

Universidade de Brasília – UnB
Instituto de Química – IQ
Curso de Bacharelado em Química Tecnológica

Trabalho de Conclusão de Curso

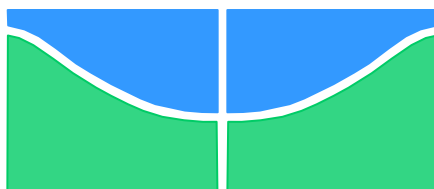
**Química Analítica Verde no controle de qualidade
de medicamentos**

Aluno: João Marcos Almeida de Lucena

Aluno: 14/0145648

Orientador: Prof. Dr. Carlos M. Infante Córdova

Brasília, DF



Universidade de Brasília – UnB
Instituto de Química – IQ
Curso de Bacharelado em Química Tecnológica

**Química Analítica Verde no controle de qualidade
de medicamentos**

Trabalho de conclusão de curso submetido ao curso de graduação em Química da Universidade de Brasília como requisito obrigatório para obtenção do Título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos M. Infante Cordova

Brasília, DF

2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por todo o apoio dado nesta difícil jornada que foi a graduação.

Agradeço a minha noiva por toda a dedicação e paciência nos momentos de dificuldade.

Agradeço ao professor Doutor Carlos Martin Infante Córdova por toda sua disposição e ajuda mesmo estando passando por momentos difíceis.

Agradeço a meus amigos que nunca me deixaram desistir ou coisa pior nos anos que se passaram na universidade.

Lista de abreviaturas e siglas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

BPF: Boas práticas de fabricação

Drug (do inglês): droga

FB: Farmacopeia brasileira

FDA: Food and Drug Administration

FEN: Fenoverina

Green chemistry (do inglês): química verde

HILIC: hydrophilic interaction chromatography

HPLC: high performance liquid chromatography

HPTLC: high-performance thin layer chromatography

ICH: International Conference for Harmonization of Technical Requirements for
Registration of Pharmaceuticals for Human Use

IP: pharmaceutical industry

LLOQ: Lower limit of quantification

LOD: Limit of Detection

LOQ: Limit of Quantitation

QC : Quality control

RDC: RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA

RP-HPLC: Reverse phase high performance liquid chromatography

UV: Ultra violeta

Lista de figuras

Figura 1 - Esquema de funcionamento de um Espectrofotômetro de Absorção Molecular..12

Figura 2 - Esquema de funcionamento de um HPLC.....13

Figura 3 - Evolução na produção de trabalhos para os termos pesquisados: “HPLC”, “Green chemistry” e o par “quality control (QC) and pharmaceutical industry (IP)”.....17

Figura 4 - Evolução na produção de trabalhos para os termos em par pesquisados: “quality control (QC) and pharmaceutical industry (IP)”.....18

Figura 5 - Evolução da produção de trabalhos para os termos: “HPLC AND (quality control)” e “HPLC and (pharmaceutical industry)”.....18

Lista de tabela

Tabela 1 – princípios da química verde.....	14
Tabela 2 – referencias selecionadas.....	19
Tabela 3 – dados analíticos HPLC.....	22
Tabela 4 – dados analíticos HPTLC.....	22

RESUMO

Neste trabalho de conclusão de curso foi feita uma revisão bibliográfica sobre o controle de qualidade de medicamentos com foco nos instrumentos mais utilizados e procurando a prática da química verde nas indústrias farmacêuticas, o período temporal do levantamento em sua grande maioria foi os últimos 5 anos. A indústria farmacêutica é uma das mais controladas e regulamentadas considerando que os medicamentos produzidos devem ser seguros e efetivos. O controle de qualidade nas indústrias de medicamentos brasileira segue as normas da RDC Nº 301, de 21 de agosto de 2019, que em sua seção III, artigos 13 e 14 indicam os parâmetros necessários a serem executados quanto ao controle de qualidade dos medicamentos e também segue as normas da Farmacopeia Brasileira (FB) que atualmente está em sua sexta edição. Dentre as técnicas utilizadas na Farmacopeia Brasileira, destacam-se: espectrofotometria de absorção molecular e a high performance liquid chromatography (HPLC), ambas possuem características e vantagens, que devem ser levadas em conta na escolha do método para detecção e quantificação do analito em questão. Com a pesquisa em bases de dados, foi encontrado cerca de 13 artigos que citavam química verde, cromatografia líquida de alta eficiência, controle de qualidade e “*drugs*”. Destes, 4 foram selecionados por representarem melhor os termos selecionados. Nestes trabalhos os solventes mais utilizados foram o etanol e algumas soluções aquosas. O detector mais empregado nos trabalhos foi o espectrofotômetro de absorção molecular na região UV. As colunas cromatográficas utilizadas nas fases estacionárias mais utilizadas foram a C18 utilizando sílica com partículas de tamanho de 5 μm . Os princípios da química verde mais observados foram os que falam sobre economia de átomos e sobre a busca pela eficiência energética, em que a maioria dos trabalhos se embasava na utilização de solventes onde se era possível fazer a análise de dois ou mais analitos em uma única corrida cromatográfica. Com base nestes resultados é possível afirmar que a busca por uma química mais verde focada em controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas está longe de ser uma prioridade, mesmo em uma realidade onde as matérias primas estão cada vez mais escassas.

PALAVRAS CHAVE: “green chemistry”; química verde; HPLC; controle de qualidade; indústria farmacêutica; fármacos.

ABSTRACT

In this work, a bibliographic review was made on the quality control of medicines with a focus on the most used instruments and looking for the practice of green chemistry in the pharmaceutical industries, the time period of the survey was mostly the last 5 years. The pharmaceutical industry is one of the most controlled and regulated considering that the drugs produced must be safe and effective. Quality control in the Brazilian medicine industries follows the rules of RDC No. 301, OF AUGUST 21, 2019, which in its section III, articles 13 and 14 indicate the necessary parameters to be carried out regarding the quality control of medicines and also follows the rules of the Brazilian Pharmacopeia (FB) which is currently in its sixth edition. Among the techniques used in the Brazilian Pharmacopoeia, the following stand out: molecular absorption spectrophotometry and high performance liquid chromatography (HPLC), both have characteristics and advantages, which must be taken into account when choosing the method for detecting and quantifying the analyte in question. With the search in databases, it was found about 13 articles that cited green chemistry, high performance liquid chromatography, quality control and "drugs". Of these, 4 were selected because they better represent the selected terms. In these works the most used solvents were ethanol and some aqueous solutions. The most used detector in the works was the molecular absorption spectrophotometer in the UV region. The chromatographic columns used in the stationary phases most used were C18 using silica with particles of size of 5 μm . The most observed principles of green chemistry were those that talk about atom economy and suffer the search for energy efficiency, where most of the work was based on the use of solvents where it was possible to analyze two or more analytes in a single run chromatographic. Based on these results, it is possible to state that the search for a greener chemistry focused on quality control in the pharmaceutical industries is far from being a priority, even in a reality where raw materials are increasingly scarce.

KEY WORDS: green chemistry; HPLC; quality control; pharmaceutical industry; drugs.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	9
2.1. Geral.....	9
2.2. Específicos.....	9
3. REFERENCIAL TEÓRICO	10
3.1. Medicamentos.....	10
3.2. Controle de qualidade.....	10
3.3. Espectrofotometria de absorção molecular.....	11
3.4. High performance liquid chromatography (HPLC)	12
3.5. Química verde.....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5.1 Dados obtidos.....	17
5.2 Ertapeném Sódico.....	20
5.3 Ombitasvir, ritonavir e paritaprevir.....	21
5.4 Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína.....	22
5.5 Fenoverina.....	23
5.6 Análise dos dados.....	24
6. CONCLUSÕES	25
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	25
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

O consumo de medicamentos tem aumentado nos últimos tempos devido a vários fatores sociais e econômicos. [1] Com isso o setor farmacêutico devido a alta na demanda aumentou seu investimento na produção de mais medicamentos e conseqüentemente aumentou seu investimento no setor de controle de qualidade devido às fortes regulamentações governamentais. [2]

A FB diz que o controle de qualidade de medicamentos “*É o conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos, que satisfaçam às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade*” [3], isso implica que o controle de qualidade está atrelado a todas as etapas da fabricação dos medicamentos, desde a matéria-prima ao medicamento finalizado, sendo imprescindível uma alta rotina de análises. [4]

Uma das técnicas instrumentais mais utilizadas e citadas no controle de qualidade pela FB é a HPLC, técnica de separação muito consolidada e amplamente utilizada em diversos laboratórios de controle de qualidade ao redor do mundo e que consiste basicamente em uma técnica na qual uma forma específica de coluna cromatográfica é utilizada para separar, identificar e quantificar os compostos ativos e impurezas. A HPLC utiliza principalmente uma coluna que contém um material empacotado (fase estacionária), uma bomba que movimenta a fase móvel através da coluna, e um detector que faz a aquisição de dados (absorbância, emissão fluorescente, etc.) em função do tempo. A partir dos cromatogramas assim obtidos é possível obter os tempos de retenção das moléculas [5], parâmetro importante para caracterização do método.

Outra das técnicas citadas pela FB é a de espectrofotometria de absorção molecular. A técnica baseia-se nas interações da radiação com a matéria e ela consiste em passar feixe de luz monocromática passa através da amostra, absorvera parte da radiação, assim a radiação emergente será menos intensa, pois parte dela terá sido absorvida. [6]

Considerando a alta no consumo de medicamento (produtos prioritários para a manutenção da saúde da população), e a projeção de que este consumo tende a aumentar cada vez mais com a crescente expansão dos medicamentos genéricos, é preciso estudar formas de diminuir o impacto ambiental advindo das numerosas análises para controle de qualidade dos medicamentos exigidos pelas agências regulatórias.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar uma revisão bibliográfica abrangente para avaliar as possibilidades e benefícios da aplicação da química verde no desenvolvimento de métodos analíticos empregando HPLC, principalmente com detecção por espectrofotometria de Absorção Molecular, procurando substituição de solventes, diminuição resíduos, tratamento de resíduos ou reutilização, aplicados no controle de qualidade de medicamentos anti-hipertensivos, analgésicos e outros.

2.2 Específicos

- Obter dados sobre cromatografia líquida de alta eficiência, controle de qualidade, indústria farmacêutica e química verde, para ter uma visão geral destes assuntos, isoladamente e relacionados.
- Estudar as possibilidades de substituição de solventes tóxicos, como acetonitrila e metanol, por solventes menos tóxicos para separações cromatográficas, avaliando condições de separação e diversos parâmetros cromatográficos.
- Oferecer uma reflexão crítica da aplicabilidade de métodos analíticos limpos no controle de qualidade de medicamentos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Medicamentos

A FB compreende como medicamento “o produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, que contém um ou mais fármacos e outras substâncias, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico” [7]. Eles são categorizados como referência, Genéricos ou similares. Medicamentos de Referência é o medicamento inovador, com segurança, qualidade e eficácia cientificamente comprovadas, possuem registros de patente e são identificados por marca ou nome comercial. Medicamentos Genéricos, regulamentados em 1999, no Brasil, são aqueles que têm as mesmas características e produzem no organismo os mesmos efeitos que um medicamento de marca, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, com os mesmos princípios ativos, apresentando a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica se diferenciando apenas por características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículo, são identificados pelo princípio ativo. Medicamentos Similares são aqueles que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal, responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículo, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca [7].

3.2. Controle de Qualidade

Controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas seguem normas rígidas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e seguindo as recomendações da *International Conference for Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) [8] A introdução do controle de qualidade dentro da indústria serve para identificar qualquer fator que possa alterar alguma característica de um medicamento.

Através das medidas de Boas Práticas de Fabricação (BPFs), que são normas obrigatórias de produção, consegue-se reduzir riscos de contaminação que afetam a qualidade do medicamento por meio da padronização de processos, qualificação de pessoal e validação de etapas críticas [9]. Ainda, o setor responsável pelo controle de qualidade, faz a criação de documentação e registros de todos os processos e a inserção de medidas de auto

inspeção. O controle de qualidade engloba diversas medidas, como programação, coordenação e execução, que visam assegurar a produção de medicamentos dentro das normas exigidas, verificando além dos medicamentos finalizados, as matérias-primas, materiais de embalagem e produtos intermediários através de testes físico-químicos [10].

O controle de qualidade é considerado o processo mais importante na fabricação de medicamentos pois por menor que seja a alteração no produto final, pode acarretar prejuízos sérios a saúde humana, com isso, temos que o objetivo primordial do controle de qualidade é alcançar medicamentos mais eficazes e seguros [11].

3.3. Espectrofotometria de Absorção Molecular

A técnica baseia-se nas interações da radiação com a matéria e ela consiste em passar feixe de luz monocromática passa através da amostra, absorvera parte da radiação, assim a radiação emergente será menos intensa, pois parte dela terá sido absorvida. A fração de luz absorvida é descrita pela lei de Lambert – Beer:

$$A = \epsilon lc$$

Onde A é a absorbância, ϵ é coeficiente de absorção molar da espécie em estudo, l é a distância percorrida pela radiação através da amostra e c é concentração molar da espécie.

As fontes mais comuns de radiação eletromagnética são as lâmpadas de H₂ e D₂ (160 – 380 nm), tungstênio (320 – 2400 nm) e xenônio (200 – 1000 nm). Fontes térmicas e químicas também são aplicadas em casos específicos.

Dentre as características da técnica podem ser citadas: Ampla aplicabilidade – um número enorme de compostos (orgânicos e inorgânicos) absorve na região do UV-VIS, e parte das não-absorventes podem ser convertidas em um derivado que absorve; Alta sensibilidade – a técnica é capaz de detectar concentrações da ordem de 10⁻⁵ mol L⁻¹, podem chegar a alguns casos até 10⁻⁷ mol L⁻¹; Seletividade – com frequência pode se trabalhar em um comprimento de onda específico ao seu analito, tornando assim, desnecessário qualquer método prévio de separação, ou ainda, caso ocorra à sobreposição de bandas, medidas adicionais podem eliminar estas interferências; Boa exatidão – os erros relativos relacionados a esta técnica estão na faixa de 1 % a 5 %, podendo ser frequentemente reduzidos a décimos por cento; Acessibilidade – as medidas espectrofotométricas são realizadas de forma fácil e rápida [6]. Na figura 1 é apresentado um esquema de funcionamento do Espectrofotometria de Absorção Molecular.

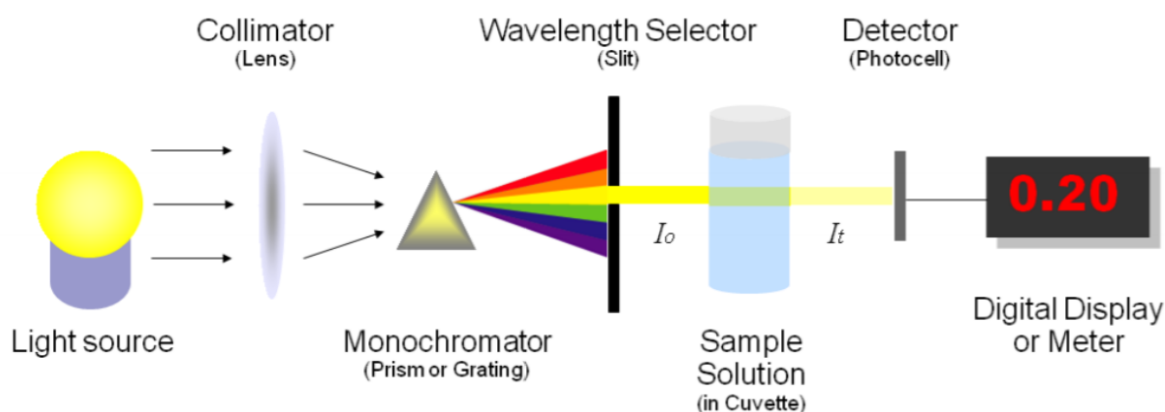


Figura 1: Esquema de funcionamento de um espectrofotômetro de absorção molecular.

3.4. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

A técnica baseia-se em uma coluna fechada, reaproveitável, com isso é possível fazer centenas de separações individuais com a mesma coluna, sendo necessário em alguns casos regenerá-la após algumas separações. A regeneração da coluna se faz necessária quando impurezas são adsorvidas irreversivelmente na matriz da coluna cromatográfica, causando mudanças na seletividade da análise e alargamento do pico. Com a ideia de que o custo de uma coluna individual pode ser distribuído em um grande número de análises, é possível utilizar recheios de alta resolução, que são recheios com diâmetro de partícula menores, mais caros, e que necessitam de um enchimento mais cuidadoso.

As colunas empregadas nesta técnica possuem diâmetros que podem ser de 2 mm a 5 mm e comprimentos de 10 cm a 30 cm. Devido ao seu pequeno diâmetro a coluna oferece uma grande resistência a fase móvel, que é líquida, sofrendo, portanto, uma grande perda de carga. Por esta razão se faz necessário o uso de um sistema de bombas de alta pressão que conseguem fazer com que a parte móvel migre pela coluna com uma velocidade razoável.

Devido ao uso de bombas, a vazão da fase móvel pode ser controlada facilmente, tornando mais fácil a repetibilidade das análises. As amostras são injetadas por meio de micro seringas ou válvulas de injeção. [12]

As principais características da fase móvel utilizadas na HPLC são, alto grau de pureza, fácil separação, ter baixa viscosidade, ser compatível com o detector utilizado, não decompor ou dissolver a fase estacionária, dissolver a amostra sem decompor seus componentes e ter polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra [6].

Os detectores mais usados na HPLC são os fotométricos, baseados na absorbância no ultra violeta e no visível. Os detectores de fluorescência, utilizados como método de detecção específica, são sensíveis para substâncias que apresentam fluorescência, sendo

possível detectar quantidades de ordem picograma. Não existe um detector que apresente todas as propriedades para que ele seja ideal para HPLC e principalmente não são universais, mas existem detectores que apresentam ampla faixa de aplicações. A sensibilidade de um detector é determinada a partir da relação entre o sinal produzido e a quantidade de amostra que gera este sinal [6].

O material mais utilizado como base para a fase estacionária das colunas cromatográficas é a sílica. Algumas propriedades justificam sua utilização, como a pureza, ausência de íons metálicos, formato das partículas, esférico ou irregular, tamanho das partículas e sua distribuição. Tamanhos menores de partículas trazem maior eficiência; no entanto, isso geralmente ocorre à custa de um aumento na pressão do sistema. [12]

O princípio de separação do sistema envolve os grupos funcionais presentes na amostra e o grau de afinidade que eles possuem com a fase móvel e a estacionária, nos mostrando velocidades de migração distintos e, portanto, separando as substâncias. Dessa forma, as substâncias que apresentam maior afinidade pela coluna apresentam um tempo de eluição maior [13].

A grande vantagem da HPLC se deve a boa sensibilidade, rapidez na análise (em média 8 a 15 minutos), baixa influência de interferentes, alta eficiência através de picos estreitos e definidos, excelente reprodutibilidade, repetibilidade e resultados confiáveis, e processo totalmente automatizado com injeção precisa de amostra. Como desvantagens, requer uma etapa de extração das formulações para análise do fármaco e a geração de grande quantidade de resíduos dos solventes [13]. Um dos grandes motivos de se fazer uso da HPLC ao invés da Cromatografia líquida de ultra-alto desempenho é o fato do alto custo de manutenção e ao menor tempo de vida de suas colunas [18], mais sensíveis à presença de material particulado que as colunas de HPLC convencional. Na figura 2 é apresentado um esquema de um aparelho de HPLC.

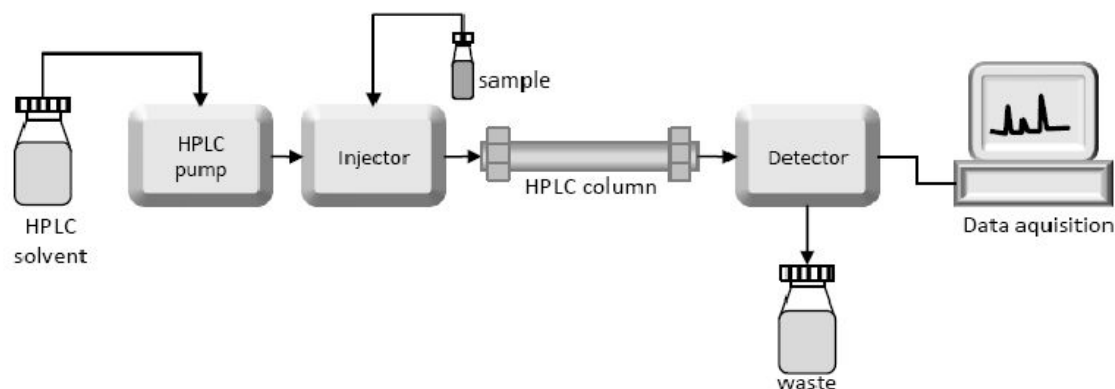


Figura 2: Esquema de funcionamento de um HPLC

3.5. Química Verde

A química verde tem por objetivo implementar estratégias e formas de modo a eliminar ou minimizar substâncias tóxicas ao meio ambiente e a saúde humana, geração de resíduos nocivos ao ambiente e utilização de solventes reutilizáveis. [14]

As áreas mais frequentemente discutidas da Química Analítica relacionadas à Química Verde são a ciência da separação e preparação da amostra porque estes são os maiores consumidores de solventes e outros reagentes que acabam gerando uma quantidade muito grande de resíduos [15]. A Química Verde vem ganhando cada vez mais destaque na indústria farmacêutica devido ao alto número de análises feitas em seus laboratórios e a necessidade de separação de analitos presentes no medicamento, sendo substâncias ativas ou contaminantes. Com a junção das ideias a respeito do tema foram criados 12 princípios onde se faz presente todas as ideias da Química Verde, apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Princípios da química verde.

Princípio da Química Verde	
1	Prevenção
2	Economia de átomos
3	Síntese de produtos menos perigosos
4	Desenho de produtos seguros
5	Solventes e auxiliares mais seguros
6	Eficiência energética
7	Uso de fontes renováveis de matéria prima
8	Evitar a formação de derivados
9	Catálise
10	Desenho para degradação
11	Análise em tempo real para a prevenção de acidentes/poluição
12	Química segura para prevenção de acidentes

Um dos pilares da química verde é a diminuição dos resíduos gerados pelas análises é importante salientar que, é estimado que a quantidade total de resíduos gerados por instrumentos de HPLC em todo o mundo é de 34 milhões de litros por ano e que mesmo uma

melhoria incremental levaria a uma redução significativa de desperdício [16]. Entretanto é muito difícil a aplicação de novos solventes menos agressivos ao meio ambiente pois a maioria das agências regulatórias exigem o uso de métodos validados, o que inclui em sua grande maioria o uso de acetonitrila como eluente principal [14].

Os princípios apresentados na tabela 1 podem ser explicados da seguinte forma: É melhor prevenir o desperdício do que tratar ou limpar o desperdício depois de formado; Métodos sintéticos devem ser projetados para maximizar a incorporação de todos os materiais usados do processo até o produto final; Sempre que possível, metodologias sintéticas devem ser projetadas para usar e gerar substâncias que possuem pouca ou nenhuma toxicidade para a saúde humana e o meio ambiente; Os produtos químicos devem ser projetados para preservar a eficácia da função enquanto reduzem toxicidade; O uso de substâncias auxiliares (por exemplo, solventes, agentes de separação e assim por diante) deve ser tornado desnecessário sempre que possível e inócuo quando usado; Os requisitos de energia devem ser reconhecidos por seus impactos ambientais e econômicos e devem ser minimizado; Os métodos sintéticos devem ser conduzidos à temperatura ambiente e pressão atmosférica; A matéria-prima deve ser renovável; derivatizações desnecessárias (grupo de bloqueio, proteção / desproteção, modificação temporária, processos físicos / químicos) devem ser evitados sempre que possível; Os reagentes catalíticos (tão seletivos quanto possível) são superiores aos reagentes estequiométricos; Os produtos químicos devem ser projetados de modo que, ao final de sua função, não persistem no meio ambiente e se decompõem em produtos de degradação inócuos; Metodologias analíticas precisam ser desenvolvidas para permitir em tempo real o monitoramento e controle do processo antes da formação de substâncias perigosas; As substâncias e as formas que elas serão usadas em um processo químico devem ser escolhidas de modo a minimizar o potencial de acidentes químicos, incluindo vazamentos, explosões e incêndios [17].

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Para a coleta de dados, diversas bases foram utilizadas, como a *WebofScience* ou *SciFinder*, ambas disponíveis no portal CAPES e disponibilizadas pela Universidade de Brasília. Como critérios de inclusão foram considerados, que o registro em estudo contenha todas as informações necessárias para uma adequada caracterização. Como critérios de exclusão foram considerados a insuficiência de dados, assim como também a qualidade geral do artigo e o fator de impacto do jornal científico.

Foi elaborado, um instrumento de pesquisa (planilha eletrônica) contendo informações analíticas como matriz da amostra, analíto e técnica de determinação, e características analíticas como limite de detecção e quantificação, faixa de resposta linear, repetibilidade, consumo de reagentes, geração de resíduos entre outros. Com os dados coletados foram preparadas tabelas e parágrafos correspondentes deste manuscrito.

4.2. Métodos

Para realizar o levantamento dos registros para a revisão bibliográfica, foi decidido utilizar uma amostragem não probabilística, considerando que resulta uma abordagem útil para a pesquisa de artigos científico-técnicos que são do interesse para a realização de nosso trabalho. Inicialmente foi imposto o limite dos últimos cinco anos para o levantamento dos registros (algo comum em revisões bibliográficas), mas após realizar diversos estudos exploratórios o limite foi sendo ampliado a fim de obter maior quantidade de registros.

Para estabelecer os critérios de busca utilizou-se termos mais comuns da área em estudo, realizando a apresentação dos resultado empregando gráficos e tabelas, embora inicialmente para a análise e tratamento dos dados fora planejada a aplicação da estatística descritiva com distribuições de frequências, medidas de tendência central (média ou mediana) ou medidas de dispersão (desvio padrão e desvio padrão relativo), a quantidade de registro não exigiu tratamento mais aprofundado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Dados obtidos

Inicialmente foram selecionados os termos: *green chemistry* e HPLC, isolados, e *quality control* e *pharmaceutical industry* utilizando o operador booleano (and), a pesquisa destes termos isolados poderia gerar resultados muito discrepantes ao intuito deste trabalho.

Quando pesquisado *quality control* de maneira isolada, são encontrados 221.840 trabalhos acerca do tópico, sendo trabalhos dos mais diferentes temas, desde automobilística a brinquedos de criança. Quando pesquisado de forma isolada o termo *pharmaceutical industry*, são encontrados 13.798 resultados, porém destes, em sua grande maioria são trabalhos sobre caracterização de compostos e trabalhos sobre cristalização. Por isso se fez necessário fazer uma pesquisa juntando os dois termos (*quality control and pharmaceutical industry*) com o operador booleano (and).

Os resultados obtidos, tendo como principal base de pesquisa o portal Webofscience, considerando trabalhos dos últimos 5 anos, foram 11928 trabalhos sobre *green chemistry*, 43077 trabalhos sobre HPLC e 716 trabalhos sobre *quality control and pharmaceutical industry* sendo pesquisados juntos, com o operador booleano (and).

Uma figura considerando um intervalo de tempo maior (1970-2020), é apresentada na figura 3 para ilustrar a tendência das pesquisas acerca destes tópicos *green chemistry*, HPLC e empregando o operador booleano AND os termos em pares *quality control* AND (*pharmaceutical industry*).

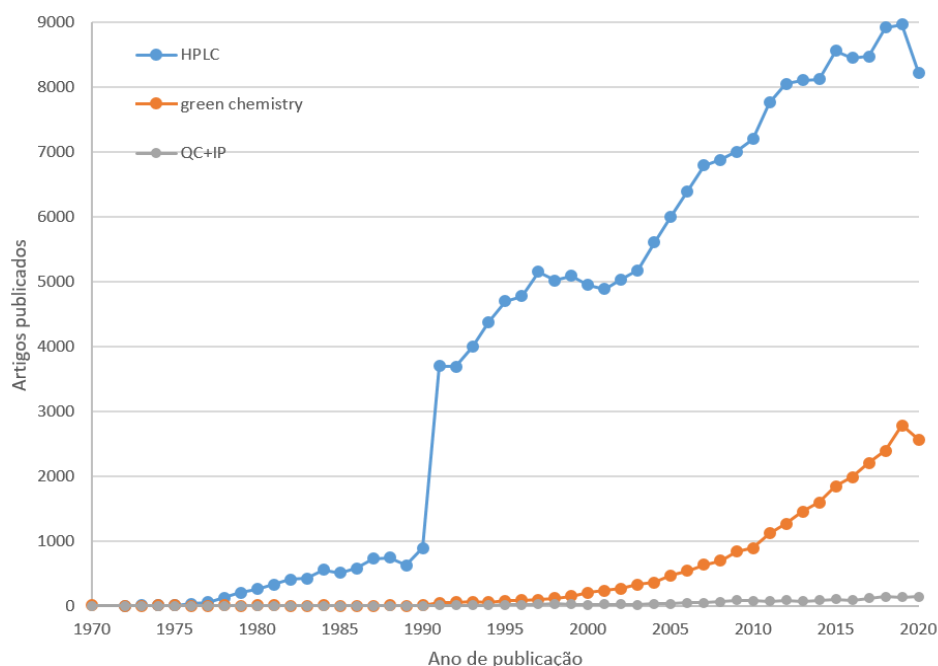


Figura 3. Evolução na produção de trabalhos para os termos pesquisados: “HPLC”, “Green chemistry” e o par “quality control (QC) and pharmaceutical industry (IP)”.

A partir de figura 3 é possível perceber que os trabalhos voltados a química verde têm tido cada vez mais relevância ao passo que os trabalhos voltados ao controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas representados tem tido uma discreta evolução.

Para uma melhor visualização do crescimento do termo em par pares *quality control AND (pharmaceutical industry)* foi apresentado um outro gráfico, presente na figura 4.

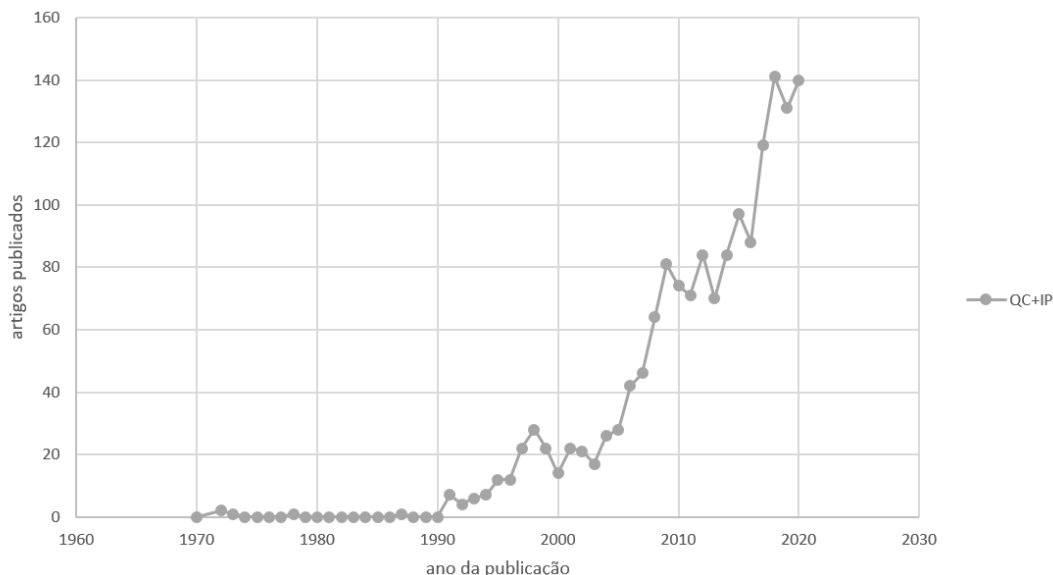


Figura 4: Evolução na produção de trabalhos para os termos pesquisados “quality control (QC) and pharmaceutical industry (IP)”.

Realizando uma pesquisa empregando o operador booleano *AND* e os termos em pares: “HPLC AND (quality control)” e “HPLC and (pharmaceutical industry)” foram obtidos 6547 e 1067 registros respectivamente (Figura 5).

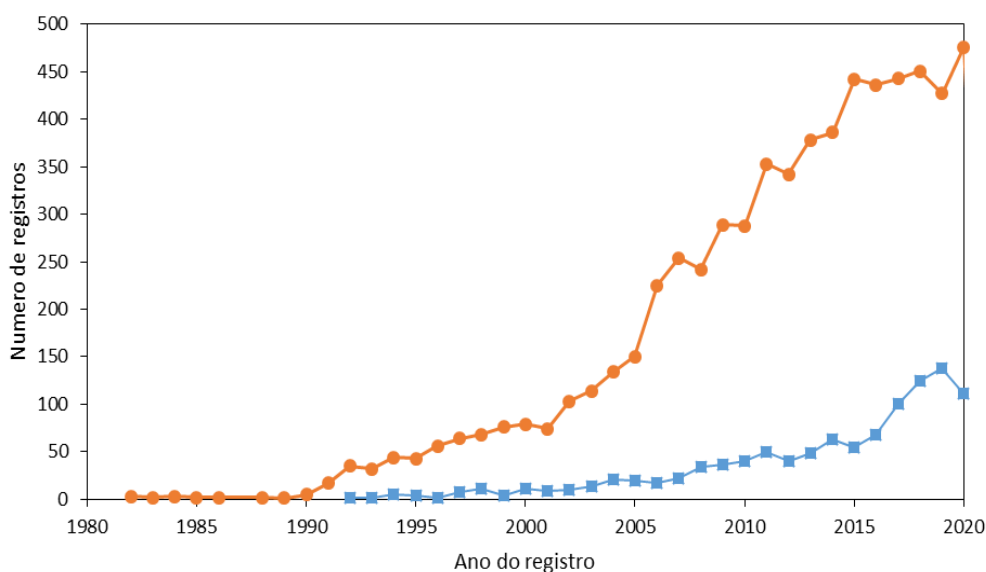


Figura 5: Evolução da produção de trabalhos para os termos: “HPLC AND (quality control)” e “HPLC and (pharmaceutical industry)”.

É possível observar que existe um incremento de registos realmente importante ao longo dos anos e que a HPLC é extremamente utilizada no controle de qualidade e na indústria farmacêutica, algo bastante condicente com a realidade da indústria mundial.

Quando se faz uma pesquisa juntando os 4 tópicos com o operador booleano (and) e restringindo a faixa temporal para os últimos 5 anos, obtêm-se apenas 4 resultados, sendo três destes de 2016 e um de 2019. Com base nestes resultados se fez necessário expandir os tópicos da pesquisa e foi adicionado o termo *drugs*.

Com a substituição do termo *pharmaceutical industry* por *drugs*, e fazendo uma nova pesquisa com a mesma faixa temporal da anterior, com os termos *HPLC*, *Green chemistry*, *quality control* e *drugs* foram obtidos 9 artigos.

Dos 4 artigos obtidos na primeira pesquisa, 1 foi selecionado para uma análise mais detalhada por representar melhor os termos da busca, já os 9 artigos que surgiram da segunda pesquisa, foram selecionados 3 seguindo os mesmos critérios. Logo, da coleta de artigos e trabalhos revisados, foi elaborado a tabela 2 com as referências selecionadas.

Tabela 2: Referências selecionadas

Analito	Método	Princípio da química verde	Ref.
Ertapeném Sódico	RP-HPLC/HILIC	6 – busca pela eficiência energética	19
Ombitasvir, ritonavir e paritaprevir	HPLC/HPTLC	2 – Economia de átomos 5 – Solventes e Auxiliares mais Seguros	22
Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína	RP- HPLC	2 – Economia de átomos 5 – Solventes e Auxiliares mais seguros 6 – Busca pela eficiência energética 7 – Uso de fontes de matéria prima renováveis	23
Fenoverina	RP-HPLC	5 – solventes e auxiliares mais seguros 6 – busca pela eficiência energética	24

5.2. Ertapeném Sódico

O ertapenem sódico é um agente antimicrobiano de extrema importância para a prática clínica atualmente, principalmente porque permanece ativo contra microrganismos aeróbios e anaeróbios

Na determinação do Ertapeném Sódico [19] é utilizado RP-HPLC e HILIC (*hydrophilic interaction chromatography*). A HILIC é, de uma maneira simples, uma forma de HPLC que utiliza uma separação do tipo fase normal, especialmente a fase estacionária, porém com elementos de fase reversa, em especial a fase móvel. Assim, utiliza uma coluna com fase estacionária hidrofílica e um eluente contendo água, tampão e uma concentração elevada de solvente orgânico miscível com água. A ordem de eluição em um sistema HILIC será praticamente o contrário de um que opera em modo reverso. A retenção é proporcional à polaridade do soluto e inversamente proporcional à polaridade da fase móvel. [20]

A fase móvel utilizada no método do RP-HPLC é composta por água e etanol a uma proporção de 80:20 v/v com ácido fórmico a 0,1% com fluxo de 1 mLmin^{-1} e uma coluna *Agilent™ Zorbax Bonus-RP* (4.6 x 150 mm, 5 μm tamanho da partícula).

A fase móvel do método HILIC é composta por acetonitrila e água em uma proporção 88:12 v/v com ácido fórmico a 0,1% com fluxo de $0,5\text{ mLmin}^{-1}$ e uma coluna *Phenomenex™ HILIC Kinetex* (4.6 x100 mm, 2.6 μm tamanho da partícula). O detector utilizado foi o *Waters 2487 UV* na faixa de 300nm.

O foco do trabalho foi desenvolver novos métodos de análise que sejam menos agressivos ao meio ambiente e que tenham uma melhor eficiência energética, seguindo o sexto e sétimo princípio da Química Verde (busca pela eficiência energética e uso de fontes renováveis de matéria prima respectivamente).

O método estudado obteve uma precisão de $99,81\% \pm 0,66\%$ para o RP-HPLC, e uma precisão de $99,18\% \pm 2,01\%$ para a HILIC, sendo resultados bastante satisfatórios quando levado em conta o fato de que são métodos voltados controle de qualidade em rotinas aceleradas. O LOD do método RP-HPLC foi de $3,11\mu\text{g mL}^{-1}$ e do método HILIC foi de $7,80\mu\text{g mL}^{-1}$ enquanto a LOQ dos métodos foram $9,41\mu\text{g mL}^{-1}$ e $23,63\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. O tempo de retenção nos métodos foi de 4 minutos para o RP-HPLC e 5,7 minutos para o HILIC.

Um dos fatores mais importantes destes métodos foi a robustez apresentada por eles, e o fato de que o analito em questão teve baixas taxas de degradação ao longo da análise sendo estes parâmetros muito importantes quando se leva em conta que serão feitas análises quase que continuas visando o controle de qualidade dos lotes em indústrias farmacêuticas.

5.3. Ombitasvir, ritonavir e paritaprevir

Ombitasvir, ritonavir e paritaprevir são três medicamentos antivirais com ação direta usados na forma de dosagem de comprimido de dose única combinada para tratamento de infecções virais por hepatite C (HCV)

Na determinação dos fármacos: Ombitasvir, ritonavir e paritaprevir os métodos estudados foram o HPLC e o high-performance thin layer chromatography (HPTLC)[21]. A cromatografia HPTLC está vindo como um método mais ecológico e por isso está sendo amplamente difundido na comunidade acadêmica. As placas HPTLC oferecem melhor resolução e menor tempo de análise através do tamanho reduzido das partículas de sílica. A fase estacionária da HPTLC de sílica é caracterizada principalmente pela capacidade de ser renovada e reinventada sem fim, que é a núcleo do conceito de sustentabilidade reduzindo a produção de resíduos.

O HPTLC é caracterizado também por sua capacidade de analisar simultaneamente muitas amostras de maneira paralela, obtendo resultados satisfatórios com menor consumo de solvente e energia por amostra quando comparado com HPLC.

O HPTLC é adequado para quantificar vários compostos orgânicos e perfis de suas impurezas, pois ele consegue lidar com amostras "suja" sem pré-tratamento, de modo que impurezas não polares podem ser detectadas mesmo se estiverem na frente do eluente.

Com isso é possível dizer que o uso do HPTLC faz parte dos princípios 2, 4 e 6, sendo eles economia de átomos, pois faz-se uso de menos solvente para as análises e muitas vezes utiliza-se o mesmo solvente para várias amostras, o desenvolvimento de um novo método utilizando o HPTLC é uma forma de se desenhar um método seguro e limpo e a possibilidade de fazer a análise de várias amostras em uma única rodada evita-se um maior custo energético. [22]

Na fase móvel do HPLC deste trabalho foi utilizado uma 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 em uma proporção de 56:44 v/v, na fase móvel do HPTLC, foi utilizado uma mistura de cloreto de metileno, metanol, acetato de etila e amônia em uma proporção de 5:1:3:1 v/v/v/v.

O detector utilizado foi o *YL9120 UV/Vis*, a coluna utilizada para o HPLC foi Kinetix 5 mm-C18 (150*4.6 mm) e os pratos utilizados no HPTLC foram *aluminum silica gel 60F254 pre-coated plates (20 x 20 cm)*. Os resultados de LOD, LOQ e tempo de retenção para HPLC e HPTLC foram organizados e colocados nas tabelas 3 e 4 respectivamente.

Tabela 3: dados analíticos HPLC

HPLC	Paritaprevir	Ritonavir	Ombitasvir
LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,7	0,9	0,8
LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	2,2	2,6	2,4
Tempo de retenção (min)	2,3	4,5	5,5
Precisão	100.1 \pm 0.1	99.8 \pm 0.2	99.9 \pm 0.1
Exatidão	100.8 \pm 1.1	100.2 \pm 1.8	99.5 \pm 1.7

Tabela 4: Dados analíticos HPTLC

HPTLC	Paritaprevir	Ritonavir	Ombitasvir
LOD (ng/spot)	26,0	16,3	23,3
LOQ (ng/spot)	78	48,9	69,8
Fator de retenção Rt)	0,2	0,6	0,7
Precisão	100.0 \pm 0.3,	99.9 \pm 0.2	99.8 \pm 0.2
Exatidão	99.9 \pm 0.1	99.8 \pm 0.2	99.8 \pm 0.2

Com estes dados é possível ver o valor analítico dos métodos, sendo mostrado sua precisão e exatidão. Um ponto a favor também destes novos métodos é sua robustez, algo muito importante em uma rotina agitada de laboratório de controle de qualidade onde pequenas variações ocorrem devido a muitas vezes erros humanos.

Outros fatores muito importantes que devem ser apontados é a durabilidade de suas soluções estoque terem uma durabilidade elevada (72 horas ao abrigo da luz e 10 dias sob refrigeração entre 4 °C a 8 °C) e a possibilidade de utilizar o mesmo solvente novamente em várias análises de rotina, graças ao HPTLC, seguindo fielmente os princípios da química verde.

5.4. Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína

Hidrocortisona é um glicocorticoide antiinflamatório usado no tratamento da colite ulcerosa enquanto Cloridrato de cinchocaína é um anestésico local caracterizado por sua potente e prolongada ação. Os dois medicamentos mencionados são formulados conjuntamente como uma pomada para o tratamento e alívio de hemorróidas [23]

Na determinação dos fármacos: Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína é utilizado o RP-HPLC [23]. O foco deste artigo foi criar um método onde seja possível

determinar os dois fármacos em amostras de tecidos retais de animais, de maneira simultânea, de modo a seguir os princípios 2,5,6 e 7 da química verde que são respectivamente a economia de átomos, o uso de solventes mais seguros, a busca pela eficiência energética e o uso de fontes renováveis de obra prima (etanol).

Neste trabalho foi utilizado uma fase móvel composta por Etanol e uma solução aquosa de carbonato de sódio (utilizado para correção do pH) a uma proporção de 75:25 v/v em um fluxo de 1 mLmin^{-1} . A coluna cromatográfica utilizada foi a *Xselect C18 column (250 × 4.6 mm id, 5 μm tamanho da partícula)* e o detector é o modelo *G 1314 A* sendo 220 nm o comprimento de onda utilizado para as análises.

Os tempos de retenção da Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína foram respectivamente 2,63 minutos e 4,56 minutos. O limite inferior de quantificação (LOQ) foi determinado como a mais baixa concentração padrão na curva de calibração que poderia ser determinada quantitativamente com exatidão aceitável e precisão. De acordo com as diretrizes da FDA, tem que atender os seguintes critérios: a resposta do analito na LOQ deve ser cinco vezes a resposta do branco da amostra, identificável e reproduzível com desvio de precisão menor do que 20%. Foi obtida uma LOQ de $0,4\ \mu\text{g/mg}$ de tecido de ambos os fármacos, o que é um valor aceitável. A precisão na determinação dos fármacos Hidrocortisona e Cloridrato de cinchocaína foi de $100\% \pm 1\%$ e $100\% \pm 0,8\%$, se tratando de uma alternativa “verde” os valores obtidos foram excepcionais.

Todo o processo gera apenas 50g de resíduos em uma rotina de análise, o que nos traz um ganho ambiental enorme sendo que em rotinas normais de HPLC é comum o gasto excessivo de solventes. Outro ponto foi que o tamanho da coluna utilizado na fase estacionária é ligeiramente maior do que as usualmente usadas, a utilizada neste trabalho foi uma coluna de (4,6 x 250mm) e a usualmente usada em outro trabalho vistos é a de (4,6 x 150 mm), isso pode ser um diferencial na hora de se disseminar este método.

5.5. Fenoverina

A Fenoverina é um fármaco com propriedades antiespasmódicas e é indicado para espasmos musculares e distúrbios gastrointestinais. [24]

Na determinação do fármaco: Fenoverina (FEN) é utilizado o método RP-HPLC[24]. O foco deste artigo foi desenvolver um método onde seja possível fazer as análises de controle de qualidade do fármaco FEN utilizando como fase móvel solventes mais seguros, menos tóxicos e mais facilmente descartáveis.

Um dos focos do projeto também foi utilizar uma coluna que consumisse menos solvente por corrida, seguindo assim os princípios cinco e seis da química verde que são a busca por solventes e auxiliares mais seguros e a busca pela eficiência energética respectivamente.

A coluna utilizada foi a *Spherisorb C18* (150 x 4.6 mm, 3 μm tamanho da partícula). A fase móvel utilizada foi metanol e tampão acetato de amônio em uma proporção 81:19 v/v, em um fluxo de 1mLmin^{-1} . O detector utilizado foi um detector de matriz de diodos sendo o comprimento de onda utilizado 262nm. O tempo de retenção do analito foi de 7,9 min. O LOD obtido pelo método foi de $0,1\ \mu\text{g mL}^{-1}$ e o LOQ foi de $0,3\ \mu\text{g mL}^{-1}$.

Este trabalho trouxe um método extremamente limpo em comparação com outros métodos publicados a respeito da análise deste fármaco pois utiliza metanol como solvente principal e utiliza uma quantidade muito menor do solvente devido as características de sua coluna. O metanol traz outra vantagem pois para o método desenvolvido o descarte mais apropriado é a incineração, ela é mais favorável ao invés da destilação segundo o “*eco indicator 99*” [25].

5.6. Análise dos dados

Tendo estes trabalhos como base é possível ver que o uso dos álcoois básicos (etanol e metanol) estão sendo os preferidos para a substituição dos solventes mais agressivos ao meio ambiente como por exemplo a acetonitrila[26]. O uso destes solventes traz à tona um dos princípios da química verde que é a busca pelo uso de matérias primas de fontes renováveis.

O método mais utilizado nestes trabalhos foi o RP-HPLC, ele traz inúmeras vantagens devido à natureza de seus analitos serem em sua grande maioria compostos orgânicos que apresentam polaridade mais alta e volatilidade mais baixa ou ainda elevada instabilidade térmica.

Entretanto um método que aparece como um grande candidato a ser o método mais utilizado futuramente é o HPTLC. Suas características permitem a análise de várias amostras em uma única corrida de forma a se economizar tempo e reagentes, mesmo o RP-HPLC tendo uma vantagem distinta sobre o método HPTLC em termos de sensibilidade, resolução, economia financeira e é compatível com uma ampla gama de detectores[27]. Com futuras pesquisas com foco neste método, novas metodologias mais econômicas e ecológicas podem surgir e tornar este o método principal para análises de controle de qualidade farmacológicas.

6. CONCLUSÕES

A partir das primeiras pesquisas pode se concluir que HPLC é muito importante no controle de qualidade na indústria farmacêutica, sendo que em geral a química verde ainda é um conceito pouco aplicado, seja por desconhecimento, por simplicidade ou por custo.

A partir dos dados coletados foi possível comprovar que os solventes mais utilizados foram os álcoois metanol e etanol. As colunas cromatográficas mais utilizadas foram as empacotadas do tipo C18.

Os princípios mais utilizados da química verde, foram: Economia de átomos, Solventes e Auxiliares mais seguros, e a busca pela eficiência energética.

Diversos países estão preocupados com um controle de qualidade mais verde em suas indústrias, mas os países dos trabalhos utilizados foram Brasil, Eslováquia, Egito e Índia.

Observando os resultados desta revisão, é possível observar a necessidade de mais trabalhos voltados para o controle de qualidade das indústrias farmacêuticas empregando métodos verdes, considerando a fabricação de medicamentos para a saúde humana e a enorme quantidade de análises diárias realizadas.

É possível que devido ao controle rigoroso das agências regulatórias o uso de métodos verdes acabe sendo coibido uma vez que a exigência é por métodos validados e certificados, que exigem investimento em pesquisas de novas metodologias o que pode resultar demorado, levando a preferir utilizar métodos já existentes.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesquisa bibliográfica deve ser complementada com o uso de diferentes bases de dados, especialmente o *SciFinder-CAS*, e aplicação de estratégias diferenciadas que devem permitir melhorar o retorno de registros e ampliar as possíveis conclusões com informação coletada, procurando gerar um produto (artigo, capítulo de livro, etc.)

Elaborar um projeto de mestrado com foco em desenvolvimento de métodos verdes em cromatografia líquida, pesquisando solventes orgânicos menos agressivos a saúde humana e ao meio ambiente que possam substituir por exemplo acetonitrila e metanol como componente da fase móvel para a determinação de medicamentos de larga produção.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] USO DE MEDICAMENTOS E MEDICALIZAÇÃO DA VIDA: recomendações e estratégias. Ministério da saúde
- [2] AKKARI, Alessandra Cristina Santos et al. Inovação tecnológica na indústria farmacêutica: diferenças entre a Europa, os EUA e os países farmaemergentes. *Gest. Prod.*, São Carlos, v. 23, n.2, p.365-380, jun. 2016.
- [3] ANVISA, A. N. D. V. SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira. Farmacopeia Brasileira, 6a edição, v. 1, p. 28, 2019.
- [4] Ahmed S, Islam Md. S., Ullah B, Biswas S.K., Azad Md. A. S., Hossain Md. S. A Review Article on Pharmaceutical Analysis of Pharmaceutical Industry According to Pharmacopoeias . *Orient J Chem* 2020;36(1)
- [5] Malviya, R.; Bansal, V.; Pal, O. P.; Sharma, P. K. (2010). «High performance liquid chromatography: a short review.». *Journal of Global Pharma Technology*. **2**: 2226
- [6] SKOOG, D. A; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., Princípios de Análise Instrumental, 6ª edição, Editora Bookman, 2009.
- [7] ANVISA, A. N. D. V. SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira. Farmacopeia Brasileira, 6a edição, v. 1, p. 40, 2019.
- [8] Anvisa é novo membro do ICH. Ministério da Saúde. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/anvisa-e-novo-membro-do-ich> acesso em: 01 de dez. de 2020.
- [9] GIL, E. S. Controle Físico-Químico de Qualidade dos Medicamentos. 3ª edição. São Paulo: Pharmabooks, 2010.
- [10] ROSENBERG, G. A ISO 9001 na Indústria Farmacêutica: Uma abordagem das Boas Práticas de Fabricação. Rio de Janeiro: E-Papers, 2000
- [11] MENEGHIN, L. Z.; ADAMS, A. I. H. Avaliação físico-química de cápsulas de diazepam manipuladas em farmácias magistrais de Passo Fundo/RS. *Revista Brasileira de Farmácia*, 67- 70, 2007
- [12] COLLINS, H. C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., Fundamentos de Cromatografia, Editora Unicamp, 2006.
- [13] WATSON, D. G. *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. 3 rd edition, Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone, 2012

- [14] KOEL, Mihkel. Do we need Green Analytical Chemistry? *Green Chemistry*. [S.I], p. 923-931. nov. 2016.
- [15] M. Kaljurand and M. Koel, Recent Advancements on Greening Analytical Separation, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2011, 41, 2–20.
- [16] Y. Gaber, U. Tornvall, M. A. Kumar, M. Ali Amin and R. Hatti-Kaul, *Green Chem.*, 2011, 13, 2021–2025.
- [17] POLIAKOFF, Martyn *et al.* Green Chemistry: Science and Politics of Change. *Science*. [S.I], p. 807-810. 2 ago. 2002.
- [18] A.E. Ibrahim, H. Hashem, M. Elhenawee, H. Saleh, Comparison between coreshell and totally porous particle stationary phases for fast and green LC determination of five hepatitis-C antiviral drugs, *J. Sep. Sci.* 41 (2018).
- [19] Tahisa M. Pedroso, Ana C.D. Medeiros, Herida R.N. Salgado, RP-HPLC×HILIC chromatography for quantifying ertapenem sodium with a look at green chemistry, *Talanta*, Volume 160, 2016, Pages 745-753,
- [20] A. J. Alpert, *J Chromatogr.* 499 (1990) 177-196
- [21] 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
- [22] 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
- [23] Saad, A.S., El-Ghobashy, M.R., Ayish, N.S. *et al.* Greenness assessment as per Eco-scale and AMVI metrics for the chromatographic assay of selected drugs in a semisolid dosage form and in tissues. *Chem. Pap.* 73, 683–691 (2019).
- [24] 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.
- [25] Goedkoop, Mark & Spriensma, R. (2001). The Eco-Indicator 99: A Damage Oriented Method for Life Cycle Impact Assessment.
- [26] Jimenez-Gonzalez, C.; Curzons, A. D.; Constable, D. J.; Cunningham, V. L. Expanding GSK's Solvent Selection Guide—Application of Life Cycle Assessment to Enhance Solvent Selections. *Clean Technol. Environ. Policy* 2004, 7(1), 42–50

- [27] ICH (2005) Validation of analytical procedures: methodology (Q2R1). International Conference on Harmonization, Food and Drug Administration, USA
- [28] Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa, Comparações Internacionais no Comércio de Produtos Farmacêuticos e Balança Comercial Brasileira de Medicamentos: Evolução em 10 anos; volume 6; São Paulo; 2015