

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Farmácia

**Avaliação da aplicação da química
verde na determinação de insumos
farmacêuticos por cromatografia
líquida**

Nome da aluna: Bárbara Sena Otto

Matricula: 12/0062763

Nome do Orientador: Prof. Dr. Carlos Martín Infante Córdova

Novembro/2019

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Farmácia

**Avaliação da aplicação da química
verde na determinação de insumos
farmacêuticos por cromatografia
líquida**

Nome da aluna: Bárbara Sena Otto

Matricula: 12/0062763

Nome do Orientador: Prof. Dr. Carlos Martín Infante Córdova

“Apresentado ao departamento de graduação em Farmácia da
Universidade de Brasília, como requisito parcial para aprovação na
disciplina de Trabalho de conclusão de curso”.

Agradecimentos

A Deus por manter-me de pé.

A minha mãe, Sandra Sena, por tudo que faz por mim.

Ao meu pai, Olívio Ulisses Otto, por toda assistência e tempo.

A meu marido e companheiro, Pablo dos Santos da Silva, por estar sempre ao meu lado, cuidando de mim e da nossa filha.

A minha filha, Helena Sena da Silva, por existir e ser meu motivo para continuar.

Ao professor Doutor Carlos Martin Infante Córdova pela orientação, tempo, disposição e paciência.

SIGLAS E TERMOS

4CP: 4-clorofenol

2NP: 2-nitrofenol

2,4 DCP: 2,4-diclorofenóis

ACN: acetonitrila

AZL: Azilsartan Medoxomil

BUP: cloridrato de bupropiona

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CLT: Clortalidona

CNPq: *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*

Drug (do inglês): droga

EBS: Ebastine

EPA: agência ambiental norte-americana

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FEN: fenoverina

GAC (do inglês: *Green analytical chemistry*): Métodos analíticos limpos, métodos analíticos sustentáveis ou “verdes”

Green chemistry (do inglês): química verde

LID: lidocaína

liquid Chromatography (do inglês): cromatografia líquida

MeOH: metanol

NTX: cloridrato de naltrexona

OMB: Ombitasvir

PAR: paritaprevir

PHE: Cloridrato de fenilefrina

PRO: propranolol

PSE: pseudoefedrina

RIT: ritonavir

RP-HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa

UV: Ultra Violeta

RESUMO

Neste trabalho de conclusão de curso é apresentada uma revisão bibliográfica da aplicação dos princípios da química verde na cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de insumos farmacêuticos, o chamado desenvolvimento de métodos analíticos limpos. Atualmente existe uma grande preocupação mundial com o meio ambiente e formas de conviver sem prejudicar o entorno, fazendo um desenvolvimento sustentável. Esta preocupação deve ser considerada também na química analítica e áreas afins, como as ciências farmacêuticas, mas nos dias de hoje para o desenvolvimento e controle de qualidade de fármacos é empregada usualmente a cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (RP-HPLC), sendo que grandes quantidades de substâncias tóxicas como acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH), são utilizadas, gerando enormes quantidades de resíduos. Em base a dados obtidos de periódicos científicos, foi possível observar um número modesto de trabalhos, por volta de 107 artigos, continham os termos química verde, cromatografia líquida e medicamentos, simultaneamente, nestes trabalhos o tipo de solvente mais utilizado foi metanol, e o detector mais empregado o espectrofotômetro de absorção molecular na região UV. O tipo de fase estacionária mais comum foi a C18. Diversos princípios da química verde foram utilizados, sendo o mais empregado o quinto (Solventes e auxiliares mais seguros). Em base a estes resultados, é possível inferir que pouco está sendo feito na área para tornar os métodos cromatográficos mais “verdes”, e a preocupação com o meio ambiente na prática não resulta prioritária.

Palavras-chave: “*Green chemistry*”, Cromatografia líquida, fármacos, medicamentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REFERENCIA TEÓRICO	9
2.1. Química verde (<i>Green Chemistry</i>).....	9
2.2. Cromatografia líquida	11
2.3. Fármacos e medicamentos.....	15
2.4. Revisão bibliográfica.....	17
3. OBJETIVO	18
3.1. Objetivo Geral	18
3.2. Objetivos Específicos	18
4. METODOLOGIA	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÕES	36
7. PERSPETIVAS FUTURAS	38
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A determinação de insumos farmacêuticos (princípios ativos, fármacos), em medicamentos, fluidos biológicos ou outros tipos de matrizes, é uma etapa importante, muitas vezes imprescindível no desenvolvimento de uma pesquisa científica e no controle de qualidade dos medicamentos. Um grande problema na atualidade é o uso de substâncias tóxicas no desenvolvimento e aplicação dos métodos analíticos, exemplos são acetonitrila (ACN) e o metanol (MeOH), extremamente tóxicos, mais usados rotineiramente como solventes em cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (RP-HPLC). Em concordância com a química verde [1] (do inglês *Green chemistry*) o desenvolvimento de métodos analíticos limpos [2] é exigência indispensável no desenvolvimento de novos métodos analíticos, e como consequência deve ser um ponto importante de avaliação na aplicação de um método analítico. Os métodos analíticos limpos (métodos analíticos verdes ou sustentáveis) envolvem diversas estratégias das quais podem ser mencionadas: a diminuição no consumo de amostra, reagentes e solventes, substituição de reagentes e/ou solventes por outros menos tóxicos (assim buscando gerar menos resíduos), preparação sustentável de amostras e/ou adequado tratamento dos resíduos gerados. O presente projeto de pesquisa visa realizar uma revisão bibliográfica de diversos métodos analíticos limpos, rápidos e de baixo custo para a determinação de fármacos. Esse projeto tem relevância para diversas áreas como farmácia, química, saúde, ambiental, visto que a aplicação de alguma destas estratégias reduziria o impacto ambiental gerado pela aplicação dos métodos analíticos, e contribuiria na melhoria do cuidado da saúde dos analistas e pesquisadores envolvidos. Adicionalmente, deve-se lembrar que buscar formas sustentáveis de coexistir com o meio ambiente faz parte das necessidades de sobrevivência num mundo com recursos cada vez mais limitados.

2. REFERENCIA TEÓRICO

2.1. Química verde (*Green Chemistry*)

A Química verde, também chamada química limpa, química ambientalmente benigna ou química auto-sustentável [3], pode ser definida como o desenho, desenvolvimento e implementação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso ou a geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente [4, 5]. No início da década de 90 a agência ambiental norte-americana (EPA) [6] lançou o programa “Rotas Sintéticas Alternativas para Prevenção de Poluição” [7], uma linha de financiamento para projetos de pesquisa que incorporaram os princípios da química verde. No final da década de 90, este conceito foi também expandido para a Química Analítica [2], um chamado para a reflexão, dado que é usual encontrar na literatura métodos analíticos, incluindo métodos de referência [8], que utilizam reagentes tóxicos e geram resíduos perigosos, em alguns casos mais tóxicos que os analitos em estudo. Métodos analíticos limpos (GAC do inglês *Green analytical chemistry*) [9] podem ser obtidos, em geral, reduzindo de forma significativa o consumo de amostra, reagentes e solventes, minimizando a geração de resíduos, substituindo reagentes e/ou solvente por outros menos tóxicos, e/ou tratando os resíduos gerados [4]. O desenvolvimento de métodos analíticos limpos que eliminem ou reduzam drasticamente a geração de resíduos tóxicos é considerado prioritário no desenvolvimento de um novo método analítico [9].

A química verde apresenta 12 princípios fundamentais [5]:

- **Primeiro:** Prevenção. Evitar a produção do resíduo.
- **Segundo:** Economia de Átomos. Deve-se procurar desenhar metodologias sintéticas que possam maximizar a incorporação de todos os materiais de partida no produto final.
- **Terceiro:** Síntese de Produtos Menos Perigosos. Sempre que praticável, a síntese

de um produto químico deve utilizar e gerar substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao ambiente.

- **Quarto:** Desenho de Produtos Seguros. Os produtos químicos devem ser desenhados de tal modo que realizem a função desejada e ao mesmo tempo não sejam tóxicos.
- **Quinto:** Solventes e Auxiliares mais Seguros. O uso de substâncias auxiliares (solventes, agentes de separação, secantes, etc.) precisa, sempre que possível, tornar-se desnecessário e, quando utilizadas, estas substâncias devem ser inócuas.
- **Sexto:** Busca pela Eficiência de Energia. A utilização de energia pelos processos químicos precisa ser reconhecida pelos seus impactos ambientais e econômicos e deve ser minimizada. Se possível, os processos químicos devem ser conduzidos à temperatura e pressão ambientes.
- **Sétimo:** Uso de Fontes Renováveis de Matéria-Prima. Sempre que técnica e economicamente viável, a utilização de matérias-primas renováveis deve ser escolhida em detrimento de fontes não renováveis.
- **Oitavo:** Evitar a Formação de Derivados. A derivatização desnecessária (uso de grupos bloqueadores, proteção/desproteção, modificação temporária por processos físicos e químicos) deve ser minimizada ou, se possível, evitada, porque estas etapas requerem reagentes adicionais e podem gerar resíduos.
- **Nono:** Catálise. Reagentes catalíticos (tão seletivos quanto possível) são melhores que reagentes estequiométricos.
- **Décimo:** Desenho para a Degradação. Os produtos químicos precisam ser desenhados de tal modo que, ao final de sua função, se fragmentem em produtos de degradação inócuos e não persistam no ambiente.
- **Décimo primeiro:** Análise em Tempo Real para a Prevenção da Poluição. Será

necessário o desenvolvimento futuro de metodologias analíticas que viabilizem um monitoramento e controle dentro do processo, em tempo real, antes da formação de substâncias nocivas.

- **Décimo segundo:** Química Intrinsecamente Segura para a Prevenção de Acidentes. As substâncias, bem como a maneira pela qual uma substância é utilizada em um processo químico, devem ser escolhidas a fim de minimizar o potencial para acidentes químicos, incluindo vazamentos, explosões e incêndios. [5]

2.2. Cromatografia líquida

A cromatografia pode ser definida como um método físico de separação, no qual os componentes da amostra a serem separados distribuem-se entre duas fases, uma fase estacionária (fixa) e uma fase móvel que flui em direção definida [10].

A história da cromatografia [11] iniciou com Mikhail Semenovitch Twett (1903) que passou um extrato de folhas por uma coluna recheada de carbonato de cálcio, alumina e sucrose, e conseguiu separar constituintes coloridos, clorofilas a e b, ao ir adicionando éter do petróleo e metanol. Neste caso a fase estacionária foi um sólido e a fase móvel um líquido (Cromatografia Líquido-Sólido) [12]. Os componentes se distribuem entre as duas fases por uma combinação de processos de adsorção/dessorção. [10]

Os ingleses Archer John Porter Martin e Richard Laurence Milington Synge em 1941 conseguem a separação do ácido monoamino monocarboxílico usando coluna de sílica contendo adsorvidos alaranjados de metila e clorofórmio, esta nova forma de cromatografia é chamada de cromatografia de partição líquido-líquido [13]. Os mesmos autores em 1950 demonstraram a cromatografia de partição gás-líquido. Em 1952 estes autores receberam o Prêmio Nobel de Química pela invenção da cromatografia de partição.

Os americanos S. More e W.H. Stein, ganharam o Prêmio Nobel em 1972 por elucidar importantes princípios relacionados com a atividade biológica da enzima ribonuclease, como método analítico eles usaram cromatografia em coluna recheada de amido extraído de batatas [14].

A cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (RP-HPLC) é a técnica analítica mais utilizada na atualidade na determinação de fármacos, tanto no desenvolvimento e fabricação de medicamentos, como o controle de qualidade de medicamentos e formulações farmacêuticas [15], bem como a análise de drogas em amostras biológicas [16], e usualmente faz parte dos métodos oficiais de análise de insumos farmacêuticos [8].

Um sistema de cromatografia líquida típico é apresentado na figura 1.

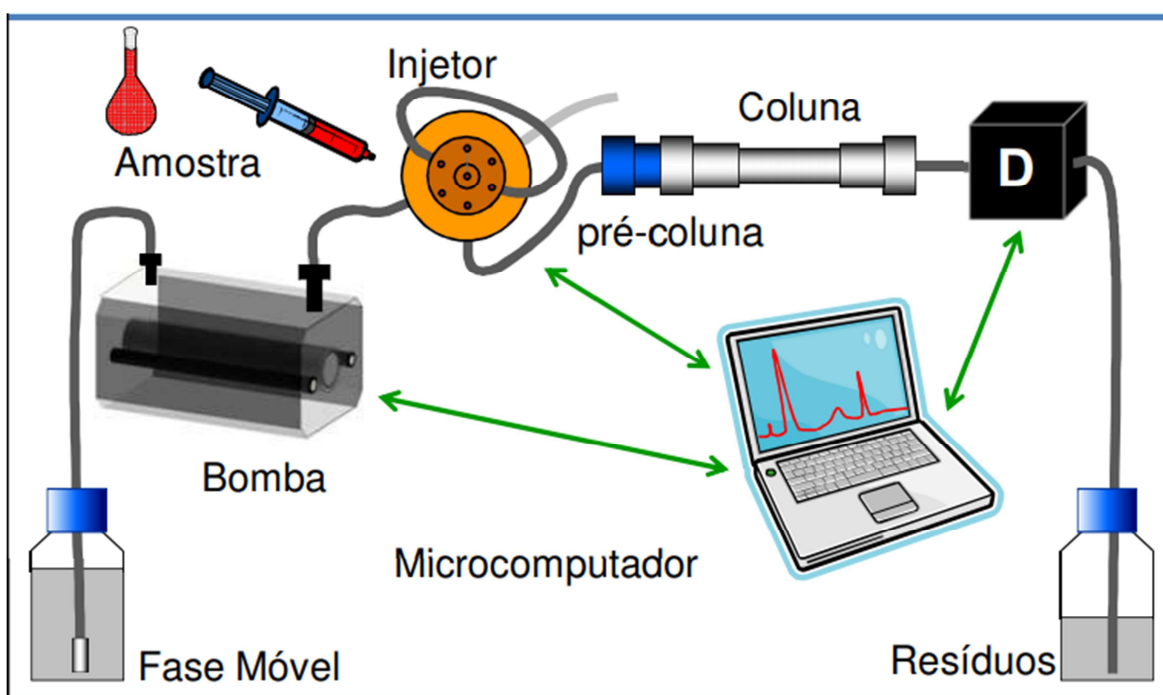


Figura 1. Sistema cromatográfico típico. Adaptado pelos autores

No entanto, os métodos de RP-HPLC geralmente usam grandes quantidades de solventes orgânicos e geram grandes quantidades de resíduos a serem descartados, levando a algumas questões em termos de impacto e segurança do operador.

A química analítica verde prevê uma redução ou remoção total de produtos químicos nocivos usados no processo analítico, redução no consumo de energia, e minimização da produção de resíduos, sem afetar os critérios para o ótimo desempenho de um método [17]. Essa estratégia para reduzir o impacto de solventes perigosos é substituir os solventes orgânicos clássicos usados (isto é, acetonitrila e metanol) por solventes mais verdes. Até agora, o etanol tem sido o solvente orgânico alternativo mais utilizado [18] e também têm sido incorporadas colunas mais eficientes, como a coluna monolítica [19].

Algumas definições são importantes na química analítica e especialmente no desenvolvimento de métodos:

- **Analito/fármaco:** uma substância ou componente químico, em uma amostra, que é alvo de análise em um ensaio.
- **Método, técnica:** As técnicas cromatográficas são frequentemente classificadas especificando o estado físico das duas fases usadas.
- **Deteção:** o detector é um dispositivo que mede a mudança na composição do eluente medindo medidas físicas ou propriedades químicas.
- **Fase móvel:** Um fluido que penetra através ou ao longo do leito estacionário, em uma direção definida. Pode ser um líquido (Cromatografia Líquida), ou um gás (Cromatografia a Gás), ou um fluido supercrítico (Cromatografia de fluido supercrítico). Na cromatografia de eluição, a expressão eluente também é usada para a fase móvel.
- **Coluna:** O tubo e a fase estacionária contida no interior, através da qual a fase móvel passa.
- **Matriz:** Substância na qual está o composto a ser analisado. Exemplo: urina, leite materno.
- **Extração:** um processo de separação que consiste na separação de uma substância de uma matriz.

- **Recuperação:** O ensaio de recuperação é realizado mediante adição do analito em diferentes concentrações nas amostras branco. As análises são realizadas conforme procedimento estabelecido e as respectivas concentrações experimentais são calculadas pela curva analítica. É importante reconhecer que o analito presente na amostra pode ter um comportamento diferente (no preparo de amostra que envolve etapas de extração, separação, purificação e concentração) do que quando o mesmo é adicionado sobre a amostra branco, principalmente quando se trata de medicamentos. Esse fato precisa ser levado em consideração na interpretação do resultado obtido no ensaio de recuperação. Ainda, deve-se entender que o valor de recuperação depende do nível de fortificação, no entanto, como a curva analítica também é obtida mediante fortificação de amostras branco, o valor de recuperação acaba refletindo a precisão do método nos diferentes níveis de concentração.
- **Exatidão:** A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro, usando um procedimento experimental para uma mesma amostra por repetidas vezes.
- **Precisão:** corresponde ao grau de concordância de resultados de testes independentes obtidos sob condições estabelecidas e é expressa pela estimativa do desvio padrão(s) ou estimativa do desvio padrão relativo (RSD). Para a validação de métodos em um único laboratório (*single-laboratory validation*), duas etapas são relevantes para esse parâmetro: precisão intra-ensaio: sob condições de repetibilidade, descreve as variações observadas durante uma única corrida analítica (desvio padrão σ_{intra}) e, precisão inter-ensaios: descreve o grau de variações observadas em diferentes corridas analíticas (desvio padrão σ_{inter}). Ambas as precisões podem ser estimadas mediante análise, em duplicata, da amostra teste, em um número sucessivo de determinações. As componentes individuais das variâncias podem ser calculadas pela análise de variâncias unilateral (ANOVA). De forma

alternativa, a precisão total pode ser estimada diretamente através da análise da amostra em determinações sucessivas, mediante avaliação da estimativa do desvio padrão.

- **Limite de quantificação (LOQ):** é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas.
- **Limite de detecção (LOD):** menor quantidade ou concentração de analito na amostra de teste que pode ser distinguida com segurança de zero.
- **Faixa-curva de calibração:** Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentração do analito, na qual o método pode ser aplicado. A curva de calibração representa a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito [20].

2.3. Fármacos e medicamentos

Fármaco é uma substância química de estrutura conhecida, que não seja um nutriente ou um ingrediente essencial da dieta, o qual, quando administrado a um organismo vivo, produz um efeito biológico. Fármacos podem ser substâncias químicas sintéticas, substâncias químicas obtidas a partir de plantas ou animais ou produtos de engenharia genética [22].

Medicamento é uma preparação química que, em geral – mas não necessariamente –, contém um ou mais fármacos, administrado com a intenção de produzir determinado efeito terapêutico, adicionalmente contém outras substâncias (excipientes, conservantes, solventes etc.) ao lado do fármaco ativo, a fim de tornar seu uso mais conveniente [22].

A Lei 5.991 de 1973 dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos e da outras providências. No artigo 4 desta lei são adotados os seguintes conceitos:

- Droga: Substância ou matéria prima que tenha a finalidade medicamentosa ou sanitária.
- Medicamento: produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico [21].

Para que a substância seja considerada um fármaco, deve ser administrada como tal, em vez de ser liberada por mecanismos fisiológicos. Substâncias, como insulina ou tiroxina, são hormônios endógenos, mas são também fármacos quando intencionalmente administradas. Muitos fármacos não são usados em medicamentos, mas se revelam úteis ferramentas de pesquisa. No jargão atual, a palavra droga é frequentemente associada a substâncias que causam dependência, narcóticas ou que alteram a consciência, infeliz conotação negativa que induz opinião preconceituosa contra a terapia química [22].

Insumos Farmacêuticos podem ser ativos ou não ativos. O Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) é uma substância química ativa, fármaco, droga ou matéria-prima que tenha propriedades farmacológicas com finalidade medicamentosa, utilizada para diagnóstico, alívio ou tratamento, em benefício daquele que o recebe. É o princípio ativo do medicamento. Os insumos farmacêuticos não ativos, chamados de excipientes [8].

2.4. Revisão bibliográfica

Uma Revisão da literatura, Revisão bibliográfica, Estado da arte, Referencial Teórico ou Embasamento Teórico, é uma compilação de informação que implica a leitura e estudo das fontes importantes sobre um tema [23]. A revisão da literatura é chamada por alguns autores de "Cinderela" da pesquisa, por não apresentar em muitos casos uma observação robusta sobre a pesquisa fundamental, ou por ser o prelúdio monótono, mas obrigatório, de um relatório ou proposta de pesquisa [24]. No entanto uma boa revisão bibliográfica pode permitir extrair novas idéias de trabalhos anteriores, sintetizando e resumindo informação, orientando o caminho a seguir em uma determinada pesquisa, sendo assim o primeiro passo da pesquisa [25]. Uma pesquisa bibliográfica pode ser de diversos tipos [26], mas para uma revisão bibliográfica é importante definir a forma em que será realizada, uma pesquisa exploratória descritiva, de cunho prospectivo, realizada segundo a abordagem quantitativa, oferece ao pesquisador oportunidades para examinar hipóteses, abordando mecanismos de investigação baseadas em experimentos, levantamentos e coletas de dados, bem como instrumentos que trazem dados estatísticos [27]. O método quantitativo - descritivo tem como função primordial, a exata descrição de certas características quantitativas de população como um todo [28].

Um parâmetro que está sendo considerado para avaliar a produtividade e impacto dos cientistas é o índice H [29], o valor deste parâmetro é calculado pelo número de citações que cada artigo recebe, assim se o índice H de um determinado autor for, por exemplo, 10, isto significa que aquele autor tem pelo menos 10 artigos com 10 citações cada artigo. Este parâmetro tem sido utilizado para avaliar também publicações científicas [30]. Embora diversas vantagens, e tem algumas limitações, como a dificuldade para avaliar o impacto de pesquisadores em início da carreira.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

O presente projeto de pesquisa tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica da aplicação da química verde no desenvolvimento de métodos analíticos empregando cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de insumos farmacêuticos.

3.2. Objetivos Específicos

Realizar a revisão bibliográfica prioritariamente em trabalhos que empreguem química verde, cromatografia a líquido, com diversas fases estacionárias, e considerando a grande quantidade de aplicações, procurando estabelecer um panorama geral.

Estabelecer quais características, redução no consumo de amostra, reagentes e solventes, diminuindo assim a geração de resíduos, substituição de reagentes e/ou solventes tóxicos ou tratamento dos resíduos ou outros, é a principalmente utilizada.

Oferecer uma reflexão crítica do uso dos métodos analíticos limpos e a possibilidade de aplicação real.

4. Metodologia

A amostra foi não probabilística (não foi feita amostragem), por conveniência (escolhidos os artigos), tipo de abordagem útil para a pesquisa de estudos de cunho experimental [27], inicialmente foi restrita nos últimos cinco anos, mas em alguns casos foi ampliada de acordo com as informações encontradas.

Para a coleta de dados foram utilizadas diversas bases de dados, mas especial interesse foi oferecido o *web of science*[31], disponível no portal CAPES e disponibilizada pela UnB, um *printscreen* da tela inicial do *web of Science* é apresentado na figura 2.

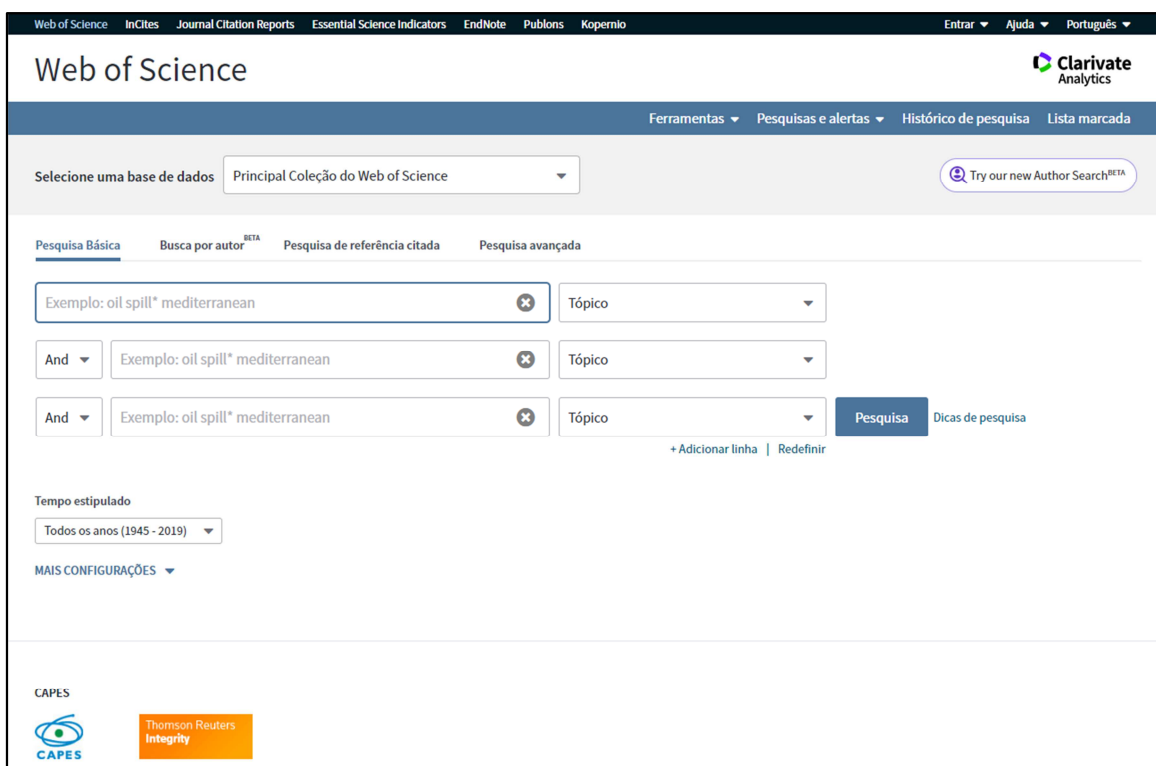


Figura 2. Captura da tela inicial do sitio da base de dados *webofscience*. Adaptado pelos autores

A escolha desta base de dados obedece ao fato que são oferecidos diversos recursos úteis para a pesquisa, em função a vários parâmetros geralmente utilizados e aceitos, organizando os dados com sistemas disponíveis no próprio sitio. A funcionalidade do site permite a visualização dos dados de forma simples e rápida, embora a obtenção dos dados brutos não seja tão simples.

Foi elaborado pelos autores, um instrumento de pesquisa (planilha eletrônica) contendo informações analíticas (Matriz da amostra, Analito e Técnica de determinação, Referência, Detecção, Sistemas, fase móvel, Coluna, Extração, Recuperação, Exatidão, Precisão, Faixa-curva de calibração, Análise de amostras reais) e característica analíticas como: limite de detecção e quantificação, faixa de resposta linear, repetibilidade, consumo de reagentes, geração de resíduos entre outros (Figura 2).

	Análito	Método e técnicas	Detecção	Sistemas, fase móvel	Coluna	Matriz	Extração	Recuperação	Exatidão	Precisão	LOQ	LOD	Faixa-curva de calibração	Análise de amostras reais?	Comentários	12 Princípios da química verde	Referência
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	

Figura 2. planilha de excel mostrando os parâmetros básicos pesquisados em cada artigo . Adaptado pelos autores

Cada artigo em análise foi estudado tomado como base este instrumento.

A UnB disponibiliza o acesso a diversas bases de dados e ao texto completo de artigos, da mesma forma existem as iniciativas de acesso a informação pelo portal da capes, possibilitando o acesso a base de dados e texto completo de artigos, por tanto a procura de referências bibliográficas esteve sempre assegurada.

Como critérios de inclusão foram considerados, que o artigo esteja em concordância com os termos pesquisado, e que contenha todas as informações necessárias para uma adequada caracterização. Como critérios de exclusão foram considerados a insuficiência de dados, e a qualidade geral do artigo. Não foi necessária a submissão do projeto em um Comitê de Ética, dado que no foi realizado trabalho experimental envolvendo seres vivos.

5. Resultados e Discussão

Inicialmente foram selecionados os termos: *Green Chemistry*, *liquid Chromatography* e *Drug* para a pesquisa de artigos, sendo encontrados para os termos isolados nos últimos cinco anos, 10600, 133606, 519320, artigos respectivamente. Uma figura com as tendências, considerando um intervalo de tempo maior é apresentada na figura 3 para comparação.

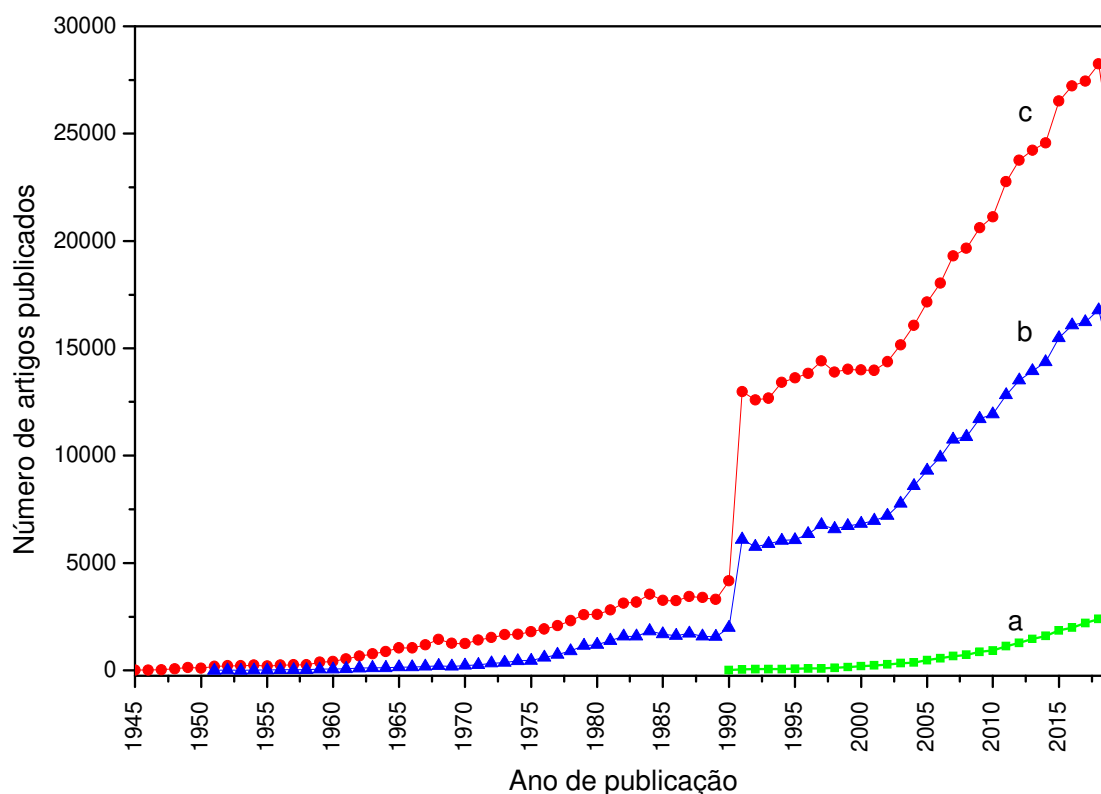


Figura 3. Evolução das publicações para: *Green Chemistry* (a), *liquid Chromatography* (b), e *Drug* (c).

Utilizando o operador booleano (*and*) para procurar artigos considerando os três termos simultaneamente foram obtidos 107 artigos, isto indica claramente que dos trabalhos em que a cromatografia é utilizada para determinação de fármacos, somente por volta de 0,07% consideram os princípios da química verde, o que representa um dado importante para a comunidade científica que evidencia que pouco está sendo feito nesta

interfase das áreas de conhecimento. Na figura 4 é apresentada a evolução das publicações em função do tempo.

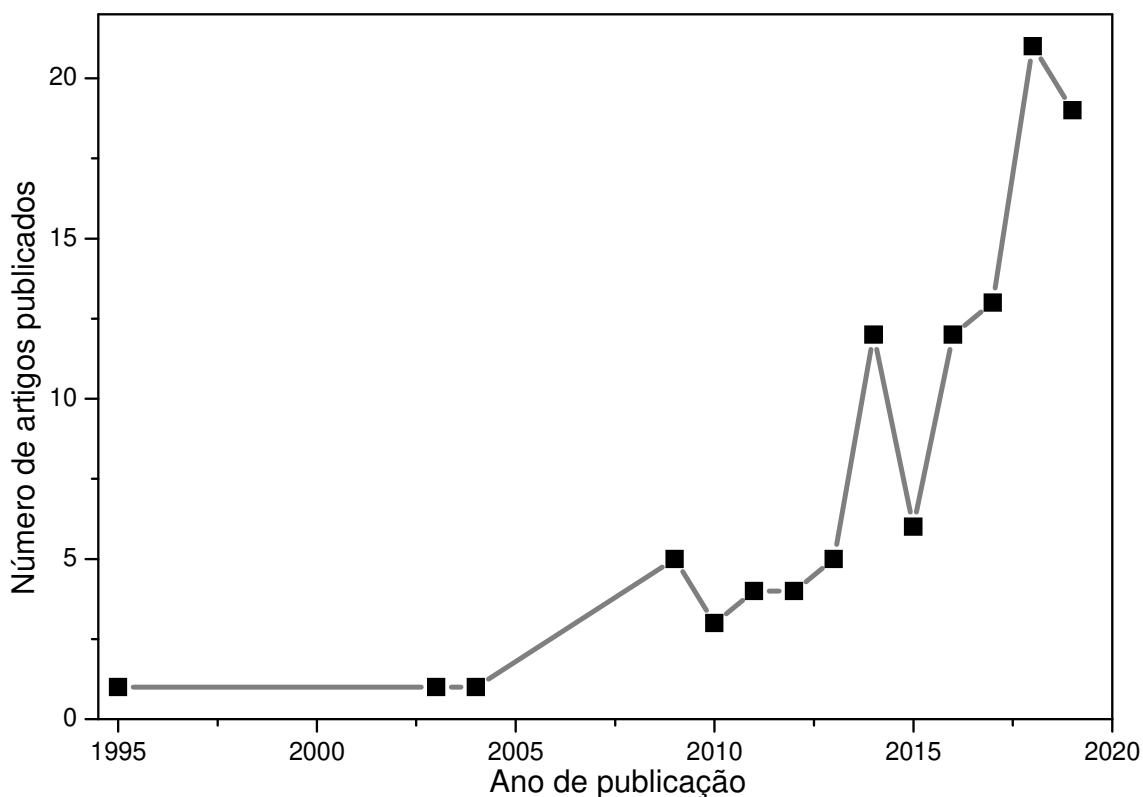


Figura 4. Evolução das publicações para os termos: *Green Chemistry*, *liquid Chromatography*, e *Drug* simultaneamente (usando o operador *and*).

Este primeiro resultado já é extremamente interessante, porque indica que das dezenas de milhares de artigos publicados para os termos isolados, a fração que procura a interfase entre estes temas é realmente muito pequena, embora seja uma tendência crescente ao longo dos anos.

Adicionalmente foram utilizados os termos: *Green Chemistry*; *HPLC*; *drug*, utilizando o operador booleano (*and*) para procurar artigos considerando os três termos simultaneamente, obtendo-se 54 artigos, verificando-se que 28 são os mesmos do tópico anterior. Empregando os termos: *Green Chemistry*; *chromatography*; *drug*, os resultados foram aproximadamente os mesmos.

Verificando o tipo de documento 33 são artigos de pesquisa e 33 são artigos de revisão, os chamados *reviews*, este resultado novamente é muito importante já que esclarece que existe muito interesse na interfase de *Green Chemistry*, *liquid chromatography* e *drug*, mas aparentemente a prospecção não está sendo levada para a prática e pouco está sendo feito nas análises de rotina, ficando os trabalhos restritos para a pesquisa mais exploratória.

Dos 107 artigos encontrados foram selecionados 33 para uma avaliação mais detalhada, por representar melhor os três termos de busca. Foram excluídos da pesquisa os artigos que embora apresentassem os três termos selecionados inicialmente, mas não tivessem relação com fármacos, HPLC e química verde de forma mais focada na determinação analítica. Logo da coleta dos artigos e do preenchimento do instrumento pesquisa com dados indicados, foi elaborada a tabela 1, como um resumo com referências selecionadas.

Na determinação de Ebastine (EBS) e Cloridrato de fenilefrina (PHE) [32], é usado o HPTLC que substitui HPLC, uma opção mais verde, que apresenta melhor resolução, menor tempo de análise considerando o tamanho reduzido de partículas de sílica. A fase móvel foi: acetato de etilo: metanol: acético ácido (6,8: 2:1), foi usada uma fase normal pré-revestidas com sílica gel 60 F254, apresenta precisão de $(101,24 \pm 1,32)\%$ e $(100,85 \pm 1,03)\%$, para EBS e PHE respectivamente, com a extração feita com metanol. O Limite de Quantificação (LOQ) para EBS foi $0.50 (\mu\text{g}/\text{spot})$ e para PHE $0.79 (\mu\text{g}/\text{spot})$, limite de Detecção (LOD) para EBS foi $0.17(\mu\text{g}/\text{spot})$ e para PHE $0.26 (\mu\text{g}/\text{spot})$, a faixa de calibração para EBS de $1\mu\text{L}$ até $11 \mu\text{L}$, e para PHE de 2 até $12 \mu\text{L}$, é utilizado o princípio 4 da química verde, desenho de produtos seguros.

Tabela 1: Referências selecionadas

Analito	Métodos/técnicas	Princípios da química verde	Ref.
Estab DC (Ebastine (EBS) e Cloridrato de fenilefrina (PHE))	HPTLC	4– Desenho de produtos seguros	32
Azilsartan Medoxomil (AZL) e Clortalidona (CLT)	UPLC	4 – Desenho de produtos seguros; 10– Desenho de degradação	33
Ifosfamida	HPTLC	4– Desenho de produtos seguros	34
licorina, crinina e crinamina	HPTLC	5– Solventes e auxiliares mais seguros	35
benzodiazepínicos (BDZ) (clordiazepóxido, flurazepam, bromazepam, oxazepam, lorazepam, clobazam, clonazepam e flunitrazepam)	HPLC micelar	2- Economia de Átomos, 5- Solventes e auxiliares mais seguros	36
antidepressivos (bupropiona, citalopram, amitriptilina e trazodona)	HPLC-DAD	2- Economia de átomos	37
benzofenona	HPLC	2- Economia de Átomos, 5- Solventes e auxiliares mais seguros	38
pseudoefedrina (PSE), lidocaína (LID) e propranolol (PRO)	HPLC-UV	5- Solventes e Auxiliares mais Seguros.	39
cloridrato de naltrexona (NTX) e cloridrato de bupropiona (BUP)	HPLC micelar	2- Economia de Átomos	40
16 APIs	UHPLC	4-Desenho de produtos seguros, 5- Solventes e auxiliares seguros, Fontes Renováveis de Matéria-Prima	41
4-clorofenol (4CP), 2-nitrofenol (2NP) e 2,4-diclorofenóis (2,4 DCP)	μHPLC-UV	4-Desenho de produtos seguros, 5- Solventes e auxiliares mais seguros	42
Metoprolol, propranolol e carvedilol	US-D-ISPE-HPLC-UV	4-Desenho de produtos seguros, 5- Solventes e auxiliares mais seguros	43
cloridrato de metformina	LCmicelar	4-Desenho de produtos seguros, 5- Solventes e auxiliares mais seguros	44
fenoverina (FEN)	RP-HPLC	5- Solventes e auxiliares mais seguros	45
sofosbuvir	RP-HPLC	3– Síntese de produtos menos perigosos	46
quinina	HPLC	10 – Desenho de degradação	47
Ombitasvir (OMB),ritonavir (RIT) e paritaprevir (PAR)	HPLC e HPTLC	5- Solventes e auxiliares mais seguros	48

A cromatografia (HPTLC) tem chamado a atenção dos cientistas como um poderoso candidato mais ecológico para substituir o HPLC. As placas HPTLC oferecem melhor resolução e menor tempo de análise através do tamanho reduzido das partículas de sílica. A fase estacionária das HPTLC de sílica é caracterizada principalmente pela capacidade de ser renovada e reinventada sem fim, que é a núcleo do conceito de sustentabilidade. Em consequência, o HPTLC é caracterizado por sua capacidade de análise simultânea de muitas amostras de maneira paralela, resultando em alto rendimento da amostra e menor consumo de solvente e energia por amostra quando comparado com HPLC. Além disso, o uso de HPTLC em vez de HPLC pode economizar recursos ambientais, pois nenhum ou poucos possuem pré-tratamentos de amostras, como extração em fase sólida ou extração líquido-líquido, que são necessários quando comparados com HPLC. Além disso, o HPTLC é adequado para quantificar vários compostos orgânicos e perfil de suas impurezas, pois ele pode lidar perfeitamente com amostras "sujas" sem pré-tratamento, de modo que impurezas não polares podem ser detectadas mesmo se estiverem na frente do eluente. Logo o uso de HPTLC faz parte do princípio 4 da química verde, desenho de produtos seguros. [32]

A determinação Azilsartan Medoxomil (AZL) Clortalidona (CLT) [33], utiliza o equipamento UPLC com detecção LC-MC UPLP, a fase móvel solução de tampão de fosfato e acetronitrila LC-M água acidificada (com ácido fórmico) e acetranitrila (55:45) AZL (70:30) CLT, utiliza a coluna: 50X2,1 mm i.d. acquity UPLC BEH C8 coluna analítica da waters LC-M Phenomenex, kinetex 2,6mm C18 50X4,6 mm, extração:acetronitrila e água (50:50), apresenta precisão: AZL UPLC 0,58; CLT 0,58, LOQ: 27,7624 AZL, CLT 4,5653, LOD: AZL 9,1616, CLT 1,506, faixa de calibração: AZL de 67,2–268,8 µg / mL e CLT:40–160 µg / mL. Princípio: 4 – desenho de produtos seguros (UPLC); 10 – desenho de degradação(degradação estudada).

Na determinação da Ifosfamida [34], o método utilizado: HPTLC, logo os princípios são: 4 – desenho de produtos seguros; 10 – desenho de degradação, pois também mostra a degradação do fármaco e as impurezas encontradas a fase móvel metanol-água, 2: 1, a placa de sílica 60 (20 cm × 10 cm, 0,2 mm), a matriz é uréia.

Na determinação dos fármacos: licorina, crinina e crinamina [35], o equipamento é HPTLC, logo o Princípio é: 4 – desenho de produtos seguros, mas também utiliza os NDESs: Solventes eutéticos profundos naturais e surfactantes não iônicos, que seria o princípio: 5 – Solventes e auxiliares mais seguros, a detecção é UV, a fase móvel: clorofórmio: metanol (8,5: 1,5, v / v), placa de sílica gel 60F₂₅₄, extração: Triton X-100, Triton X-114 e Genapol X-80 / etanol, metanol, a recuperação: Licorina: 100,9%, Crinina: 100,8%, Crinamina: 100,3%, a precisão: Licorina: 1,315, Crinina: 1,005, Crinamina: 1,081, LOQ: Licorina: 0,3167, Crinina: 0,2120 e Crinamina: 0,2506 g / banda, LOD: Licorina 0,1045, Crinina 0,0699 e Crinamina 0,0827 g / banda, faixa de calibração: 6 aplicações de licorina 0,5-3 g / banda e 0,2-1,2 g / banda para crinina e crinamina, São amostras reais.

Na determinação dos benzodiazepínicos (BDZ): (clordiazepóxido, flurazepam, bromazepam, oxazepam, lorazepam, clobazam, clonazepam e flunitrazepam) [36]. A técnica usada é a Microextração líquido-líquido dispersiva com ou sem auxílio de ultrassom (DLLME, UA-DLLME) e microextração com sorvente embalado (MEPS). Princípios: 2- Economia de Átomos, 5- Solventes e auxiliares mais seguros.

Na determinação dos antidepressivos bupropiona (BUP), citalopram (CIT), amitriptilina (AMI) e trazodona (TRA) [37], o método é HPLC-DAD, a detecção: LC-MS / MS, a fase móvel convencional (ultra-água pura com 2,5% de HAc e ACN), a coluna de fase reversa, as matrizes: urina e plasma, recuperação: BUP 67,8 ± 12,4 TRA 80,8 ± 13,6 CIT 88,3 ± 12,1 AMI 85,6 ± 14,4, LOD: 50 ngL⁻¹, Princípio 2 – economia de átomos: microextração adsorptiva por barra (BAE) de nova geração dispositivos que promovem uma

abordagem analítica inovadora e muito melhor para o usuário. Os novos dispositivos BAE foram preparados em laboratório, com dimensões menores.

Na determinação do fármaco benzofenona [38], o método HPLC, a detecção UV, a fase móvel: metanol e 1% v / v de ácido acético, a coluna: Zorbax SB-C18 column (150 mm × 4,6 mm, 5µm, Agilent), a matriz: água ambiental, a extração: DL-mentol e ácido decanóico, a recuperação: 88,8–105,9%, LOQ:0,2 a 0,5 ng / mL, LOD: 0,05 a 0,2 ng / mL, 0,5 a 1000 ng / mL. São amostras reais. Princípios: 2- Economia de Átomos, 5- Solventes e auxiliares mais seguros. Solventes eutéticos usados como microextração.

Na determinação dos fármacos pseudoefedrina (PSE), lidocaína (LID) e propranolol (PRO) [39], o método usado é o HPLC-UV, a detecção UV, a fase móvel: Tampão fosfato 10 mM e acetonitrila, a coluna analítica: ODS-3 MZ (250 mm × 4,6 mm, 5 m), a matriz: leite materno e água residual, recuperação 66% a 84%, LOQ: 1,0 a 10,0 ngmL⁻¹, LOD: 0,3 a 3,3 ng mL⁻¹, faixa de calibração: PSE 10–2000 ngmL⁻¹, LID 2,5–2000 ngmL⁻¹ e PRO 1,0–200 ngmL⁻¹. São amostras reais. Princípio: 5- Solventes e Auxiliares mais Seguros. O gel de poliácridamida como uma nova membrana na extração de eletromembranas (EME) foi usada para a extração de três medicamentos, Em comparação com o EME convencional, neste método nem solvente orgânico nem agentes transportadores foram utilizados para a extração das drogas.

Na determinação dos fármacos cloridrato de naltrexona (NTX) e cloridrato de bupropiona (BUP)[40], o método: HPLC-micelar, a detecção: UV, a fase móvel: mistura de 0,175 M de dodecil sulfato de sódio (SDS), 0,3% de trietanolamina (TEA) e 12% de n-propanol em 0,02 M de o-fosfórico, a coluna: coluna RP-18 LiChrosorb (150 mm 4,6 mm i.d. 5 mm de tamanho de partícula, a matriz: urina, LOQ: 0,30 e 0,93 mg / mL para NTX e BUP, LOD: 0,10 e 0,31 mg / mL NTX e BUP, a faixa de calibração: 0,5 até 15 mg / mL

para NTX e 1,2 até 18 mg / mL para BUP, princípios: 4– desenho de produtos seguros, 2- Economia de Átomos, por utilizar o método HPLC micelar .

Na determinação dos 16 insumos farmacêuticos (APIs) [41]. Princípios: 4-Desenho de produtos seguros (UHPLC - Uma inovadora metodologia Analytical Quality-by-Design (AQbD) foi seguida para desenvolver um método UHPLC robusto para a separação simultânea de 16 insumos farmacêuticos [APIs]), 5- Solventes e auxiliares mais seguros (O etanol foi escolhido como alternativa ao acetonitrila), 7- Uso de Fontes Renováveis de Matéria-Prima(O etanol foi escolhido como alternativa ao acetonitrila, devido às suas propriedades verdes provenientes de sua menor toxicidade e fornecimento de fontes renováveis).Experimentos cromatográficos foram realizados em um Sistema UPLC, As colunas cromatográficas utilizadas neste estudo foram: Xbridge BEH Shield RP18 column 50 mm x 4,6 mm I.D., 2,5 μm , (híbrido, monofuncional C18, grupo polar incorporado, totalmente nivelado). Os 16 insumos farmacêuticos são: pravastatina, atorvastatina, rosuvastatina, fluvastatina, cetoprofeno, diclofenaco, paracetamol, arteméter, melatonina, sinvastatina, doxilamina, ondansetrona, quinina, metopimazina, midazolam, domperidona.

Na determinação dos fármacos: 4-clorofenol (4CP), 2-nitrofenol (2NP) e 2,4-diclorofenóis (2,4 DCP)[42], utiliza o equipamento $\mu\text{HPLC-UV}$, a detecção UV, a fase móvel: acetonitrilo-água (50:50), a coluna: ZORBAX Eclipse XDB-C18 coluna (2,1 \times 100 mm, 3,5 μm), extração: gel de agarose (2 mm \times 2 mm I.D.), recuperação: 85,0–114,1%, LOD: 4 CP 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$; 2 NP 0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$; 2,4 DPC 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$, faixa de calibração: 0,1 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,3–250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,2–500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 4CP, 2NP e 2,4 DCP. São amostras reais. Princípios: 4-Desenho de produtos seguros ($\mu\text{HPLC-UV}$), 5- Solventes e auxiliares mais seguros [microextração eletromediada (EMM)].

Na determinação dos fármacos: Metoprolol, propranolol e carvedilol [43], utiliza o equipamento US-D-ISPE-HPLC-UV, a detecção UV, a fase móvel: misturas de metanol e

0,05 M de solução tampão fosfato, a coluna: ODS III (250 mm 4,6 mm d.i. diâmetro de partícula de 5µm), extração:dodecilbenzenosulfonato de polipirrol e sódio / óxido de zinco (PPy-DBSNa / ZnO) nanocompósito, recuperação: Metoprolol 90%; Propanolol 75%; Carvedilol 85%,LOQ:Metoprolol 5,0 ng mL⁻¹; Propanolol 3,0ng mL⁻¹; Carvedilol 3,0 ng mL⁻¹, LOD: Metoprolol 1,5 ng mL⁻¹; Propanolol 0,8 ng mL⁻¹; Carvedilol 0,8 ng mL⁻¹, faixa de calibração: (5–5000, 2,5–3500 e 2,5–3000 ngmL⁻¹ para metoprolol, propranolol e carvedilol, respectivamente). São amostras reais. Princípios: 4 - Desenho de produtos seguros (US-D-ISPE-HPLC-UV), 5- Solventes e auxiliares mais seguros.

Na determinação do fármaco metformina [44], o método usado é a Cromatografia líquida micelar, logo os Princípios: 4-Desenho de produtos seguros, 5- Solventes e auxiliares mais seguros, fase móvel: dodecilsulfato de sódio 0,1 M, 10% de 1-propanol e trietilamina (0,3%) em 0,02 M de ácido fosfórico, Zorbax SB-Phenyl (250 × 4,6 mm id), as matrizes: plasma humano, água e metanol (50: 50, v / v), precisão: 0, 98, 0,35 e 0,6, LOQ: 0,35 µg / ml, LOD: 0,23 µg / ml, faixa de calibração: 0,5 a 3,0 µg / ml. São amostras reais.

Na determinação do fármaco fenoverina (FEN)[45], o método: RP-HPLC, a Detecção: UV, metanol e tampão acetato de amônio 20 mM, em uma extensão de 81:19%v/v, coluna Spherisorb C18 (150 ± 4,6 mm, 3 µm) 98,31% ±0,365% e 101,55% ± 0,512%, LOQ: 0,1 µg / mL, LOD: 0,3 µg / mL, 0,5 a 160 µg / mL, princípio: 5-Solventes e auxiliares mais seguros.

Na determinação do fármaco sofosbuvir [46], o método: RP-HPLC, a Detecção: LC-MS-MS; UV, metanol: água 70:30 (v / v), coluna Inertsil ODS-3 C18 (250 mm × 4,6 mm i.d., 5 µm), precisão: 0,19, LOQ: 1,0 µg mL⁻¹, LOD: 0,1µg mL⁻¹, faixa de calibração: 5–150 µg mL⁻¹.

Na determinação do fármaco a quinina e derivados [47], o método: HPLC, a fase móvel: metanol, acetonitrila e uma mistura de acetronitrila / água / ácido fórmico, a coluna:

octadecil, benzil-propil e naftil-propil, recuperação: $90\pm 4\%$, precisão: 2,1-4,5%, LOQ: $9\ \mu\text{g mL}^{-1}$, LOD: $3\ \mu\text{g mL}^{-1}$.

Na determinação dos fármacos: Ombitasvir (OMB), ritonavir (RIT) e paritaprevir (PAR)[48], os métodos: HPLC e HPTLC, Detecção: UV/Vis, fase móvel: "HPLC: eluição isocrática: mistura de fase móvel aquosa micelar consistindo de (Lauril sulfato de sódio 0,15 M e di-hidrogenofosfato de sódio 0,01 M) e etanol (56:44) HPTLC: cloreto de metileno: metanol: acetato de etila: amônia", coluna: "HPLC: RP-C18 Kinetix HPTLC: sílica gel 60F254", recuperação: HPLC: 75 mg of PAR/tablet: $99,8\pm 0,4$, 50 mg, RIT/tablet: $99,7\pm 0,6$, 12,5 mg, OMB/tablet: $100,0\pm 0,4$, HPTLC: 75 mg of PAR/tablet: $99,7\pm 0,7$, 50 mg RIT/tablet: $99,9\pm 0,5$, 12,5 mg OMB/tablet: $99,6\pm 0,3$, Exatidão: HPLC PAR: $100,8 \pm 1,1$, RIT: $100,2 \pm 1,8$, OMB: $99,5 \pm 1,7$, HPTLC: PAR: $99,9 \pm 0,1$, RIT: $99,8 \pm 0,2$, OMB: $99,8 \pm 0,2$, Precisão: HPLC PAR: $100,1 \pm 0,1$, RIT: $99,8 \pm 0,2$, OMB: $99,9 \pm 0,1$, HPTLC: PAR: $100,0 \pm 0,3$, RIT: $99,9 \pm 0,2$, OMB: $99,8 \pm 0,2$, LOQ: HPLC: PAR: 2,2 mg/mL; RIT: 2,6 mg/mL, OMB: 2,4 mg/mL, HPTLC: PAR: 78,0 ng/spot RIT: 48,9 ng/spot, OMB: 69,8 ng/spot, LOD: HPLC: PAR: 0,7 mg/mL; RIT: 0,9 mg/mL; OMB: 0,8 mg/mL HPTLC: PAR: 26,0 ng/spot, RIT: 16,3 ng/spot, OMB: 23,3 ng/spot, Amostras reais.

Embora o índice H seja um parâmetro definido para avaliar produtividade e impacto de pesquisadores, tem sido usado para avaliar também impacto de publicações científicas e em tese poderia ser utilizado para avaliar o impacto dos três termos simultaneamente (*Green Chemistry*; *HPLC*; *drug*, utilizando o operador booleano (*and*) para procurar artigos), possibilitando avaliar o impacto na atividade científica. O cálculo foi realizado com as ferramentas do *web of science*, e o valor obtido no período de 1999 a 2019 foi 22, isto indica que tem 22 artigos, citados pelo menos 22 vezes cada um, que contem estes termos simultaneamente, sendo que a média de citações por item é por volta de 18,26. É de ressaltar que o artigo mais citado [49], acumula até o presente 165 citações,

embora sendo publicado em 2010, Adicionalmente a soma do número de citações foi 1954, eliminando as autocitações o valor caiu pouco para 1905, isto indica que as publicações geram bastante impacto e são muito importantes comparadas com a cromatografia isoladamente por exemplo, Os artigos que fizeram a citação foram 1787, eliminando aqueles que fizeram autocitações o valor caiu pouco para 1758, novamente indicando a relevância dos trabalhos, A figura 5 apresenta a evolução do número de citações em função do ano de análise,

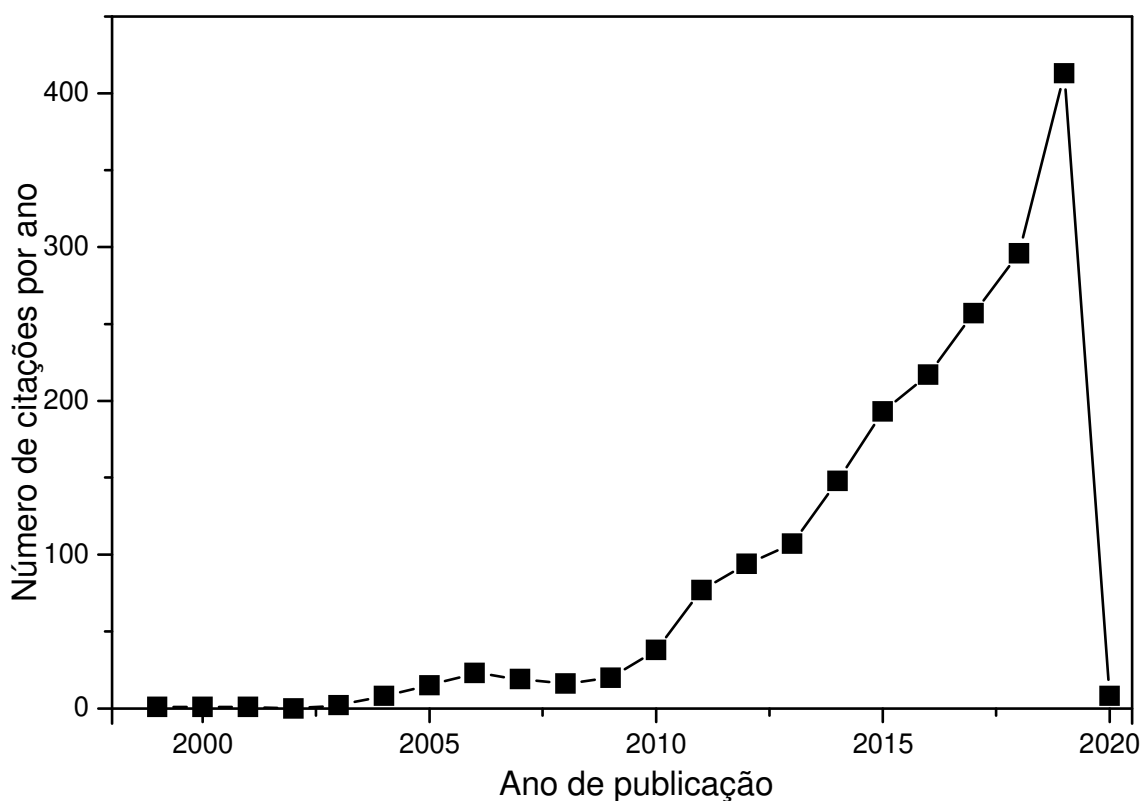


Figura 5, Evolução do número de citações para os termos: *Green Chemistry*, *liquid Chromatography*, e *Drug* simultaneamente (usando o operador *and*).

Novamente pode ser identificada uma tendência crescente para neste caso o número de citações.

Para cada um dos termos isoladamente a base de dados apresentou uma limitação, porque acima de 10000 registros (dados) as ferramentas de análise não estão disponíveis.

Procurando ter uma ideia sobre o índice H do termo *Green chemistry*, mesmo que não tão exata, a busca foi realizada no título das publicações científicas, considerando 2828 publicações e o valor obtido no período de 1990 a 2019 foi 107, isto indica que tem 107 artigos, citados pelo menos 107 vezes cada um, que contem este termo, sendo que a média de citações por item é por volta de 18,48, É de ressaltar que o artigo mais citado [3], acumula até o presente 1386 citações, embora sendo publicado em 2002, Adicionalmente a soma do número de citações foi 52266, eliminando as autocitações o valor caiu pouco para 49629, isto indica que as publicações geram bastante impacto e são muito importantes, mas os autores estão incorporando nas publicações, muitas delas *reviews*, os próprios artigos. Os artigos que fizeram a citação foram 40143, eliminando aqueles que fizeram autocitações o valor caiu para 39427, novamente indicando a relevância dos trabalhos.

Foi considerado importante estabelecer uma visão dos países que mais estão contribuindo para o desenvolvimento da química verde em cromatografia aplicada a análise de insumos farmacêuticos, Os dados são apresentados na forma de porcentagem na figura 6.

É possível observar que os Estados Unidos da América lideram junto com o Egito as contribuições nesta área, algo curioso se é considerado o nível de investimento de recursos, poderia estar acontecendo que bastante é feito em Egito e pouco e feito nos estados unidos, Brasil é o terceiro em contribuições na área, e um pouco menos da metade das contribuições esta distribuída em diversos países com contribuição individual menor a 5% do total,

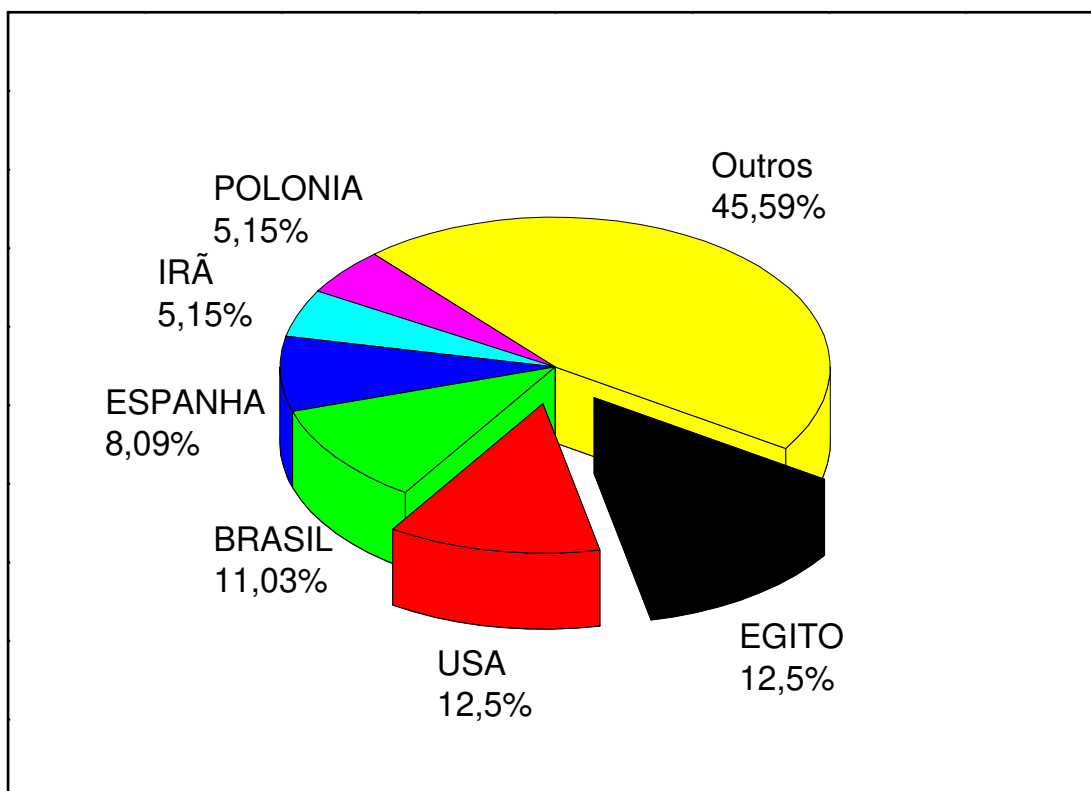


Figura 6, Produção Científica por países, Termos: *Green Chemistry*, *liquid Chromatography*, e *Drug* simultaneamente (usando o operador *and*).

É importante considerar em que periódico científico os trabalhos são apresentados, algo que pode permitir avaliar a área e qualidade das publicações, a informação é sumarizada na figura 7.

É possível observar que muitos periódicos científicos têm contribuído para a interfase dos três termos (em total 51), mas muitos dos periódicos científicos apresentam apenas um artigo publicado e não uma série de aplicações, O periódico científico melhor posicionado apresenta apenas 9 artigos publicados, sendo uma publicação especializada na publicação de artigos de revisão, Uma publicação científica criada especificamente para tratar da química verde (*Green Chemistry*) apresenta somente 3 contribuições que fazem interfase com os 3 termos propostos, Adicionalmente diversos periódicos científicos tem investido na área, mas novamente parecem ser esforços isolados sem uma quantidade

abundante de contribuições dado que 32 publicações científicas aparecem com apenas 1 artigo publicado.

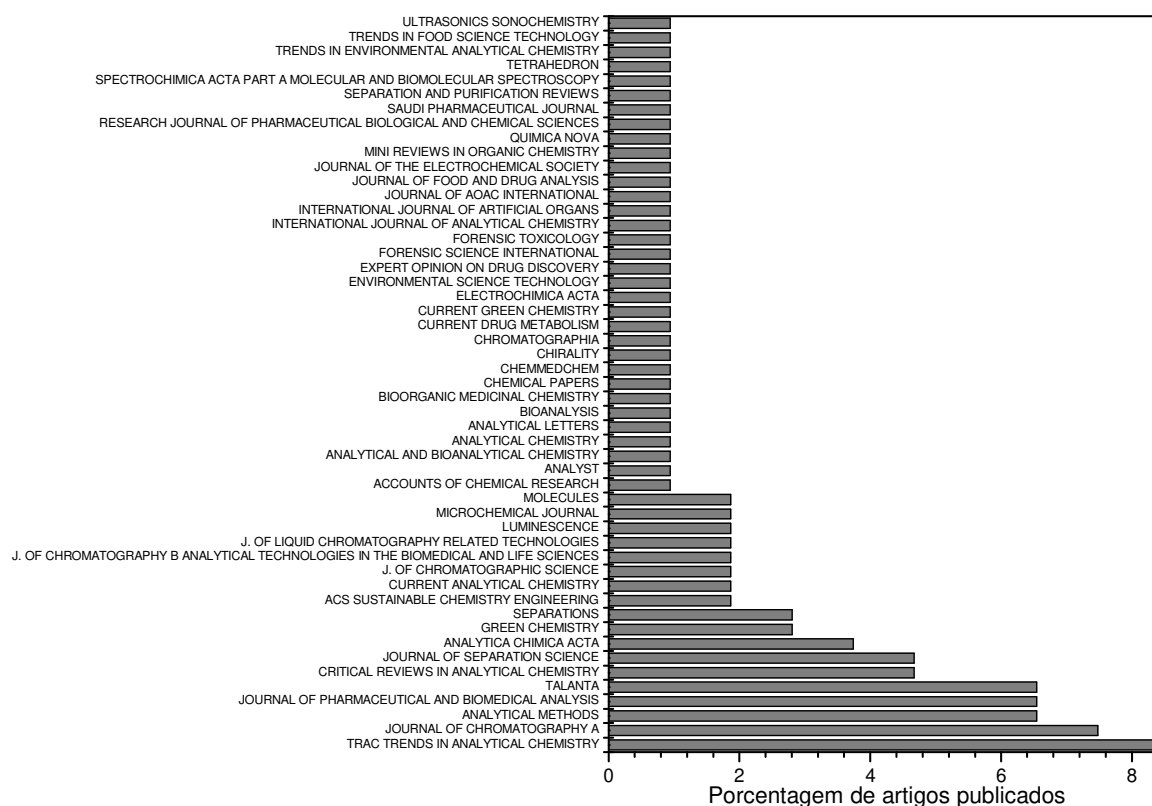


Figura 7. Porcentagem de contribuições por publicação científica.

Novamente estes dados poderiam significar que está faltando passar da revisão e da visão de futuro para a ação e aplicação na rotina de análise.

Outra característica importante é considerar em que área é mais intensa a produção científica, a figura 8 apresenta a informação obtida.

Como se pode observar a química é apresentada como a área que mais contribui na interface em estudo com 91 artigos, estando em terceiro lugar a área farmacêutica e a farmacologia, novamente é possível observar que muitas áreas têm contribuído, mas com muito pouca produção, sendo que 5 áreas somente tem contribuído com um artigo publicado.

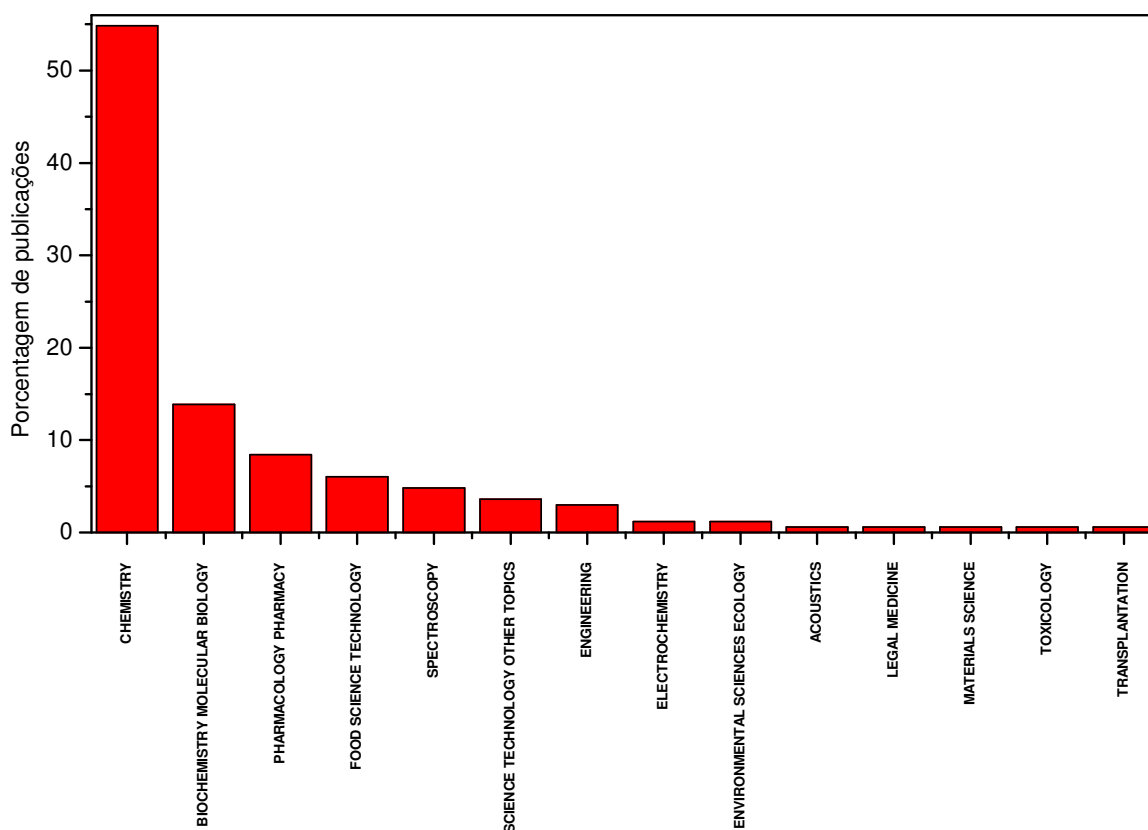


Figura 8, Porcentagem de contribuições por publicação científica,

Outro dado importante diz respeito do financiamento das pesquisas, por isso em base a o que foi reportado nos artigos foi estimada a contribuição de diversas agencias de fomento no mundo todo, Segundo os dados obtidos, a contribuição financeira da CAPES, CNPq e FAPESP foi a base para a produção de pelo menos 15% de todos os artigos publicados nesta interfase, Pode ser inferido que a preocupação pela geração de métodos limpos é muito grande e tem uma base de financiamento importante, pelo menos ate a data do presente levantamento de informação.

6. CONCLUSÕES

A partir dos dados coleta dos foi possível comprovar que o solvente mais utilizado foi o Metanol, a técnica de detecção mais utilizada foi a espectrofotometria de absorção molecular na região UV, As colunas cromatográficas mais utilizadas foram as empacotadas do tipo C18, e também foram usadas como fases estacionarias sílica gel.

A partir dos dados coletados foi possível observar que o princípio da química verde mais utilizado foi o quinto (Solventes e auxiliares mais seguros), sendo mencionado em 10 artigos, O quarto princípio (desenho de produtos seguros) é mencionado em 7 artigos, Ocupa o terceiro lugar de uso o segundo princípio (economia de átomos) sendo mencionado em 4 artigos, O décimo princípio (desenho de degradação), foi mencionado 2 vezes, e o terceiro princípio (síntese de produtos menos perigosos) foi mencionado, apenas 1 vez.

Os países que mais estão contribuindo para o desenvolvimento da química verde em cromatografia aplicada a análise de insumos farmacêuticos são os Estados Unidos da América junto com o Egito, seguido do Brasil, Pouco menos da metade das contribuições esta distribuída em diversos países com contribuição individual menor a 5% do total,

O índice H mostra que a área de pesquisa que procura a interfase da cromatografia líquida e a química verde para a determinação de fármacos tem recebido muita atenção sendo que isto reforça a relevância do estudo nesta interfase.

Observando os resultados da revisão fica evidente que ainda deve ser feito muito mais na pesquisa que une a cromatografia líquida e a química verde para a determinação de fármacos a fim de buscar métodos analíticos limpos e sustentáveis, o que está faltando é aplicar os conceitos no dia a dia da cromatografia, na rotina de laboratórios analíticos.

7. PERSPETIVAS FUTURAS

Ampliar a pesquisa para abarcar um tempo maior a cinco anos na tentativa de avaliar a tendência ao longo do tempo, fornecendo maior robustez às conclusões, poderia favorecer a publicação dos resultados em um artigo científico, mas acredita-se que o panorama geral somente seja confirmado.

Embora o *Web of science* seja bastante robusto e confiável, resulta importante confrontar os resultados com outras bases de dados importantes a fim de oferecer um maior respaldo aos dados e às conclusões com interesse de gerar um Artigo científico.

Propor a implementação na rotina dos laboratórios os princípios da química verde na cromatografia líquida aplicada a análise de fármacos e medicamentos, especificamente no controle de qualidade que representa a maior área de aplicação, procurando uma mudança de paradigma.

8. Referências Bibliográficas

-
- [1] ANASTAS, P.T.; WARNER, J. Green Chemistry: Theory and Practice. Oxford: Oxford University, 1998.
- [2] ANASTAS, P.T. Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 29, p. 167-175, 1999.
- [3] ANASTAS, P.T.; KIRCHHOFF, M.M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry, *Accounts Of Chemical Research*, V. 35, p. 686-694, 2002.
- [4] ANASTAS, P.T. et al. Green chemistry: science and politics of change. *Science*, v. 297, p. 807-810, 2002.
- [5] LENARDÃO, E.J. et al. "Green chemistry" - Os 12 Princípios da Química Verde e sua Inserção nas Atividades de Ensino e Pesquisa. *Química Nova*, v. 26, p. 123-129, 2003.
- [6] Green Chemistry: U.S. Environmental Protection Agency; 2018.[citado 29 junho 2018]. Disponível em: <http://www.epa.gov/greenchemistry>.
- [7] ANASTAS, P.T. et al. Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview. *Pure And Applied Chemistry*, v. 72, p. 1207-1228, 2000.
- [8] BRASIL. Farmacopéia Brasileira, volume 1 e 2, 5ed. / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.
- [9] ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. The role of green extraction techniques in green analytical chemistry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 27, p. 497-511, 2008.
- [10] ETTRE, L.S., Nomenclature for chromatography. *Pure And Applied Chemistry*, 65(4) 1993 (819-872)(IUPAC Recommendations 1993)
- [11] ETTRE, L. S. Tswett and the Invention of Chromatography, *LCGC NORTH AMERICA*, 2003, 21 (5), 458-467.
- [12] BORGUINI, R. G. et al. História da Cromatografia Líquida, *Revista Virtual de Química*, 2015, 7 (4), 1225-1271.
- [13] MARTIN, A. J. P.; SYNGE, R. L. M. A new form of chromatogram employing two liquid phases. *Biochemical Journal*, 1941 Dec; 35(12): 1358–1368
- [14] MOORE, S, STEIN, W.H. Chromatography of amino acids on starch columns; solvent mixtures for the fractionation of protein hydrolysates. *Journal of Biological Chemistry*, 1949 Mar;178(1):53-77.
- [15] NIKOLIN, B. et al. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. *The Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2004 May; 4(2):5-9.
- [16] PRABU, S. L.; SURIYAPRAKASH, T. N. K. (2012). Extraction of Drug from the Biological Matrix: A Review. *Applied Biological Engineering – Principles and Practice*. DOI:10.5772/32455.
- [17] MOHAMED, H.M.; LAMIE, N.T. Analytical Eco-Scale for Assessing the Greenness of a Developed RP-HPLC Method Used for Simultaneous Analysis of

- Combined Antihypertensive Medications. *Journal of AOAC International*, 2016, 99, 1260–1265.
- [18] YABRÉ, M. et al. Greening Reversed-Phase Liquid Chromatography Methods Using Alternative Solvents for Pharmaceutical Analysis. *Molecules* v. 23, p. 1065, 2018.
- [19] YEHA, A.M.; MOHAMED, H.M. J. *Journal of Separation Science*, 2016, 39, 2114–2122.
- [20] THOMPSON, M.; STEPHEN, L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. *Pure And Applied Chemistry*, 2002, 74, 835.
- [21] BRASIL. Lei nº 5.991, de 17/12/73. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos e da outras providências. *Diário oficial da Republica Federativa do Brasil*, Brasília, 19 dez. 1973.
- [22] RANG, H.P. et al. *Rang&Dale Farmacologia*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016
- [23] BRASILEIRO, A. M. M. *Manual de produção de textos acadêmicos e científicos*. 1ª edição. Editora Atlas S.A. São Paulo, 2013.
- [24] BOLDERSTON, A. Writing an Effective Literature Review, *Journal of Medical Imaging and Radiation Sciences*, V. 39, p. 86 - 92, 2008.
- [25] BRETTE, A., & GAMBLING, T. Needle in a haystack Effective literature searching for research. *Radiography* 9, 229–236, 2003.
- [26] STEWARD, B. Writing a literature review. *British Journal of Occupational Therapy* November, 67, 495–500, 2004.
- [27] CRESWELL, J W. *Projeto de pesquisa, método qualitativo, quantitativo e misto*. Editora: Bookman Companhia Ed. 3ª edição. 2010.
- [28] MARCONI, M. A; LAKATOS, E.M. *Fundamentos de Metodologia Científica*. 6ª edição. Editora Atlas S.A. São Paulo, 2009.
- [29] HIRSCH, J.E. An index to quantify an individual's scientific research output. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; 102(46): 16569-72.
- [30] GENEROSO, T. P.; ASSAD, R. S.; MOREIRA, L.F. P. Uso do Fator de impacto e do índice H para avaliar pesquisadores e publicações, *Arq. Bras. Cardiol.* vol. 96 no.2 São Paulo Fev. 2011.
- [31] Portal de Periódicos CAPES/MEC; 2018. [citado 29 junho 2018]. Disponível em: <https://www.periodicos.capes.gov.br/>
- [32] ABOU AL-ALAMEIN, A. M.. et al. Green HPTLC-densitometric approach for simultaneous determination and impurity- profiling of ebastine and phenylephrine hydrochloride. *Microchemical Journal* 147 (2019) 1097-1102.
- [33] HUSSEIN, L. A. et al. Stability-Indicating RP-UPLC Method for Simultaneous Determination of Azilsartan Medoxomil and Chlorthalidone in Tablets in the

- Presence of Its Degradation Products. *Journal of Chromatographic Science*, 2019, Vol. 57, No. 3, 213–219.
- [34] YÜCE, I.; MORLOCK, G. E. All on one high-performance thin-layer chromatography plate: solvent-free nanomole-scaled on-surface synthesis, workup and online high-resolution mass spectrometry for elucidation of two new degradation products in an ifosfamide formulation. *Journal of Chromatography A*, 1572 (2018) 145–151
- [35] TAKLA, S. S. et al. Green techniques in comparison to conventional ones in the extraction of Amaryllidaceae alkaloids: Best solvents selection and parameters optimization. *Journal of Chromatography A*, 1567 (2018) 99–110
- [36] PIERGIOVANNI, M. et al. Determination of benzodiazepines in beverages using green extraction methods and capillary HPLC-UV detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 154 (2018) 492–500
- [37] IDE, A.H.; NOGUEIRA, J.M.F. New-generation bar adsorptive microextraction (BAE) devices for a better eco-user-friendly analytical approach – Application for the determination of antidepressant pharmaceuticals in biological fluids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 153 (2018) 126–134
- [38] DANDAN Ge. et al. Air-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on a new hydrophobic deep eutectic solvent for the preconcentration of benzophenone-type UV filters from aqueous samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41 (7) 1507–1710 (2018) · Vol. 41 · No. 7 · April 2018 · D 10609
- [39] SAKINE Asadi, HADI Tabani, SAEED Nojavana. Application of polyacrylamide gel as a new membrane in electromembrane extraction for the quantification of basic drugs in breast milk and wastewater samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 151, 2018, 178–185.
- [40] ABDEL-GAWAD, S.A.; EL-GAMAL, R.M. Simultaneous determination of naltrexone and bupropion in their co-formulated tablet utilizing green chromatographic approach with application to human urine. *Saudi Pharmaceutical Journal* 26, 2018, 169–176.
- [41] FERREYA, L. et al. UHPLC method for multiproduct pharmaceutical analysis by Quality-by-Design. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 148, 2018, 361–368
- [42] CHONG, Y. T. et al. A green solvent holder in electro-mediated microextraction for the extraction of phenols in water. *Talanta* 176, 2018, 558-564
- [43] HEMMATI, M.; RAJABI, M.; ASGHARI, A. Ultrasound-promoted dispersive micro solid-phase extraction of trace anti-hypertensive drugs from biological matrices using a sonochemically synthesized conductive polymer nanocomposite. *Ultrasonics Sonochemistry* 39, 2017, 12-24
- [44] WAHBA, M.E.K. Micellar liquid chromatographic determination of metformin hydrochloride using fluorimetric detection after pre-column derivatization: application to pharmacokinetic parameters in immediate and sustained release formulations. *Luminescence*. 2017; 32:452–459.
- [45] SAROJ, S.; JAIRAJ, V.; RATHOD, R. Applying green analytical chemistry for development and validation of RP-HPLC stability indicating assay method for

- estimation of fenoverine in bulk and dosage form using quality by design approach, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2017, 40:7, 340-352.
- [46] NEBSEN, M.; ELZANFALY, E. S. Stability-Indicating Method and LC–MS-MS Characterization of Forced Degradation Products of Sofosbuvir. *Journal of Chromatographic Science*, 2016, Vol. 54, No. 9, 1631–1640
- [47] KLUSKA, M. et al. Analytics of Quinine and its Derivatives. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2016, 46:2, 139-145.
- [48] IBRAHIM, A. E.; SARAYA, R.E.H.; ELHENAWEE, S. Development and validation of eco-friendly micellar-HPLC and HPTLC-densitometry methods for the simultaneous determination of paritaprevir, ritonavir and ombitasvir in pharmaceutical dosage forms. *Heliyon* 5, 2019, e01518.
- [49] WELCH, Christopher J. et al. Greening analytical chromatography, *TRAC-Trends In Analytical Chemistry*, V.29, p.667-680, 2010.