



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS TOLEDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO LATU SENSU EM ANÁLISE
INSTRUMENTAL

LETICIA CRISTINA FIEBIG

ASPECTOS HISTÓRICOS E TÉCNICOS DA APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE
ESPECTROMETRIA ATÔMICA NA ANÁLISE DE IMPUREZAS INORGÂNICAS
ELEMENTARES EM INSUMOS E PRODUTOS DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

TOLEDO
2019

LETICIA CRISTINA FIEBIG

**ASPECTOS HISTÓRICOS E TÉCNICOS DA APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE
ESPECTROMETRIA ATÔMICA NA ANÁLISE DE IMPUREZAS INORGÂNICAS
ELEMENTARES EM INSUMOS E PRODUTOS DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização do curso de Pós-Graduação *Latu Sensu* em Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental.

Orientador: Prof. Me. Guilherme Felipe Lenz

TOLEDO

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

ASPECTOS HISTÓRICOS E TÉCNICOS DA APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE ESPECTROMETRIA ATÔMICA NA ANÁLISE DE IMPUREZAS INORGÂNICAS ELEMENTARES EM INSUMOS E PRODUTOS DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Por

LETICIA CRISTINA FIEBIG

Esse trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 07 de junho de dois mil e dezenove, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental, no Curso de Especialização em Análise Instrumental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Toledo. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados.

Após deliberação, a banca Examinadora considerou o **trabalho Aprovado**.

Prof. Me. Guilherme Felipe Lenz (Orientador)

Profa. Dra. Caroline Mariana de Aguiar (Membro – UTFPR Toledo)

Prof. Dr. Ricardo Zara (Membro – UTFPR Toledo)

***A versão assinada encontra-se arquivada na Coordenação da Especialização.**

RESUMO

A presença de algumas impurezas orgânicas e elementares em insumos, excipientes e amostras farmacêuticas em geral tem causado preocupação na indústria farmacêutica, com isso estas devem ser monitoradas e controladas. Anteriormente, a Farmacopeia Norte-Americana (*The United States Pharmacopeia*, USP) trazia o capítulo <231> *Heavy Metals* (Metais Pesados), métodos colorimétricos também conhecidos como “teste de limite de metais”, que se baseava na precipitação de 10 elementos químicos ou ainda a análise por Espectroscopia de Absorção Atômica por Forno de Grafite (*Graphite furnace atomic absorption*, GFAAS), que possibilita a obtenção de resultados quantitativos. Em 2008, foi formada a Conferência Internacional sobre Harmonização de Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (*The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, ICH) que, juntamente com a USP, propuseram uma modernização para os métodos de instrumentação para teste de impurezas elementares, surgindo assim a partir da 41ª edição da Farmacopeia Americana os capítulos <232> *Elemental Impurities – Limits* (Impurezas elementares – Limites) e <233> *Elemental Impurities – Procedures* (Impurezas Elementares – Procedimentos), que tratam dos limites e metodologias de análises por métodos espectrométricos - Espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, ICP-OES) e Espectrometria de Massas por plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS). Estas técnicas têm a capacidade de realizar análises multielementares (mais de 70 elementos simultaneamente) com alta sensibilidade de detecção (mg/L até ng/L). O presente trabalho tem o objetivo de estabelecer aspectos históricos e técnicos de análises qualitativas e quantitativas aplicadas na indústria farmacêutica no controle de impurezas elementares.

Palavras-chave: ICP, USP, Medicamentos.

ABSTRACT

The presence of some organic impurities and elementaries in inputs, excipients and examples pharmaceuticals in the global pharmaceutical industry, with these should be monitored and blind. Previously, a North American Pharmacopoeia (USP), bringing the chapter on Heavy Metals, colorimetric methods also known as "boundary test of metals", which was based on the sequence of 10 chemical elements. or an analysis by Atomic Absorption Spectroscopy by Graphite Furnace (Atomic Absorption Graphite Furnace, GFAAS), which allows obtaining quantitative results. In 2008, an International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceutical Products for Human Use was formed, which, together with USP, proposed a modernization for the instrumentation methods for testing elemental impurities, proceeding from the 41st edition Elemental Impurities - Limits (Elementary Impurities - Limits) and <233> Element Impurities - Element Impurities - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES) and Mass Spectrometry inductively coupled plasma (inductively coupled plasma coupled mass spectrometry, ICP-MS). Key to the analyze multi-detecting analytics multi-elementary detectors with major frequency testing (mg/L up to ng/L). The present work has the objective of establishing historical and technical aspects of qualitative and quantitative analyzes applied in the pharmaceutical industry in the control of elemental impurities.

Keywords: ICP, USP, Medicines.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - POTENCIAIS FONTES DE CONTAMINAÇÃO DE INSUMOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR ELEMENTOS E OS PROCESSOS RELACIONADOS.....	17
FIGURA 2 - LINHA DO TEMPO DAS NORMAS REFERENTES ÀS IMPUREZAS ELEMENTARES EM MEDICAMENTOS	24
FIGURA 3 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS RECUPERAÇÕES (EM %) DE 14 ELEMENTOS ANALISADOS PELO MÉTODO <231> DA USP E O MÉTODO PROPOSTO PELOS AUTORES VIA ICP-MS.....	30
FIGURA 4 - LIMITES DE EXPOSIÇÃO DIÁRIA PERMITIDA (MG/DIA) POR VIA ORAL, PARENTAL E INALAÇÃO, PROPOSTAS PELA USP E ICH.....	31
FIGURA 5 - COMPONENTES DO ICP-OES.....	36
FIGURA 6 - SISTEMA ICP-MS E SUAS PARTES. AMOSTRA (A), NEBULIZADOR (B), AEROSSOL (C), CÂMARA DE NEBULIZAÇÃO (D), TOCHA (E), CONE DE AMOSTRAGEM (F), SKIMMER CONE (G), LENTES IÔNICAS (H), ANALISADOR DE MASSAS (I), SISTEMA DE DETECÇÃO (J), BOMBAS DE VÁCUO TURBO-MOLECULAR (K E L) E BOMBA DE VÁCUO MECÂNICA (M).....	40

LISTA DE SIGLAS

Ag	- Prata
AL	- Alumínio
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API's	- Ingredientes Farmacêuticos Ativos (<i>Active Pharmaceutical Ingredients</i>)
As	- Arsênico
Au	- Ouro
B	- Boro
Ba	- Bário
Bi	- Bismuto
Ca	- Cálcio
CCD	- Dispositivo de carga acoplada (<i>Charge Coupled Devices</i>)
Cd	- Cádmi
CID	- Dispositivos de carga de Injeção (<i>Charge Injection Devices</i>)
Co	- Cobalto
CPP	- Parâmetro Crítico de Processo
Cr	- Crômio
CTD's	- Dispositivos de Transferência de Carga (<i>Charge Transfer Devices</i>)
Cu	- Cobre
DCB	- Denominação Comum Brasileira
EEE	- Espaço Econômico Europeu
EMA	- Agência de Medicina Europeia
EUA	- Estados Unidos da América (<i>United States of America</i>)
FAAS	- Espectro de Absorção Atômica por Chama (<i>Flame Atomic Absorption Spectroscopy</i>)
FDA	- Administração de Alimentos e Medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i>)
Fe	- Ferro

GC-ICP-MS	- Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (<i>Gas Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
GFAAS	- Espectrometria de Absorção Atômica com Chama com Forno de Grafite (<i>Graphite Furnace Atomic Absorption</i>)
Hg	- Mercúrio
HGAA	- Absorção Atômica por Geração de Hidretos (<i>Hydride Generation Atomic Absorption</i>)
HPLC-ICP-MS	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (<i>High Performance Liquid Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
ICH	- Conferência Internacional sobre Harmonização de Requisitos Técnicos para Drogas Humanas (<i>International Conference on Harmonisation Of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>)
ICP	- Espectrometria com Acoplamento de Plasma Indutivo (<i>Inductively Coupled Plasma Spectrometry</i>)
ICP-MS	- Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>)
ICP-OES	- Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
IFA	- Insumo Farmacêutico Ativo
Ir	- Irídio
IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
K	- Potássio
Li	- Lítio
Mg	- Magnésio
Mn	- Manganês

Mo	- Molibdênio
Na	- Sódio
Ni	- Níquel
Os	- Ósmio
Pb	- Chumbo
Pd	- Paládio
PDE	- Exposição Diária Permitida
Pt	- Platina
QA / QC	- Garantia de Qualidade e Controle de Qualidade (<i>Quality Assurance and Quality Control</i>)
RF	- Radiofrequência
Rh	- Ródio
Ru	- Rutênio
Sb	- Antimônio
Se	- Selênio
Sn	- Estanho
Tl	- Tálho
UE	- União Europeia
USP	- Farmacopeia Norte Americana (<i>The United States Pharmacopeia</i>)
V	- Vanádio
W	- Tungstênio
Zn	- Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO GERAL.....	15
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	IMPUREZAS ELEMENTARES (METAIS) EM INSUMOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS	16
3.1	Medicamento	22
3.2	Legislação.....	23
3.2.1	ANVISA.....	24
3.2.2	FDA.....	25
3.2.3	EMA	25
3.3	ICH - Conferência Internacional Sobre Harmonização De Requisitos Técnicos Para Drogas Humanas	26
3.4	Capítulo “<231> <i>Heavy Metals</i> ” Da Usp: Teste De Metais Pesados	27
3.5	Capítulo “< 232> Elemental Impurities – Limits” Da Usp: Impurezas Elementares - Limites	30
3.6	Capítulo “<233> Elemental Impurities – Procedures” Da Usp: Impurezas Elementares – Procedimentos	31
3.7	Plasma Indutivamente Acoplado (<i>Inductively Coupled Plasma, ICP</i>)	33
3.8	Espectrometria De Emissão Óptica Por Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES</i>)	35
3.9	Espectrometria De Massa Por Plasma Acoplado Indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS</i>)	39
3.10	Preparo Das Amostras	42
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um mercado farmacêutico promissor e em crescimento, que promove uma busca por medicamentos de alta qualidade pelo consumidor. Durante o processo de fabricação dos produtos farmacêuticos podem ocorrer algumas contaminações por resíduos metálicos potencialmente prejudiciais a saúde humana (COELHO, 2016).

Com isso, alguns órgãos como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil, a Farmacopeia Norte Americana (*The United States Pharmacopoeia*, USP), a Administração de Alimentos e Medicamentos (*Food and Drugs Administration*, FDA) e a Agência de Medicina Europeia (*European Medicines Agency*, EMA) no âmbito internacional, descrevem legislações para garantir a qualidade dos medicamentos a serem produzidos abrangendo, entre outras coisas, o controle e monitoramento de contaminantes, principalmente elementos potencialmente tóxicos, o que abrangem em maioria as análises de metais pesados presentes nos medicamentos, assim como estabelecer a exposição máxima aos elementos segundo sua toxicidade (COELHO, 2016; THOMAS, 2018).

A presença de algumas impurezas orgânicas e elementares em insumos, excipientes e amostras farmacêuticas em geral tem causado preocupação na indústria farmacêutica, não só porque alguns contaminantes são perigosos e inerentemente tóxicos ao corpo humano, mas também porque sua presença pode prejudicar a estabilidade dos medicamentos e, por consequência, seu prazo de validade, e podendo causar também alguns efeitos colaterais indesejados a quem os consumir quando submetidos a uma exposição maior que a permitida pelos órgãos reguladores (LIBA *et al.*, 2014).

Estas impurezas inorgânicas elementares (comumente chamadas como metais pesados) podem ser originadas de diversas fontes, como contaminação em fases do processo de fabricação (RAO e TALLURI, 2007). Isso porque os fabricantes de medicamentos devem garantir que os elementos considerados como impurezas elementares não estejam presentes nos insumos e produtos fabricados ou, se presentes, que estejam em concentração dentro do limite de Exposição Diária Permitida

(*Permitted Daily Exposure*, PDE), além de manter sob controle as principais fontes de contaminação. Com isso, as impurezas inorgânicas (e também orgânicas) devem ser monitoradas e controladas pelo controle de qualidade existente nas indústrias farmacêuticas através de algumas análises, como doseamento, identificação ou análise de impurezas, podendo as mesmas serem qualitativas ou quantitativas (THOMAS, 2018).

A preocupação com a presença de impurezas elementares ocorre desde o início do século XX. Com isso, foi introduzida pela USP em 1908 a análise referente à identificação destas impurezas elementares em produtos farmacêuticos com a publicação do capítulo “<231> *Heavy Metals*” (Metais Pesados). Este teste colorimétrico, também conhecido como “teste de limite de metais”, se baseava na precipitação de 10 elementos: Ag, As, Bi, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb e Sn. O resultado obtido com a precipitação de cátions dos metais presentes na amostra na forma de sais de sulfeto em solução aquosa era comparado visualmente com uma solução padrão de Pb (II) para determinar o cumprimento do limite na determinação de metais pesados. Pelo mesmo, foram estabelecidos os limites de conformidade de elementos como arsênio, bismuto, cádmio, cobre, estanho, mercúrio e molibdênio (GARCIA, 2016; LIBA *et al.*, 2014; THOMAS, 2018; USP, 2015; VAN, 2013).

Esse procedimento de análise foi utilizado por mais de 100 anos, mesmo tendo passado por algumas revisões. Porém, com o passar do tempo e a modernização das técnicas analíticas referentes a análises de impurezas elementares, tornou-se necessário sua atualização e conseqüentemente sua modernização. Este capítulo da USP não era seletivo, além de apresentar diversas desvantagens, tais como exatidão da análise por comparação visual, o uso de quantidades altas de amostra, a toxicidade dos reagentes utilizados na análise, a perda de alguns elementos voláteis da amostra quando empregada decomposição em mufla, além de não fornecer informações específicas para cada elemento (LEWEN, 2004).

O capítulo <231> da USP engloba, em sua maioria, metais de alta toxicidade. Entretanto, os novos capítulos <232> e <233> da USP, por sua vez, englobam vários outros elementos que são possíveis contaminantes. Isto porque uma vez que os resíduos metálicos não possuem nenhuma função terapêutica ao paciente, se faz

necessária uma avaliação destes, para que o fármaco esteja dentro de especificações de qualidade e segurança, não acarretando assim danos à saúde do consumidor final (GARCIA, 2016).

Esses resíduos metálicos presentes em substâncias farmacêuticas podem ser originários de diversas fontes, tais como: catalisadores e reagentes metálicos que foram usados durante a síntese do princípio ativo ou excipientes utilizados na formulação; contato com equipamentos, tubulações, embalagens, solventes, entre outros utilizados durante a fabricação, síntese ou ainda transporte destes ingredientes farmacêuticos ativos (API); e posteriormente na fabricação do medicamento final (EMA, 2008; GARCIA, 2016).

Com exceções de As e Pb, todos os demais elementos conhecidos como catalisadores metálicos são denominados metais de transição, estes por sua vez são largamente utilizados na indústria farmacêutica e seus fornecedores. Os metais de transição são definidos pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) como “um elemento cujo átomo possui um subnível d incompleto ou que possa vir a formar cátions com um subnível d incompleto” (GARCIA, 2016).

Com isso, no início dos anos 2000, a USP juntamente com a Conferência Internacional sobre Harmonização de Requisitos Técnicos para Drogas Humanas (*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, ICH), começaram a publicar novas normas com o objetivo de especificar, padronizar e modernizar as análises de impurezas elementares em produtos farmacêuticos. Em 2008, foi publicado o Guia de Limites de Especificação de Resíduos de Catalisadores Metálicos, que trazia os metais classificados levando em consideração sua toxicidade e seus limites permitidos (BLANKE, PHARM. FÓRUM, 1995; EMA, 2008)..

A USP, a partir da sua 41ª edição em 2010, substituiu seu capítulo <231> pelos novos capítulos “<232> *Elemental Impurities – Limits*” (Impurezas Elementares – Limites) e “<233> *Elemental Impurities – Procedures*” (Impurezas Elementares – Procedimentos), indicando o uso de métodos espectrométricos para este tipo de análise: Espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, ICP-OES) e

Espectrometria de Massas por plasma indutivamente acoplado (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS) (BLANKE, PHARM. FÓRUM, 1995; EMA, 2008).

O uso destas técnicas instrumentais solucionaram os problemas do método anterior, que não dava a concentração individual de cada elemento, além da variabilidade potencial associada a uma análise de comparação visual. De um modo geral, para que uma amostra possa ser analisada utilizando qualquer que seja a técnica por ICP, se faz necessário que a mesma seja convertida para uma solução representativa, fazendo com que o seu preparo geralmente envolva digestão ácida assistida por radiação micro-ondas é o método indicado pela USP (BLANKE, PHARM. FÓRUM, 1995; GARCIA, 2016).

As técnicas de ICP-OES e ICP-MS tem a capacidade de realizar análises multielementares com alta sensibilidade de detecção para analito na ordem de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Além disso, permitem realizar análise multielementares, garantem maior precisão em suas medidas, assim como robustez nas análises farmacêuticas (LIBA *et al.*, 2014).

O ICP-OES é uma técnica capaz de determinar mais de 70 elementos simultaneamente, sendo baseada na excitação dos elementos em um plasma indutivamente acoplado gerado pela passagem de gás argônio através de um conjunto concêntrico de tubos de quartzo envoltos num intenso campo de radiofrequência. Assim, os átomos e íons, ao retornarem para o estado fundamental, emitem fótons que são separados pelo espectrômetro óptico e medidos por um sistema de detecção (PHARM. FORUM, 2013; USP, 2015).

Já o ICP-MS é uma poderosa técnica para a determinação de elementos em nível de traços ($\mu\text{g}/\text{L}$ e ng/L) e para análises isotópicas. A capacidade multielementar, associada à sua alta sensibilidade, possibilita elevado desempenho para análises de rotina e com rapidez. Por outro lado, um dos aspectos críticos para a técnica de ICP-MS é a ocorrência de severos processos de interferências matriciais, que exige criteriosa seleção de condições de calibração (PHARM. FORUM, 2013; USP, 2015).

Sob condições típicas de operação, as técnicas de ICP-OES e ICP-MS apresentam eficiência qualitativa e quantitativa para ionização de 90% ou mais para cerca de metade dos elementos da tabela periódica, mesmo quando apresentar apenas traços do elemento a ser quantificado ou apenas identificado (LIBA *et al.*, 2014).

2 OBJETIVO GERAL

Estabelecer os aspectos históricos e técnicos da aplicação das técnicas quantitativas e qualitativas utilizando espectrometria atômica e por plasma indutivamente acoplado na análise de impurezas inorgânicas elementares em insumos e produtos aplicados a indústria farmacêutica.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o processo histórico da análise de impurezas inorgânicas em insumos e produtos da indústria farmacêutica e as técnicas analíticas empregadas.
- Discutir o método colorimétrico de análise de impurezas inorgânicas anteriormente presente na USP, abordando suas limitações.
- Elencar o processo histórico e as motivações que levaram a alteração do capítulo <231> e a criação dos capítulos <232> e <233> da USP.
- Relacionar os tópicos discutidos no ICH entre outros órgãos, sobre a análise de impurezas elementares em insumos e produtos da indústria farmacêutica.
- Apresentar métodos de detecção de metais quantitativos e qualitativos utilizando as técnicas de ICP OES e ICP MS, aplicadas à indústria farmacêutica.
- Realizar o levantamento de requisitos técnicos para a implantação do ICP-OES e ICP-MS para o cumprimento dos capítulos <232> e <233> da USP na indústria farmacêutica.

3 IMPUREZAS ELEMENTARES (METAIS) EM INSUMOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS

A evolução da natureza e do homem está diretamente relacionada à presença dos metais no meio ambiente, assim como a sua influência sobre os processos bioquímicos nos seres vivos, o que é comprovada atualmente por diversas pesquisas (RÜBENSAM, 2004). Mas, os ciclos biogeoquímicos foram desequilibrados por ações antropogênicas. Um exemplo que pode ser citado desta influência são os registros dos níveis de chumbo em amostras de gelo da Groenlândia (SHIBAMOTO e BJELDANES, 2014). Ou seja, as impurezas podem ser consideradas como um “mal necessário”, porém respeitando os limites cada vez mais seguros para seu controle. Com isso crescentemente estão sendo aceitas estratégias onde é medida a necessidade do paciente versus as necessidades comerciais (HOLM e ELDER, 2016).

Além disso, a conclusão dos ciclos biogeoquímicos acontece com a sedimentação destes metais na crosta terrestre. Este é um processo lento, ao contrário da extração e das ações humanas que, por sua vez, são muito rápidas. Logo, a permanência desses metais no meio ambiente causa efeitos adversos à saúde humana e ao ecossistema (SPIRO e STIGLIANI, 2009).

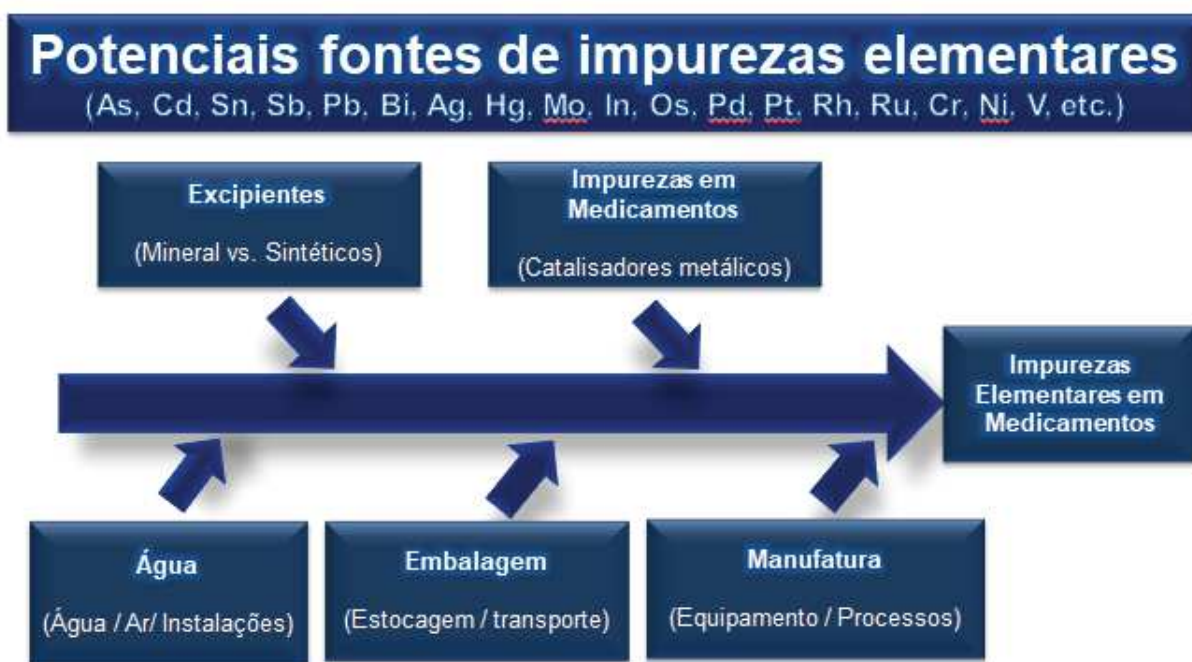
Os metais fazem parte de vários processos metabólicos dos seres vivos. Alguns desses processos incluem os elementos em seus sistemas bioquímicos essenciais, enquanto outros podem causar como resultado danos à saúde por não apresentarem função biológica relevante (VALLS e LORENZO, 2002). Além disso, alguns metais que são considerados essenciais em doses elevadas são tóxicos, como é o exemplo do ferro e do cobre ou ainda se tornam tóxicos por se acumularem no corpo humano (BRYRNS e PENNING, 2012).

Metais potencialmente tóxicos podem ser introduzidos no corpo humano por diversas fontes de exposição, estas podendo ser: os alimentos, os medicamentos, o ar atmosférico ou ainda pela água consumida. Além disso, com as inovações tecnológicas nas ciências farmacêuticas e médicas, a ingestão de elementos tóxicos tem aumentado significativamente, o que impõe graves riscos de problemas à saúde mesmo que a ingestão seja em pequenas concentrações (BALARAM, 2016).

As impurezas elementares podem ser oriundas da adição intencional de catalisadores na síntese do insumo farmacêutico ativo (IFA) ou podem ocorrer naturalmente como contaminantes ambientais de IFAs e excipientes utilizados na formulação e produção do medicamento, interações entre os equipamentos da rota de fabricação e o contato de embalagens primárias com o produto acabado. As potenciais fontes de contaminação são mostradas no diagrama da Figura 1 (THOMAS, 2018).

Excipientes e APIs, que são altamente refinados antes de usar, como é o exemplo da celulose e excipientes sintéticos, como povidona, têm níveis muito baixos de impurezas elementares. Já certos excipientes apresentam níveis relativamente elevados destas impurezas elementares e são purificados antes do uso, como carbonato de cálcio, talco, dióxido de titânio (THOMAS, 2018).

FIGURA 1 - POTENCIAIS FONTES DE CONTAMINAÇÃO DE INSUMOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS POR ELEMENTOS E OS PROCESSOS RELACIONADOS



Fonte: adaptado de BALARAM (2016).

Devido às impurezas elementares não fornecem nenhum benefício terapêutico para o paciente, seus níveis no medicamento devem ser controlados dentro de limites que são considerados aceitáveis pela legislação. Um exemplo de impurezas

adicionadas intencionalmente ocorre pelo uso de catalisadores e reagentes metálicos, como ferro, para a produção de ingredientes farmacêuticos ativos; prata e ouro que podem estar contidos em agentes antimicrobianos; contrastes de imagem com bário, gadolínio, ferro, manganês e sódio; lítio que podem estar presente em medicamentos para doença psicótica; ou até mesmo agentes de quimioterapia à base de platina (BALARAM, 2016).

Também devemos considerar excipientes como manitol, lactose e gelatina são sintetizados por catalisadores metálicos (ELDER, 2016). Além desse fato, elementos como o arsênio, mercúrio e chumbo são considerados mais tóxicos principalmente por apresentarem caráter acumulativo (RAO e TALLURI, 2007).

No processo de estabelecer o controle para as impurezas elementares, Tabela 1, deve-se ter o conhecimento do seu potencial toxicológico, que é instituído para cada impureza baseando-se pelo limite máximo permitido de exposição diária (*Permitted Daily Exposure*, PDE), assim como realizar avaliação de risco considerando sua via de administração oral, parenteral ou inalatória. Para estabelecer os PDE's, expressos em µg/dia, são considerados alguns fatores como: o estado de oxidação do elemento presente no medicamento (ex.: Cr⁶⁺ e Cr³⁺), a exposição humana junto aos dados de segurança, estudos relevantes já realizados anteriormente em animal e via de administração do medicamento (GARCIA, 2016; ICH, Q3D, 2014).

Com isso, esses elementos foram divididos em três classes baseadas na sua toxicidade e na probabilidade de sua ocorrência no medicamento. Estas classes e suas características estão listadas no Quadro 1, que é composta por três classes com seus respectivos elementos: Classe 1 que são tóxicos para seres humanos e têm uso limitado ou proibido para a fabricação de produtos farmacêuticos; Classe 2 que são tóxicos aos seres humanos dependendo da rota, a mesma ainda é dividida em duas subclasses 2A e 2B com base na sua probabilidade relativa de ocorrência no medicamento; e por último a Classe 3 que são conhecidos pela toxicidade relativamente baixa por administração via oral (GARCIA, 2016).

Esta probabilidade de ocorrência citada anteriormente é derivada de vários fatores, entre eles: probabilidade de uso em algum processos farmacêuticos,

probabilidade de ser uma impureza co-isolada com outras impurezas, a abundância natural e distribuição ambiental do elemento (GARCIA, 2016).

TABELA 1 - IMPUREZAS ELEMENTARES, SUA CLASSIFICAÇÃO E LIMITES DE PDE PARA ANÁLISE EM PRODUTOS E INSUMOS FARMACÊUTICOS.

Elemento	Classe	Limite PDE, µg/dia			Avaliação de risco		
		O	P	I	O	P	I
Cd	1	5	2	2	Sim	Sim	Sim
Pb	1	5	5	5	Sim	Sim	Sim
As	1	15	15	2	Sim	Sim	Sim
Hg	1	30	3	1	Sim	Sim	Sim
Co	2 ^a	50	5	3	Sim	Sim	Sim
V	2 ^a	100	10	1	Sim	Sim	Sim
Ni	2 ^a	200	20	5	Sim	Sim	Sim
Tl	2B	8	8	8	Não	Não	Não
Au	2B	100	100	1	Não	Não	Não
Pd	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Ir	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Os	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Rh	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Ru	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Se	2B	150	80	130	Não	Não	Não
Ag	2B	150	10	7	Não	Não	Não
Pt	2B	100	10	1	Não	Não	Não
Li	3	550	250	25	Não	Sim	Sim

Sb	3	1200	90	20	Não	Sim	Sim
Ba	3	1400	700	300	Não	Não	Sim
Mo	3	3000	1500	10	Não	Não	Sim
Cu	3	3000	300	30	Não	Sim	Sim
Sn	3	6000	600	60	Não	Sim	Sim
Cr	3	11000	1100	3	Não	Sim	Sim

ADMINISTRAÇÃO ORAL (O), PARENTAL (P) OU INALATÓRIA (I).

Fonte: adaptado de POHL *et al.* (2018).

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS IMPUREZAS ELEMENTARES E SUAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS

Classe	Elementos	Características
1	As, Cd, Hg e Pb	Alta toxicidade para humanos; tem pouca ou nenhuma utilidade na fabricação de produtos farmacêuticos. Quando encontrados, em insumos e produtos farmacêuticos geralmente é oriunda de contaminações dos excipientes ou de sua rota produtiva. Estes elementos são onipresentes na natureza e devem ser avaliados em todas as avaliações de risco.
2 A	Co, Ni e V	Conhecidos por serem tóxicos ao ser humano e possuem uma alta probabilidade de estarem presentes nos medicamentos, pois são encontrados em materiais como aço inoxidável e outros materiais utilizados no processo de fabricação. Com isso devem ser avaliados em todas as avaliações de risco.
2 B	Ag, Au, Ir, Pb, Rh, Se e Ti	Conhecidos por serem tóxicos ao ser humano e possuem probabilidade reduzida de ocorrência em medicamentos. Normalmente são encontrados em baixa abundância na natureza e tem baixo potencial para ser co-isolado com outros materiais. Estes podem ser excluídos da análise de risco, exceto quando os mesmos sejam intencionalmente adicionados.
3	Ba, Cr, Cu, Li, Mo, Sb e Sn	Estes elementos possuem toxicidade relativamente baixa quando administrados por via oral, porém são considerados tóxicos em outras rotas de administração. Com isso, deve-se exigir serem considerados na análise de risco para medicamentos de administração por vias inalatórias e parentais quando. Já para rotas orais devem ser considerados apenas em casos de adição intencional.
Outros elementos	Al, B, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, W e Zn	Algumas impurezas elementares nas quais os PDE's não tenham sido estabelecidos devido às baixas toxicidades conhecidas. Importante ressaltar que apesar de terem baixa toxicidade, estes elementos podem comprometer funções importantes do organismo como.

Fonte: adaptado de THOMAS, 2018.

3.1 MEDICAMENTO

Segundo a ANVISA (2010), os medicamentos são considerados produtos criados com o intuito de diagnosticar, prevenir, amenizar sintomas e também curar doenças. Onde sua ação se dá devido a uma, duas ou mais substâncias, contidas no produto, cujas suas características terapêuticas são comprovadas cientificamente e estes recebem o nome de fármacos, drogas ou princípios ativos.

Há uma diferença entre medicamento e remédio. Os remédios podem ser definidos como sendo todo e qualquer tipo de cuidado realizado para amenizar ou curar dores, doenças, sintomas ou mal-estar. Alguns exemplos que poderiam se encaixar são: os chás caseiros, massagens, exercícios, medicamentos, entre outros. Já os medicamentos, por sua vez, podem ser definidos como sendo substâncias químicas produzidas em farmácias ou indústrias com extremo rigor e controle para satisfazer às especificações e normas de segurança, como também a qualidade e eficácia necessária. Isso se encaixa tanto nas etapas de pesquisa e desenvolvimento quanto todo o processo até a produção e comercialização, podendo estes medicamentos serem sintéticos ou extraídos de plantas medicinais (medicamentos fitoterápicos) (ANVISA, 2010).

Existem vários tipos de medicamento que são comercializados, podendo ser os de referência, os similares, os genéricos, entre outros, e há uma diferença entre eles. Segundo a ANVISA (ANVISA, 2019) o medicamento de referência é:

Um produto inovador, registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente por ocasião do registro, conforme a definição do inciso XXII, artigo 3º, da Lei n. 6.360, de 1976 (com redação dada pela Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999). O medicamento de referência é um status conferido ao medicamento que ingressa na Lista de Medicamentos de Referência e se torna parâmetro de eficácia terapêutica, segurança e qualidade para o registro dos medicamentos genéricos e similares.

Os medicamentos similares e genéricos são baseados em um medicamento de referência e seus fabricantes têm como obrigação apresentar à ANVISA seus testes de

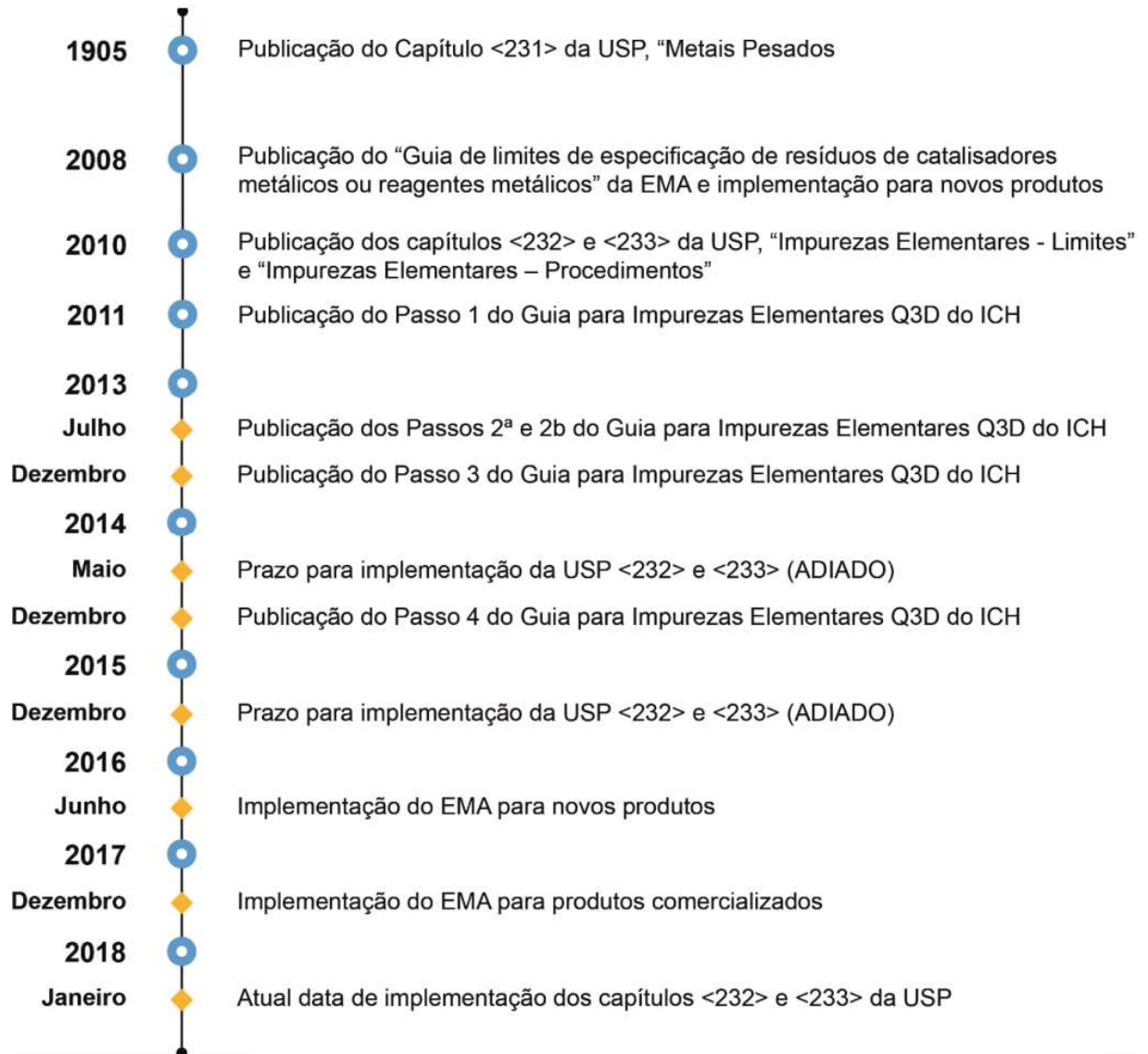
biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica, como descrito na Resolução RDC 134/2003 e Resolução RDC 133/2003, para similares e na lei de criação dos genéricos, a Lei 9.787/99, de 10/02/1999. Os medicamentos similares são aqueles que possuem todas as características do medicamento de referência, sendo estas: princípio(s) ativo(s), concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica; podem apresentar diferenças em relação à referência somente características com relação ao formato e tamanho do produto, excipientes, veículo e embalagens. Para medicamento genérico ou similar é obrigatório apresentar estudos de biodisponibilidade relativa e equivalência farmacêutica para que os mesmos tenham o registro no órgão federal responsável (ANVISA, 2019).

Os medicamentos genéricos são iguais aos de referência, tanto na qualidade, princípio ativo, dose, via de administração, posologia, eficácia terapêutica e segurança, porém seu nome comercial se dá a partir da denominação química do(s) ativo(s) utilizado(s) de acordo com a Denominação Comum Brasileira (DCB). O medicamento de referência pode ser substituído por um genérico pelo farmacêutico responsável sem nenhum problema, pois ambos apresentaram mesma eficiência de resultado (ANVISA, 2010).

3.2 LEGISLAÇÃO

Órgãos como a ANVISA que é brasileira, a USP e FDA que são Americanas e a EMA que é Europeia trabalharam juntas no âmbito internacional para descrever normas e legislações que devem ser seguidas para garantir a qualidade dos medicamentos produzidos em indústrias farmacêuticas. Juntos, estes órgãos legisladores vêm atualizando e implementando novas normas e legislações (Figura 1) desde 1905 até os dias de hoje (GARCIA 2016).

FIGURA 2 - LINHA DO TEMPO DAS NORMAS REFERENTES ÀS IMPUREZAS ELEMENTARES EM MEDICAMENTOS



Fonte: GARCIA, 2016.

3.2.1 ANVISA

Criada pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro 1999, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) está presente em todo o território nacional. Tem por finalidade institucional promover a proteção da saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção e consumo de produtos e serviços submetidos à

vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos, fronteiras e recintos alfandegados (ANVISA, 2019).

3.2.2 FDA

A *Food and Drug Administration* (na tradução livre “Administração de Drogas e Alimentos”, FDA) é uma agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (EUA), composta pelo Gabinete do Comissário e mais quatro divisões, que são as agências de produtos médicos e tabaco, de alimentos e medicina veterinária além de operações e políticas regulamentares globais e operações (FDA, 2019).

A FDA tem em seu escopo as seguintes responsabilidades: proteger a saúde pública, assegurando que medicamentos considerados como alimentos (nutracêuticos / suplementos alimentares) sejam seguros, saudáveis, sanitários e devidamente rotulados; garantir que medicamentos humanos e veterinários, vacinas e outros produtos de origem biológica sejam seguros, devidamente rotulados e eficazes, assim como ajudar a acelerar as inovações de produtos em que atua (FDA, 2019).

3.2.3 EMA

A *European Medicines Agency* (na tradução livre “Agência Europeia de Medicamentos”, EMA) por sua vez protege e promove a saúde humana e animal através da avaliação e do controle de medicamentos na União Europeia (UE) e no Espaço Econômico Europeu (EEE). Sua missão é promover a excelência científica na avaliação e supervisão de medicamentos, em benefício da saúde pública e animal. A mesma tem como principais responsabilidades autorizar e controlar medicamentos na UE. No âmbito das suas responsabilidades, a agência facilita o desenvolvimento de medicamentos e o acesso aos mesmos, avalia os pedidos de autorização de introdução no mercado, controla a segurança dos medicamentos ao longo de todo o seu ciclo de vida e fornece informações para profissionais de saúde e pacientes (EMA, 2019).

3.3 ICH - CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE HARMONIZAÇÃO DE REQUISITOS TÉCNICOS PARA DROGAS HUMANAS

O ICH é o principal Fórum Mundial de Harmonização de requisitos técnicos composto por autoridades de regulação e indústria farmacêutica. O mesmo começou a funcionar em 1990 e tem como objetivo reunir autoridades reguladoras e indústrias farmacêuticas em torno de discussões técnicas e científicas para registros de medicamentos. O conselho foi fundado inicialmente pelas agências de medicamentos dos EUA, da Europa e do Japão, além dos membros fundadores das indústrias. Atualmente, o ICH conta com um total de dez membros reguladores, incluindo a ANVISA e mais seis indústrias (ICH, 2019).

A atenção do ICH é direcionada para ampliar os benefícios da harmonização. Um passo significativo foi dado em 2015 quando o ICH foi estabelecido como uma associação internacional, o que fez com que passasse por uma série de mudanças organizacionais. Essas mudanças constituíram várias reformas, incluindo: aumento do alcance internacional; mudança na estrutura de governança; disseminar mais informações sobre seus processos para um número mais amplo de interessados e estabelecer a ICH como uma entidade legal para prover uma estrutura operacional mais estável. Esta etapa baseou-se em um histórico de 25 anos de entrega bem-sucedida de diretrizes harmonizadas para o desenvolvimento farmacêutico global, assim como sua regulamentação (ICH, 2019).

O ICH é formado por algumas subdivisões, entre elas estão: ICH Q3A, Q3B, Q2C e Q3D. A ICH Q3A fornece orientações sobre o conteúdo, identificação e qualificação de impurezas em novas API's produzidas por síntese química; ICH Q3B por sua vez fornece orientações sobre o conteúdo, identificação e qualificação de impurezas em novos medicamentos; já o ICH Q3C recomenda as quantidades aceitáveis de solventes residuais que são permitidos em API's e produtos farmacêuticos. Esta diretriz descreve os níveis considerados toxicologicamente aceitáveis para alguns solventes residuais baseados na PDE e recomenda o uso de alternativas menos tóxicas. O ICH Q3D recomenda as quantidades aceitáveis de resíduos elementares e impurezas permitidas em medicamentos que tem como

principal fonte os catalisadores residuais decorrentes da utilização de reações de acoplamento catalisadas durante a síntese da API. Essas abordagens recomendadas são ecologicamente corretas e normalmente diminuem os custos fazendo o processo mais eficiente e aumentando os rendimentos dos mesmos (HOLM e ELDER, 2016).

As impurezas ou produtos de degradação em novos medicamentos surgem como resultado da fabricação ou armazenamento dos mesmos. Estas são tipicamente originadas da degradação da API ou produtos de reação das API's com um auxiliar de processamento, com um excipiente ou ainda com os materiais de embalagem primários utilizados. Outra fonte contaminante é o uso de solventes inadequados, com isso o ICH Q3C traz que a seleção ideal dos solventes para a síntese de um API pode melhorar o rendimento e definir importantes características físico-químicas do mesmo. Portanto, o solvente utilizado na síntese pode às vezes ser um parâmetro crítico de processo (CPP) dentro do processo de síntese de um API (HOLM e ELDER, 2016).

O ICH tem como principal objetivo realizar recomendações que tem o sentido de harmonizar a interação e aplicação de diretrizes e requisitos necessários para realizar o registro de técnicas utilizadas em produtos farmacêuticos, assim como eliminar ou pelo menos reduzir as teses duplicadas durante a realização de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos direcionados ao uso humano. Ela tem como escopo de sua diretriz realizar lado a lado um processo de consenso científico entre as indústrias e os órgãos reguladores, com o intuito de garantir a harmonização desejada até a conclusão da pesquisa (ICH, 2014).

3.4 CAPÍTULO “<231> HEAVY METALS” DA USP: TESTE DE METAIS PESADOS

Este capítulo da USP descrevia uma metodologia de semi-quantitativa para a determinação de metais pesados, que se destinava apenas para detecção de um grupo de 10 elementos: Pb, Hg, As, Sb, Cd, Ag, Cu, Mo e Se. Ele não definia com clareza quais seriam os elementos individuais que o método esperava detectar e se limitava apenas por supor o mecanismo de reação que a amostra iria apresentar (PERKIN ELMER, 2016).

As análises sugeridas neste capítulo tinham seus resultados definidos pela comparação de uma amostra frente a uma solução padrão de chumbo com concentração 10 mg/L, o que se tornava um problema, pois além da variabilidade associada a uma comparação visual, as mesmas eram realizadas por diferentes analistas com diferentes interpretações. Além disso, não pode ser usado para a determinação de muitos elementos de interesse, como Cr, que é um elemento do grupo da platina muito usado como catalisadores de produção de IFA's e excipientes (GARCIA, 2016; PERKIN ELMER, 2016; THOMAS, 2018; USP, 2012).

O capítulo <231> descrevia três procedimentos que variavam de acordo com a amostra. O método I dependia da capacidade de obter os metais de interesse após dissolução em água para que posteriormente estes pudessem ser precipitados como o sal de sulfeto. Porém, muitos excipientes não são solúveis em água, tornando assim o método impraticável. Já o método II, mais comumente utilizado, baseava-se em incinerar a amostra a 500 °C - 600 °C seguido da dissolução ácida do resíduo. Entretanto, este procedimento é muito propenso a perdas por volatilização, tanto do analito quanto da matriz, o que dificulta a reprodutibilidade do método entre as análises, além de não recuperar o mercúrio. (THOMAS, 2018; USP, 2015). O método III empregava digestão ácida da amostra (USP, 2015).

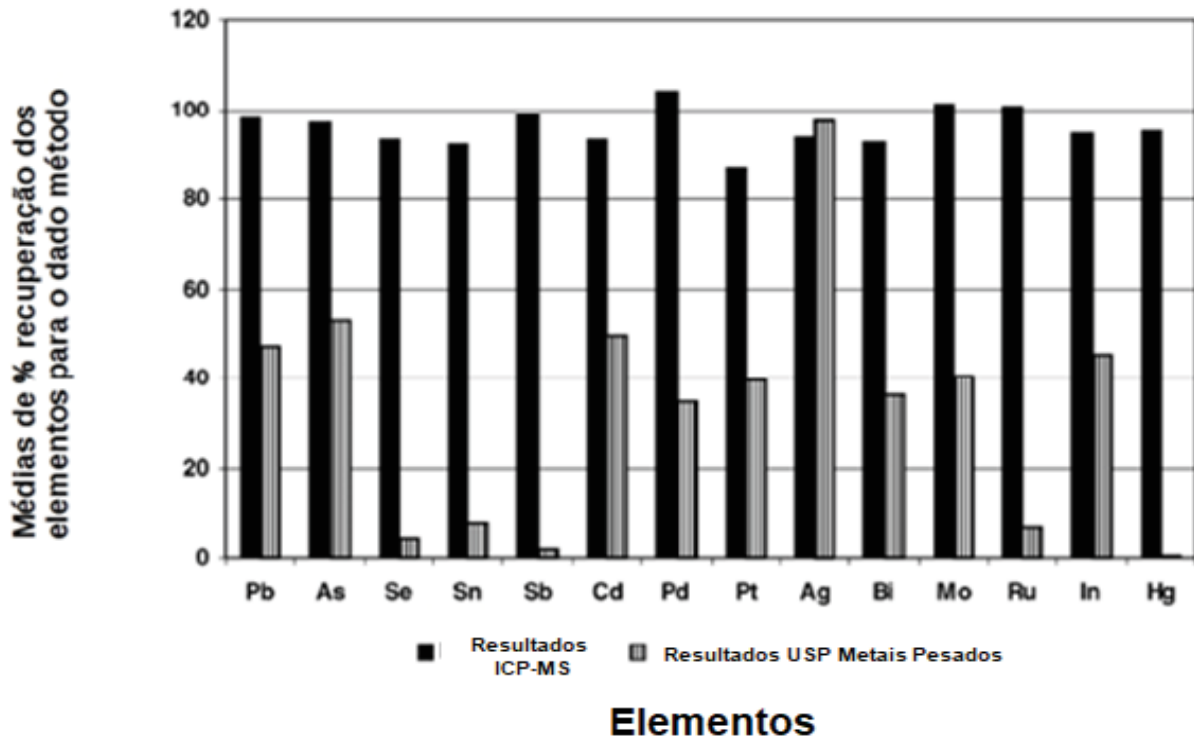
Estes métodos foram desenvolvidos antes do advento da moderna instrumentação analítica e se baseiam em conhecidas técnicas de via úmida. Como vantagens, essas técnicas podem ser facilmente transferidas de um laboratório para outros e não requerem instrumentação de alto valor nem analistas altamente treinados para realizá-las, porém, como ponto negativo, essas técnicas necessitam que uma grande quantidade de amostra, pois dependem de um exame visual, ou seja, são metodologias que utilizam acuidade visual, porque são realizados utilizando a comparação da solução amostra juntamente a uma solução padrão de chumbo que tipicamente correspondendo a uma concentração de 10-20 mg/L (LEWEN *et al.*, 2004; THOMAS, 2018).

Além disso, os métodos apresentados neste capítulo da USP não são capazes de fornecer resultados qualitativos ou específicos para cada elemento, não levando em conta a toxicidade de qualquer elemento individual nem sua quantificação com exatidão

além de, geralmente, envolver um passo de aquecimento ou incineração da amostra, o que causa perdas dos elementos voláteis e baixas recuperações, como mostra a Figura 3. Após a incineração da amostra, é necessário realizar uma reação (geralmente com ácido) para dissolução do resíduo metálico e posteriormente a formação de sulfeto dos elementos que possam estar presente na amostra (LEWEN *et al.*, 2004; THOMAS, 2018).

Levando tudo isso em consideração, a USP propôs em 2008 substituir o capítulo <231> pelos capítulos <232> "Impurezas Elementares - Limites", que estabelece limites baseados na segurança em impurezas elementares em produtos farmacêuticos, e <233> "Impurezas Elementares - Procedimentos", que estabelece critérios apropriados e precisos que propõem métodos modernizados para análise elementar (THOMAS, 2018; USP, 2008).

FIGURA 3 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS RECUPERAÇÕES (EM %) DE 14 ELEMENTOS ANALISADOS PELO MÉTODO <231> DA USP E O MÉTODO PROPOSTO PELOS AUTORES VIA ICP-MS



Fonte: adaptado de LEWEN *et al.*, 2004.

3.5 CAPÍTULO “< 232> ELEMENTAL IMPURITIES – LIMITS” DA USP: IMPUREZAS ELEMENTARES - LIMITES

O capítulo <232> da USP estabelece os limites de concentrações de impurezas elementares para os componentes de fármacos e excipientes considerando como base uma dose diária máxima de 10 g do medicamento. Além do PDE, as impurezas são baseadas em uma pessoa de 50 kg, sendo esses limites estabelecidos para cada um dos elementos e também para cada uma das vias de administração (via oral, parental ou inalada) considerando os casos de exposição crônica. O mesmo descreve a toxicidade das impurezas elementares com base na biodisponibilidade no ser humano. Para exemplificar, a Figura 4 mostra os limites de exposição diária por via oral, parental e inalação que são permitidas, segundo proposto pela USP e ICH, para algumas das impurezas elementares (ICH, 2014; PHARM FORUM <232>, 2013).

FIGURA 4 - LIMITES DE EXPOSIÇÃO DIÁRIA PERMITIDA (MG/DIA) POR VIA ORAL, PARENTAL E INALAÇÃO, PROPOSTAS PELA USP E ICH

Classificação ICH/Q3D	Elemento	Dose diária Oral EDP (µg/dia)		Dose diária Parental EDP (µg/dia)		Dose diária Inalação EDP (µg/dia)	
		USP	ICH	USP	ICH	USP	ICH
<i>Classe 1 - Alto risco à saúde quando administrados por qualquer via</i>	As	1,5	15	1,5	15	2,0	1,9
	Cd	0,5	5,0	0,2	6,0	2,0	3,4
	Pb	0,5	5,0	0,5	5,0	5,0	5,0
	Hg	3,0	40	0,3	4,0	1,0	1,2
<i>Classe 2a - Alto risco dependendo da via de administração</i>	V	10	120	1,0	12	1,0	1,2
	Ni	20	600	2	60	5,0	6,0
<i>Classe 3 - Toxicidade relativamente baixa</i>	Cu	300	1300	30	130	30	13
	Cr	1100	11000	110	1100	3,0	2,9

Fonte: adaptado de THAYER, 2013.

Este capítulo define também os limites máximos das impurezas utilizando como base o uso final do material, o que garante às indústrias farmacêuticas a determinação do nível aceitável de impureza no medicamento e excipiente usado na fabricação do produto final (PHARM. FORUM <232>, 2013).

3.6 CAPÍTULO “<233> ELEMENTAL IMPURITIES – PROCEDURES” DA USP: IMPUREZAS ELEMENTARES – PROCEDIMENTOS

O capítulo <233> da USP descreve dois procedimentos analíticos - um por ICP-OES e outro por ICP-MS. Além disso, descreve as etapas de preparação de amostras, de acordo com o estado e matriz das mesmas, podendo elas serem: (I) dissolução simples, que não necessita de diluição da amostra; (II) dissolução aquosa direta quando

a amostra é solúvel em água; (III) dissolução orgânica direta quando a amostra não é solúvel em água, mas sim em solventes orgânicos; (IV) dissolução indireta e digestão por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas. Este último é o método mais indicado pelo capítulo <233>, pois minimiza a perda dos elementos voláteis (PHARM. FORUM <233>, 2013).

Neste capítulo ainda é descrito dois procedimentos que podem ser usados para realizar a determinação dos níveis de impurezas elementares: o primeiro é a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) aplicada á elementos que são passíveis de detecção óptica e o segundo é a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) utilizada para elementos passíveis de detecção por massas, além de descrever também critérios para procedimentos alternativos que podem ser usados, com tanto que atendam aos requisitos de validação necessários (THOMAS, 2018).

Os procedimentos instrumentais analíticos do ICP-OES e ICP-MS são bastante genéricos, sem muitos detalhes como parâmetros instrumentais ou comprimentos de onda mais adequado para ser utilizado de ICP-OES ou ICP-MS. Eles apenas incluem um número de protocolos de Garantia de Qualidade e Controle de Qualidade (QA / QC) para garantir que o método utilizado irá funcionar corretamente. Estas ações deixam a critério do desenvolvedor qual a melhor metodologia a ser utilizada dependendo de sua capacidade técnica analítica (PERKIN ELMER, 2016). Este capítulo da USP traz também em seu conteúdo alguns procedimentos de análise necessários para validação de metodologias analíticas aplicadas a amostras de indústrias farmacêuticas (GARCIA, 2016).

A indicação da USP, nos seu capítulo <233>, pelo uso das técnicas de ICP-OES e ICP-MS deve-se, em parte, pelos limites de detecção alcançados por ambas as técnicas. O Quadro 2 compara os limites de detecção alcançados pelas técnicas de ICP com a Absorção Atômica por Chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*) e a Absorção Atômica por Geração de Hidretos (HGAA, do inglês *Hydride Generation Atomic Absorption*). Em geral, a técnica de FAAS apresenta limites de detecção mais elevados que as técnicas de ICP, o que pode inviabilizar a adoção da mesma na análise de impurezas elementares em produtos e insumos farmacêuticos. Já

a HGAA, mesmo atingindo limites de detecção abaixo do ICP-OES, não é aplicável a todos os elementos exigidos pela USP (THOMAS, 2018).

QUADRO 2 - LIMITES DE DETECÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS ALCANÇADOS PELAS PRINCIPAIS TÉCNICAS DE ANÁLISE ELEMENTAR.

Elemento	FAAS	HGAA	ICP-OES	ICP-MS
Ag	1,5	Não aplicável	0,6	0,00009
As	150	0,03	1	0,0004
Bi	30	0,03	1	0,00002
Cd	0,8	Não aplicável	0,1	0,00007
Cu	1,5	Não aplicável	0,4	0,0002
Hg	300	0,009	1	0,001
Mo	45	Não aplicável	0,5	0,00008
Pb	15	Não aplicável	1	0,00004
Sb	45	0,15	2	0,0002
Sn	150	Não aplicável	2	0,0002

Fonte: adaptado de THOMAS (2018).

3.7 PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (*INDUCTIVELY COUPLED PLASMA*, ICP)

A partir de 1965, o interesse em aplicar o plasma induzido na espectrometria foi aumentando progressivamente. Com isso, iniciou-se a fabricação de equipamentos usando a Espectrometria de Emissão Óptica (ou Atômica) por Plasma Indutivamente Acochado (ICP-OES) (GINÉ, 1998).

O ICP é uma técnica que se baseia na emissão de radiação eletromagnética gerada por átomos e íons excitados no plasma de argônio. A amostra é introduzida

geralmente na forma de líquido, sendo esta dessolvataada e os elementos atomizados / ionizados e excitados devido à elevada temperatura do plasma, emitindo radiação de diferentes extensões que são, em seguida, medidas (PERKIN ELMER, 2016).

O ICP utiliza um gás parcialmente ionizado que em sua formulação contém íons e elétrons em movimento. O mesmo é gerado através da passagem de gás argônio por um conjunto concêntrico de tubos de quartzo (a tocha), que estão imersos em um intenso campo de radiofrequência (RF) com energia de 27 ou 42 MHz e 2 kW de potência. Esta radiofrequência se encontra acoplada a uma serpentina de indução que tem como sistema de refrigeração a água, que se localiza na extremidade do tubo de quartzo. Esta energia é suficiente para acelerar as partículas ionizadas causando muitas colisões, resultando na ionização que resulta na emissão de radiação de fundo do argônio (SILVA, 2012). A temperatura no interior do ICP varia de 5000 a 10000 K, sendo a energia do plasma transferida principalmente através da colisão dos íons do gás com os demais átomos. Geralmente, é utilizado o argônio como gás do plasma, pois sua energia de ionização é de 15,76 eV, suficiente para conseguir ionizar a maioria dos elementos da tabela periódica (BECKER, 2007; DEAN, 2005; THOMAS, 2013).

A amostra líquida é introduzida através de um nebulizador situado dentro da câmara de nebulização. Este conjunto tem a função de converter o líquido em um fino aerossol. Na câmara de nebulização ocorre a separação das gotículas maiores e mais pesadas, as quais são drenadas, das gotículas menores e mais leves, consideradas uma forma mais homogênea do aerossol (SILVA, 2012).

Este aerossol fino é conduzido para o plasma, situado dentro da tocha, onde ocorre o processo de dessolvatação da amostra por aquecimento, se transformando em um aerossol seco que será volatilizado resultando em moléculas, átomos livres e íons. A fase de introdução da amostra é considerada uma das principais etapas da análise, pois afeta a precisão e também a exatidão dos resultados a serem gerados na análise. A transferência de energia do plasma para a amostra ocorre enquanto a amostra passa pelo canal central, o que faz com que a formação das espécies no plasma seja bem caracterizada (POLETTI, 2014; GINÉ, 1998; BLANDES, 1981; BOUMANS, 1987). Sinais de emissão atômica no ICP são muito maiores do que aqueles na chama utilizados na Espectrometria de Absorção Atômica com Chama com Forno de Grafite

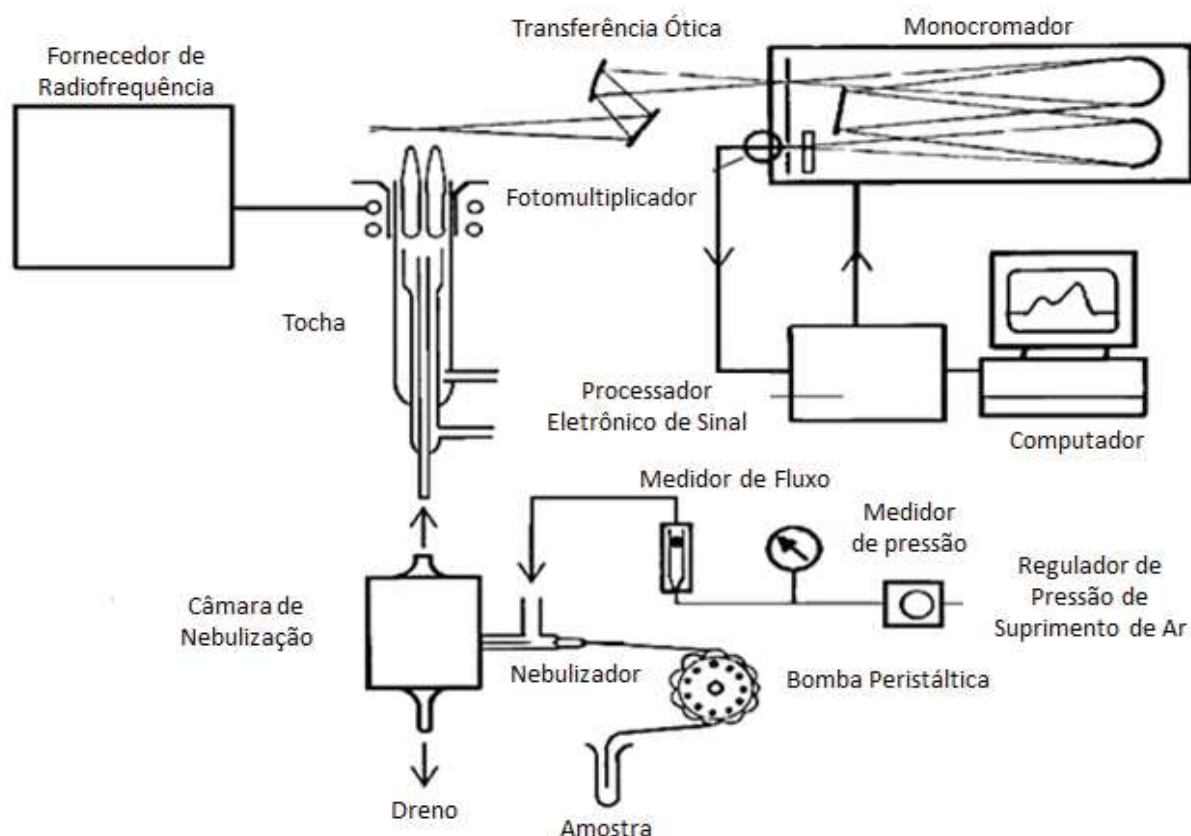
(Graphite Furnace Atomic Absorption – GFAAS), utilizando esse sinal mais intenso para quase todos os elementos é possível detectar-se e quantificar uma vasta gama de elementos. A alta temperatura e o ambiente inerte de argônio conduzem a uma atomização mais completa e eficiente excitação dos analito, resultando em sinais mais intensos. Sob condições típicas de operação, cerca de metade dos elementos da tabela periódica são ionizados com uma eficiência de 90% ou maior nas análises por ICP-OES e ICP-MS (SILVA, 2012).

A técnica de ICP é um processo que ocorre desde a introdução da amostra até esta chegar no plasma. A partir daí, ocorre à diferenciação entre as técnicas utilizando OES e MS. No ICP-OES, as linhas de emissão são separadas pelo espectrômetro e detectadas em forma de comprimento de onda. Já o ICP-MS, os íons que foram gerados no plasma são coletados e direcionados para passar pelo analisador de massas e então chegar ao detector, que tem como princípio a detecção da carga/massa de um íon gerado pelo plasma (GARCIA, 2016).

3.8 ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA POR PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE (*INDUCTIVELY COUPLED PLASMA OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY*, ICP-OES)

A Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) vem sendo amplamente empregada em análises elementares devido a uma série de vantagens, como: análise multielementar simultânea ou sequencial, rapidez, sensibilidade e alta precisão, e apresentar uma ampla faixa linear dinâmica (DALQUIST *et al.*,1978). O esquema geral das partes do ICP-OES é mostrado na Figura 5. amostras de líquido e gás podem ser injetadas diretamente no instrumento, enquanto amostras sólidas requerem extração ou digestão ácida para que os analitos presentes na solução que é injetada no equipamento quando convertida em um aerossol que direciona esta solução de pequenas gotículas para o canal central do plasma (HOU e JONES, 2000).

FIGURA 5 - COMPONENTES DO ICP-OES



Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 1999).

Na técnica de ICP-OES, átomos e íons são excitados para emitir radiação eletromagnética. Esta, por sua vez, é coletada e resolvida (ou seja, separada) com a ajuda de ótica difrativa e a intensidade da luz emitida é medida por um detector de resposta rápida do tipo CCD ou CID, onde os comprimentos de onda são usados para a identificação dos elementos, enquanto que a intensidade da radiação é proporcional a concentração do analito de interesse presente na amostra analisada (MANNING & GROW, 1997; MONTASER, 1998; NOLTE, 2003).

Os dispositivos de transferência de carga (*Charge transfer devices* - CTD's) incluem uma ampla gama de detectores baseados em silício em estado sólido. Eles incluem o dispositivo de injeção de carga (do inglês *Charge Injection Device*, CID) e o

dispositivo de carga acoplada (do inglês *Coupled Charge Device*, CCD). O detector CCD difere principalmente do CID na leitura esquema, pois o detector CCD é lido em uma carga sequencial mudando de maneira para o amplificador de saída. Já o detector CID pode ser lido em uma maneira não destrutiva, deslocando a carga entre os eletrodos adjacentes e depois mudando de novo. Com isso, o detector CID beneficia o acesso aleatório rápido, mesmo durante um longo período de integração (HOU e JONES, 2000).

As linhas de emissão geradas pelos elementos e utilizadas na espectrometria atômica estão situadas nas regiões ultravioleta e visível (160 a 800 nm) do espectro eletromagnético. No caso do ICP-OES, o número de elementos que podem ser determinados está relacionado a uma janela de comprimento de onda que pode ser coberta tanto pelo sistema óptico colimador quanto o dispersivo. Comprimentos de onda acima de 500nm devem ser usados quando é necessário detectar metais alcalino, enquanto os comprimentos de onda abaixo de 190 nm ou abaixo de 160 nm quando for preciso detectar elementos como cloro, bromo, nitrogênio e arsênio. A sobreposição espectral deve também ser mantida em mente na seleção de linhas para realizar uma análise (HOU e JONES, 2000).

No desenvolvimento do método analítico para determinação elementar por ICP-OES, deve-se levar em conta o tipo de matriz da amostra, escolher adequadamente o comprimento de onda da linha de emissão e aperfeiçoar alguns parâmetros do equipamento, como a potência do gerador de radiofrequência, o fluxo do gás de nebulização, o fluxo do gás do plasma e velocidade da bomba peristáltica, entre outros (HARPER, 2006). Além disso, a intensidade de uma linha de emissão em ICP-OES depende do número de átomos ou íons emitindo sob as condições experimentais escolhidas para serem usadas durante a análise. Com isso, para otimizar a geração da emissão, alguns parâmetros podem ser ajustados, como a vazão de gás na tocha, a pressão do gás de nebulização e a forma de observação do plasma de onde será efetuada as medidas espectroscópicas – axial (vista frontal) ou radial (vista seccional) (BERMAN e MCLAREN, 1978).

Os principais parâmetros a considerar no equipamento no momento dos ajustes a avaliação de desempenho do mesmo, são: a sensibilidade, o limite de detecção, a

precisão, a exatidão, a estabilidade da linha de base (*drift*), a interferências espectrais incluindo nestes as características do espectrômetro, como a resolução e a faixa analítica utilizada para análise (GINÉ, 1998).

Interferências não espectroscópicas são as causadas pelos efeitos de matriz, estas estão associadas às etapas de nebulização, de transporte e de efeitos energéticos ocorridos no plasma. Alguns elementos como Na, K e Cs provocam maiores alterações porque são elementos facilmente ionizáveis, ou seja, produzem íons e elétrons livres, cedendo facilmente o elétron da última camada. Com isso, podem afetar as condições de equilíbrio presentes no plasma (BLANDE, 1981; GREENFIELD, 1976). De forma parecida, ocorre com a evolução de hidrogênio quando se usa a geração de hidretos na amostra analisada, afetando a estabilidade do plasma presente no equipamento (GINÉ, 1998).

Outra situação que afeta o equilíbrio térmico do plasma é a presença de compostos orgânicos na amostra. Em situações assim, observa-se radiação azul da emissão de acetileno e como consequência o plasma muda de formato e em alguns casos pode-se notar formação de fuligem. Existem diferentes estratégias que podem ser usadas com o intuito de resolver estes problemas. Em casos onde as amostras apresentam matriz constante, uma alternativa válida é a preparação de soluções padrão contendo a matriz mais similar com a das amostras (*matrix matching*) (BARRETT, 1968; MYERS, 1983). Porém, este procedimento só pode ser usado quando os elementos de interesse que estejam na solução da amostra apresentam concentrações acima de 1 mg/L, devido ao fato do aumento da radiação de fundo provocado pela matriz e com isso consequentemente prejudicar os limites de detecção do equipamento (GINÉ, 1998).

As interferências espectrais são interferências de detecção na emissão atômica produzidas por superposição espectral entre linhas emitidas pelos diferentes elementos presentes na amostra e as limitações de resolução dos espectrômetros. Devido à temperatura atingida pelo plasma no ICP, os espectros de linhas são muito complexos, devido a isso diferentes situações de interferências podem ocorrer (BOUMANS, 1985; BOUMANS, 1987). Entre estas interferências, temos a coincidência parcial ou até mesmo total de linhas, a proximidade de uma linha que afeta o fundo em um dos

extremos da linha de interesse e o aumento do fundo. Em geral, estas interferências são significativas quando uma linha sensível de algum elemento de baixa concentração é afetada por uma linha de um elemento em maior concentração presentes na mesma solução amostra (GINÉ, 1998).

Para as interferências espectrais produzidas pela proximidade ou coincidência de linhas de emissão dos elementos presentes na amostra analisada podem ser evitadas durante a escolha da linha detecção do elemento interferido. Como recomendação para solucionar este problema, se aconselha realizar um levantamento prévio dos coeficientes de interferências no equipamento, que pode ser obtido quando analisadas as soluções puras de cada elemento da matriz e com isso registrando as intensidades em cada comprimento de onda (GINÉ, 1998).

Outra interferência que pode ocorrer ainda no plasma, é quando alguns fótons que foram emitidos pelos átomos de interesse podem ser reabsorvidos por outros átomos do mesmo elemento, em processo de auto-absorção que provoca a redução da intensidade da radiação emitida. Em geral, a emissão dos átomos é mais intensa na região do plasma focalizada 10 mm acima da bobina de indução, enquanto que a dos íons ocorre na região mais afastada, entre 15 e 20 mm (BOUMANS, 1987; GINÉ, 1998).

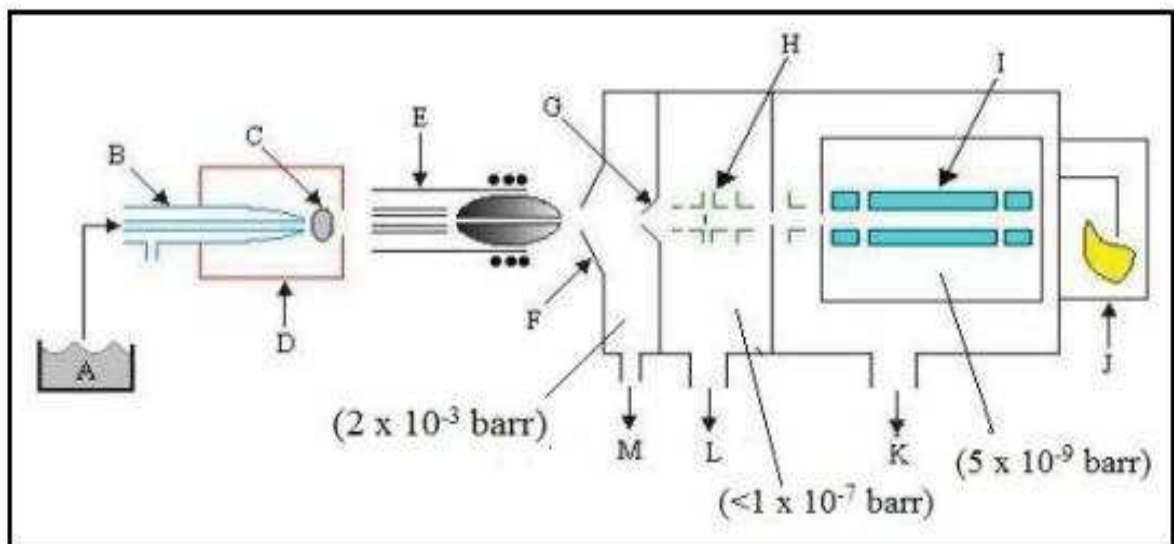
3.9 ESPECTROMETRIA DE MASSA POR PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE (*INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY, ICP-MS*)

Na Espectrometria de massas por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), os íons produzidos no plasma de argônio são injetados no Espectrômetro de Massas, onde o mesmo separa os íons levando em consideração sua massa/razão de carga. Por isso, a análise por ICP-MS é considerada ideal para a análise de amostras cuja concentração de metais situa-se na faixa de ng/L (partes por trilhão) (PERKIN ELMER, 2016).

As partes que compõem um ICP-MS são mostradas na Figura 6, onde: a solução da amostra (A) é succionada por uma bomba peristáltica e um tubo de introdução da amostra e chega ao nebulizador (B) gerando um aerossol (C) que é inserido na câmara de nebulização (D); na câmara de nebulização ocorre a separação

das gotículas mais pesadas das mais leves, fazendo com que apenas o aerossol mais fino chegue a tocha (E), onde ocorre a ionização dos analitos; os íons gerados são coletados pelo cone de amostragem (F) e separados pelo *skimmer* cone (G) sob vácuo; o processo de separação dos íons inicia-se pelas lentes iônicas (H) e posteriormente analisador de massas (I), chegando por fim ao sistema de detecção (J). O processo desde a coleta no cone de amostragem até a detecção ocorre sob vácuo crescente gerado por bombas de vácuo turbo-molecular (K e L) e bomba de vácuo mecânica (M) (BARBOUR, 2011; SANTOS, 2007).

FIGURA 6 - SISTEMA ICP-MS E SUAS PARTES.



AMOSTRA (A), NEBULIZADOR (B), AEROSSOL (C), CÂMARA DE NEBULIZAÇÃO (D), TOCHA (E), CONE DE AMOSTRAGEM (F), SKIMMER CONE (G), LENTES IÔNICAS (H), ANALISADOR DE MASSAS (I), SISTEMA DE DETECÇÃO (J), BOMBAS DE VÁCUO TURBO-MOLECULAR (K E L) E BOMBA DE VÁCUO MECÂNICA (M)

Fonte: (SANTOS, 2007)

Uma vez atomizados/ionizados no plasma, os íons são coletados por um sistema de cones e passam através de lentes iônicas, que seletivamente atraem os íons positivos, além de desviar a luz do eixo do detector. Antes que o analito ionizado entre no analisador de massas, os íons passam por uma célula de reação/colisão com presença de gás, nela são eliminadas ou reduzidas às interferências isobáricas

provocadas por íons moleculares. A técnica ICP-MS também está sujeita a interferências do tipo não-espectrais, supressão ou aumento do sinal induzido pela matriz, e sobreposição dos sinais de íons que apresentam diferenças de massas $< 0,5$ u.m.a (unidade de massa atômica). Entretanto, diversos esforços vêm sendo realizados para reduzir, eliminar ou pelo menos corrigir tais efeitos com maior eficiência (RAHMALAN, 1996; SILVA, 2012).

Estes efeitos podem ser evitados pela seleção adequada do isótopo a ser monitorado, mesmo que com isso ocorra perda de sensibilidade, que pode ser minimizada no preparo da amostra ou na separação das espécies. Outras maneiras de minimizar estas interferências são correção matemática, correção do branco ou a preparação das soluções analíticas na mesma solução do branco. Já em casos onde ocorre o acoplamentos do tipo Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (*Gas Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, GC-ICP-MS) ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (*High Performance Liquid Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, HPLC-ICP-MS), é possível separar as espécies antes que as mesmas sejam atomizadas/ ionizadas no plasma (SILVA, 2012).

Entre os acoplamentos possíveis com o ICP-MS, a técnica que oferece o mais elevado poder de resolução é a cromatografia em fase gasosa (GC-ICP-MS) aonde o poder de resolução chega a uma eficiência de introdução de amostra de 100%. Além disso, este acoplamento proporciona uma maior estabilidade ao plasma e quase nenhuma interferência espectral, onde o plasma seco ajuda prolongando a vida útil do cone. Esta técnica é principalmente aplicada no campo da determinação de compostos organometálicos de Sn, Hg, Se e Pb (SILVA, 2012).

A principal razão para seu crescimento incomparável do ICP-MS é a capacidade que o mesmo apresenta em realizar determinações multielementares de forma rápida e em níveis de ultra-traço. Apesar de poder determinar amplamente o mesmo conjunto de elementos que outras técnicas de espectroscopia atômica, esta apresenta claras vantagens frente às demais devido às suas características de

detecção multielementares, sua velocidade de análise, seus limites de detecção e sua capacidade isotópica (THOMAS, 2018).

3.10 PREPARO DAS AMOSTRAS

Frente às recentes exigências da USP juntamente com o ICH que se trata da implementação do controle referente a impurezas inorgânicas, a indústria farmacêutica vem cada vez mais buscando melhorar a maneira de analisar suas amostras em controle de qualidade, além disso, as técnicas que vêm sendo utilizadas para o tratamento de amostras analíticas não são modificadas há anos, vendo que o preparo de amostra é uma das etapas de maior importância e criticidade em qualquer procedimento analítico. Esta é também a etapa mais onerosa e bem como a parte da análise que demanda o maior tempo em sua sequência analítica. Os métodos de preparo de amostra variam de amostra para amostra dependendo de qual método de quantificação é utilizado (LEWEN, 2016).

Algumas técnicas para quantificação de elementos-traço permitem a introdução direta da amostra, ou seja, não requer preparo nem tratamento prévio da mesma, porém a técnica instrumental de ICP apresenta um sistema de introdução da amostra por meio de um aerossol que necessita então que a amostra esteja em solução. Portanto com a utilização desta técnica se faz necessário tratamento prévio da amostra a ser utilizada na análise, em geral é utilizado métodos de decomposição que utilizam pequenos volumes de ácido (ARRUDA, 1997; KRUG, 2008).

A escolha do reagente adequado e a determinação da técnica a ser utilizada é um ponto importante a ser avaliado, é recomendado o uso de reagente grau traço em análises por ICP, pois o reagente a ser utilizado pode acarretar contaminação da amostra ou danificação do equipamento. Como por exemplo, ácido fluorídrico gera extratos que danificam a tocha e os tubos de quartzo, porém se não for possível realizar o tratamento da amostra com outro ácido, a amostra deve passar por um tratamento com ácido bórico para removê-lo antes de injetá-lo no equipamento (SOUSA, 2015).

Em casos onde a análise é em analito voláteis, a melhor alternativa adequada é a digestão assistida por micro-ondas, visto que todo o processo de digestão ocorre em

frasco fechado e aquecido por radiação micro-ondas, porém é importante observar o tempo de abertura dos frascos após o término da digestão. Geralmente são abertos depois que a temperatura da amostra digerida atinja uma temperatura próxima a do ambiente, porém isso pode não ser suficiente devido ao equilíbrio envolvido entre os gases ou vapores gerados pelo analito com a fase líquida. Com isso se for observado evidências de “perda” de analito durante a digestão da amostra, o analista deve avaliar o tempo de espera para que a amostra atinja uma temperatura adequada para então abrir o frasco de digestão, que depende da amostra a ser analisada e dos analitos de interesse para a análise para que a análise tenha um resultado verdadeiro (SOUZA, 2015).

Nas determinações em ICP-MS ou ICP-OES essa etapa requer um cuidado ainda maior, pois a técnica é severamente afetada por interferências que podem ser resultado de um descuido durante o preparo das amostras. Segundo Evans e Giglio (1995), o método mais utilizado e também o passo mais importante para superar as interferências espectrais e matriciais é o pré-tratamento da amostra ou ainda no processo de preparo da mesma, para resultar em uma efetiva separação do analito e da matriz no decorrer da análise.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente trabalho pode-se verificar que a USP, juntamente com o ICH e outros órgãos regulatórios, adequadamente substituíram o capítulo <231> pelos novos capítulos <232> e <233>, pois os mesmos trazem técnicas que darão mais exatidão nas análises referentes à quantificação e identificação das impurezas elementares.

Com a presente substituição do capítulo <231> pelos <232> e <233> da USP, além de agregar mais exatidão e precisão nos resultados adquiridos com a técnica de ICP que é considerada mais moderna, sensível, precisa e eficaz a mesma oferece a possibilidade quantificar as impurezas elementares presentes na amostra o que não era possível com as metodologias descritas como “teste de limites de metais” ou ainda “testes colorimétricos”, além de possibilitar a análise de vários elementos químicos simultaneamente e com presença de traço.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Europeia de Medicamentos (EMA), Disponível em <<https://www.ema.europa.eu/en/about-us/what-we-do>> Acessado em: 09 de maio de 2019 às 11:25.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/institucional>> Acessado em: 17 de maio de 2019 às 10:34.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-apresenta-harmonizacao-do-brasil-ao-ich/219201/pop_up?_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_viewMode=print&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_languageId=pt_BR> Acesso em: 26 de abril de 2019 às 00:49.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/guia/3.2.S.3.2.html>> Acessado em: 30 de março de 2019 às 00:00.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Institucional**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/institucional>> Acessado em: 14 de maio de 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA).. **Medicamentos Similares**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/medicamentos/produtos/medicamentos-de-referencia/informacoes-gerais>> Acessado em: 23 de maio de 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA).. **O que de vemos saber sobre medicamentos**. 2010.

AGILENT TECHNOLOGIES. **Liberty II: livro de métodos analíticos**. Victoria, VIC: *Varian*, 1999.

ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. **Química Nova**, 20, 638, 1997.

BALARAM, V. **Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals—Status, challenges and moving frontiers**. *Trends in Analytical chemistry*, v. 80, p. 83-95, 2016.

BARRETT, W.B.; FASSEL, V.A.; KNISELEY, R.N. **Theoretical principles of internal standardization in Analytical Atomic Emission Spectroscopy**. *Spectrochimica Acta*, v. 23B, p. 643-664, 1968.

BECKER, J.S. **Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications**; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2007.

BERMAN, S.S.; MCLAREN, H.W. **Establishment of compromise conditions for multielement analysis by inductively coupled plasma emission spectrometry. A preliminary report.** Applied Spectroscopy, v. 32, n. 4, p. 372-377, 1978.

BLADES, M.W.; HORLICK, G. **Interferences from easily ionizable element matrices in Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry - a spatial study.** Spectrochimica Acta, v. 36B, p. 881- 900, 1981.

BLADES, M.W.; HORLICK, G. **The vertical Spatial characteristics of analyte emission in the inductively coupled plasma.** Spectrochimica Acta, v. 36B, p. 861-880, 1981.

BLANKE, K. B, **Harmonization of the USP, EP, and JP heavy metals testing procedures,** (Pharm. Forum, 1995), 21(6).

BOUMANS, P.W.J.M. **Line selection and spectral interferences, Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry. Part I. Methodology, Instrumentation and Performance.** New York: Wiley- Interscience, 1987. p 358-465.

BOUMANS, P.W.J.M.; VRAKING, J.J.A.M. **Spectral interferences in Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry. I. A theoretical and experimental study of the effect of spectral bandwidth on selectivity, limits of determination, limits of detection and detection power.** Spectrochimica Acta, v. 40B, p. 1085-1125, 1985.

BRYRNS, M.C. e PENNING, T.M. Toxicologia Ambiental: carcinógenos e metais tóxicos. In: BRUNTON, L.L. (Ed.) **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica.** 12 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012. p. 1853-1877.

COELHO; Jessica Silva, **IMPUREZAS INORGÂNICAS EM MEDICAMENTOS: DO PREPARO DE AMOSTRA A DETERMINAÇÃO ELEMENTAR POR ICP-MS - UNESP - São José do Rio Preto,** 2016.

CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE HARMONIZAÇÃO DE REQUISITOS TÉCNICOS PARA DROGAS HUMANAS, Disponível em: <<https://www.ich.org/>> Acessado em: 09 de maio de 2019 às 01:10.

DAHLQUIST, R.L., KNOLL, J.W. **Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: Analysis of biological materials and soils for major, trace and ultra-trace elements.** Appl. Spectrosc., V. 32, p. 1-29, 1978.

DEAN, J. R. **Practical Guide Inductively Plasma Spectroscopy;** John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2005.

ELDER, D. P., MARTIN, K. e HOLM, R. **Pharmaceutical excipients- quality, regulatory and biopharmaceutical considerations.** European Journal of pharmaceutical Sciences, n. 87, p. 88-99, 2016.

Elemental Impurities—**Limits,** (Pharm. Forum, 2013), 40(2), Chapter <232>.

Elemental Impurities—**Procedures**, (Pharm. Forum,2013), 40(2), Chapter <233>.

European Medicines Agency, **Guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents EMEA/CHMP/SWP/4446/2000**, 2008.

EVANS, E.H.; GIGLIO, J.J.; CASTILLANO, T.M.; etal. **Inductively Coupled and Microwave Induced Plasma Sources for Mass spectrometry**. RSC, Cambridge-UK, 107 p. 1995.

Food and Drug Administration (FDA), Disponível em: <<https://www.fda.gov/about-fda/fda-basics/what-does-fda-do>> Acessado em: 17 de maio de 2019 às 11:10.

GARCIA, M.O. **Preparo de amostras e análise elementar de produtos farmacêuticos**. Química Tecnológica. São Carlos – SP,2016.

GINÉ; Maria Fernanda, **Espectrometria de Emissão Atômica Plasma Acoplado Indutivamente ICP-AES**. Piracicaba: CENA, 1998, 148P.:il. (Série Didática, v.3).

GREENFIELD, S.; MCGEACHIN, H.M.; SMITH, P.S. **Nebulization effects with acid solutions in ICP Spectrometry**. Analytica Chimica Acta, v. 84, p. 67-78, 1976.

HARPER, K., de OLIVEIRA, A. P. **Determinação de elementos traço em solos e lodos de esgoto por ICP-OES**. Revista Analítica. N. 23, p. 53-59, jun-jul 2006.

HOLM, R.; ELDER, D. P. **Analytical advances in pharmaceutical impurity profiling**. European Journal of Pharmaceutical Sciences – 2016- p. 118 – 135.

HOU, X.; JONES, B. T. **Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry**. USA: John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE, Guideline for Elemental Impurities, Q3D Step 4, December 2014.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras – Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas para análise elementar**; CENA/USP: Piracicaba, 2008.

LEWEN, N.; MATHEW, S.; SCHENKENBERG, M.; RAGLIONE, T. **A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds**, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 35: 739-752, 2004.

LIBA, Amir. Ed MCCURDY and ROSS Ashdown, **Proposed new ICH and USP methods for elemental impurities: The application of ICP-MS and ICP-OES for pharmaceutical analysis** , Agilent publication, 5990-9365EN (2014).

MANNING, T. J. & GROW, W. R., **Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry**. The chemical Educator, Vol.2, pp. 1-19, 1997.

MONTASER, A., **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**. Wiley-VCH: New York, 1998.

MYERS, S.A.; TRACEY, D.H. **Improved performance using internal standardization in Inductively Coupled Plasma Spectroscopy**. Spectrochimica Acta, v. 38B, p. 1227-1253, 1983.

NOLTE, J. **ICP Emission Spectrometry – A Practical Guide**. Ed Wiley-VCH, 2003.

PARKER, L.R.; CAVE, M.R.; BARNES, R.M. **Comparison of simplex algorithms**. Analytica Chimica Acta, v. 175, p. 231-237, 1985.

PERKINELMER, Inc. e SHELTON, CT. **Implementation of USP New Chapters <232> and <233> on Elemental Impurities in Pharmaceutical Products**, 2016.

POHL, Pawel et al. Impact and practicability of recently introduced requirements on elemental impurities. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 101, p. 43-55, 2018.

POLETTI, J. **Desenvolvimento de metodologia para quantificação de elementos-traços em petróleo usando espectrômetro de massa de duplo foco com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS de duplo foco)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química: Porto Alegre, 2014.

RAHMALAN A.; ZAHARI, M. A.; SANAGI, M. M.; RASHID, M. **Determination of heavy metals in air particulate matter by ion chromatography**. Journal of Chromatography A, 739 (1996).

RAO R. N. e TALLURI M.V.N.K. **An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, n. 43, p. 1 – 13, 2007.

RÜBENSAM, G. **Revisão em geoquímica e ecotoxicologia dos metais chumbo, cobre, cromo e zinco**. Periódico Tchê Química (Impresso), v. 01, p. 36-51, 2004.

SANTOS, S. B. **Elementos traço em soro sanguíneo medidos pelos métodos PIXE e ICPMS**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo (USP), 2007.

SHIBAMOTO, T. e BJELDANES, L. F. **Introdução à Toxicologia dos Alimentos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

SILVA, L. I. D.; CARNEIRO, M. C.; FERNANDES, T. L. A. P. **Química analítica aplicada ao estudo do chumbo**, Santo Amaro -BA. In: Projeto Santo Amaro - BA, aglutinando ideias, construindo soluções: diagnóstico. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2012.

SOUSA, T. B. Uma Revisão sobre o Arcabouço Legal para o Controle de Impurezas em Produtos Farmacêuticos no Brasil. **Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz**, Rio de Janeiro, 2015.

SPIRO, T. G. e STIGLIANI, W. M. **Química Ambiental**. 2 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009.

THAYER, A. M., Trace Metals Debate. **Chemical & Engineering News, American Chemical Society** n. 33, v. 91, Washington:, 2013.

The United States Pharmacopeia Convention, **The United States Pharmacopeia, 35a edição**, USP, Rockville, Maryland, 2012 (Heavy Metals pág 145).

The United States Pharmacopeia. **General Chapter <232>: Elemental impurities - Limits: Second supplement to USP 38–NF 33**. Dezembro 2015.

THOMAS, R. **Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, Third Edition**; CRC Press: New York, 2013.

THOMAS, R. **Measuring Elemental Impurities in Pharmaceuticals A Practical Guide**. Taylor & Francis Group, 2018.

USP Ad Hoc Advisory Panel on Inorganic Impurities and Heavy Metals and USP Staff. **General chapter on inorganic impurities: Heavy metals**. Pharmacopeia Forum, 34(5), 1345–1347, 2008.

VALLS, M. e LORENZO, V. **Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for remediation of heavy metal pollution**. FEMS Microbiology Reviews, v. 26, p. 327-338, 2002.

VAN HOECKE, K.; Catry, C.; Vanhaecke, F. **Determination of elemental impurities in leachate solutions from syringes using sector field ICP-mass spectrometry**, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 77: 139-144, 2013.