN 01683659. 112:3 (2006) 293–300. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.02.015.