



**Iryna Brovchenko**

Licenciatura em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

## **Elemental Impurities in Drug Products**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

- Orientador: Dr.<sup>a</sup> Rita Gamboa Vaz,  
Técnica da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.
- Coorientador: Prof. Dr. Mário Fernando José Eusébio,  
Professor Auxiliar,  
Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNL
- Júri:
- Presidente: Dr.<sup>a</sup> Maria Madalena Alves Campos de Sousa Dionísio Andrade,  
Professora Auxiliar com Agregação,  
Faculdade de Ciência e Tecnologia – UNL
- Arguente: Dr.<sup>a</sup> Carla Palmira Loureiro Lamas,  
Supervisora da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.
- Vogais: Dr.<sup>a</sup> Rita Gamboa Vaz,  
Técnica da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.



**Iryna Brovchenko**

Licenciatura em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

## **Elemental Impurities in Drug Products**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Dr.<sup>a</sup> Rita Gamboa Vaz,  
Técnica da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.

Coorientador: Prof. Dr. Mário Fernando José Eusébio,  
Professor Auxiliar,  
Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNL

Júri:

Presidente: Dr.<sup>a</sup> Maria Madalena Alves Campos de Sousa Dionísio Andrade,  
Professora Auxiliar com Agregação,  
Faculdade de Ciência e Tecnologia – UNL

Arguente: Dr.<sup>a</sup> Carla Palmira Loureiro Lamas,  
Supervisora da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.

Vogais: Dr.<sup>a</sup> Rita Gamboa Vaz,  
Técnica da Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Vitória, S.A.

**Setembro, 2019**



## **Elemental Impurities in Drug Products**

Copyright © Iryna Brovchenko, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



# Agradecimentos

---

Este trabalho foi realizado nas instalações dos Laboratórios Vitória, S.A. pelo que quero inicialmente agradecer ao local que me acolheu de uma forma muito simpática e agradável. Obrigada pela oportunidade de poder realizar este trabalho curioso e interessante e por sua vez conhecer o mundo empresarial.

Um obrigado especial aos meus orientadores, Dr.<sup>a</sup> Rita Gamboa Vaz pelo apoio contínuo, simpatia e disponibilidade dentro e fora do local e horário de trabalho e também ao Prof. Dr. Mário Fernando José Eusébio pelo acompanhamento, ajuda e pela oportunidade de enriquecer o meu trabalho e conhecimento com a componente prática aqui presente.

Obrigado às pessoas que me acompanharam nos Laboratórios Vitória na Garantia e Controlo da Qualidade. Obrigado à Dr.<sup>a</sup> Carla Rodrigues do Laboratório de Análises REQUIMTE pela disponibilidade, acompanhamento e ajuda.

Ao Ricardo, por me ouvires todos os dias e pela motivação que me dás. Aos meus amigos e colegas Ana, Anastasiia, Karolina, Raquel, Filipa e Catarina pelos amigos e sobretudo Pessoas que são.

Um obrigado especial aos meus pais. São o meu melhor exemplo.

À minha irmã, ao David e à Eva.

Obrigada.



# Resumo

---

As Impurezas Elementares são vestígios de metais encontrados em medicamentos, originadas por diferentes fontes do ciclo de vida do produto. A ICH desenvolveu a diretriz Q3D para 24 Impurezas Elementares, divididas em 3 classes, com base na toxicidade e ocorrência. Atualmente, esta diretriz limita estes elementos para as vias oral, inalatória e parenteral, não cobrindo a via tópica.

Inicialmente, pretendeu-se estabelecer a exposição diária permitida para a via tópica, para serem realizadas análises de risco a vários produtos farmacêuticos, de forma a encontrar aqueles que aparentavam maior risco para posteriormente serem analisados no ICP-AES. Também foi avaliado o risco proveniente do material de acondicionamento primário, com posterior realização de ensaios em laboratório, e de uma utilidade (água purificada). Uma das amostras para a análise foi submetida ao processo de digestão e antes da análise realizou-se a validação do ICP-AES.

Nas análises de risco verificou-se que os medicamentos estavam abaixo da exposição diária permitida. E também que existe um mesmo excipiente na composição de vários produtos de pior caso. O maior risco, devido à incerteza, foi verificado para uma solução oral e dois produtos semissólidos.

O método analítico foi validado para a seletividade, exatidão, linearidade, precisão, limite de detecção e quantificação para os 24 elementos e demonstrou ser adequado. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram otimistas, por exemplo, o níquel apresenta um limite de detecção e quantificação de 0,00124 ppm e 0,00375 ppm, respetivamente.

Com o ICP-AES foi verificado que, o excipiente selecionado tem na sua composição Impurezas Elementares superiores às admitidas nas normas europeias o que permite concluir que, este excipiente é uma das principais fontes de Impurezas Elementares para os medicamentos onde se insere. Foi também verificado um risco associado às bisnagas de produtos semissólidos, que cederam arsénio (1,20340 ppm), selénio (0,77105 ppm) e estanho (1,15330 ppm).

**Palavras-chave:** Impurezas elementares, avaliação de risco, FMEA, ICH Q3D, ICP-AES



## ABSTRACT

---

Elemental Impurities are traces of metals found in medicines, originating from different sources in the product life cycle. ICH has developed the Q3D guideline for 24 Elemental Impurities, divided into 3 classes, based on toxicity and occurrence. Currently, this guideline limits these elements to oral, inhalation and parenteral routes of administration and does not cover the topical route.

Initially, it was intended to establish the permitted daily exposure to the topical route, for risk analysis to various pharmaceutical products in order to find those that appeared to be at higher risk for later analysis in the ICP-AES. The risk from the primary packaging material, with subsequent laboratory testing, and a utility (purified water) was also assessed. One of the samples for the analysis was submitted to the digestion process and before the analysis the ICP-AES validation was performed.

In the risk analyses it was found that the drugs were below the permitted daily exposure, and that there was one same excipient in the composition of several worst-case products. The greatest risk due to uncertainty was found for one oral solution and two semi-solid products.

The analytical method was validated for selectivity, accuracy, linearity, precision, limit of detection and quantification for the 24 elements and proved to be adequate. The detection and quantification limits obtained were optimistic, for example, nickel has a detection and quantification limit of 0.00124 ppm and 0.00375 ppm, respectively.

With the ICP-AES it was found that the excipient selected has in its composition Elemental Impurities higher than those accepted in European standards which allows us to conclude that this excipient is one of the main sources of Elemental Impurities for the drugs to which it belongs. There was also a risk associated with semisolid product tubes which yielded arsenic (1.20340 ppm), selenium (0.77105 ppm) and tin (1.15530 ppm).

**Keywords:** Elemental impurities, risk assessment, FMEA, ICH Q3D, ICP-AES



# Índice

---

Resumo .....	V
Abstract .....	VII
Lista de Figuras .....	XI
Lista de Tabelas .....	XIII
Glossário .....	XV
1 Enquadramento e Motivação .....	1
1.1 Laboratórios Vitória .....	1
1.2 Objetivo do trabalho – ICH Q3D .....	1
2 Indústria Farmacêutica .....	3
2.1 Indústria Farmacêutica e Boas Práticas de Fabrico .....	3
2.2 Garantia da Qualidade em Produtos Farmacêuticos .....	5
2.3 Farmacopeia Europeia e Exclusão do Ensaio de Metais Pesados .....	6
2.4 Avaliação de Risco na Indústria Farmacêutica .....	7
2.5 Fases da avaliação de risco .....	8
2.5.1 Identificação .....	8
2.5.2 Análise – FMEA .....	8
2.5.3 Avaliação .....	9
2.5.4 Controlo .....	10
3 Impurezas Elementares .....	11
3.1 Fontes de Impurezas Elementares .....	12
3.1.1 Substância Ativa .....	14
3.1.2 Excipientes .....	15
3.1.3 Equipamento de Produção .....	15
3.1.4 Água Purificada e Água para Injeção .....	16
3.1.5 Material de Acondicionamento .....	21
3.2 Outras Vias de administração não contempladas na diretriz Q3D .....	22
3.2.1 Metodologias de Conversão para PDE Cutâneo .....	23
3.2.2 Biodisponibilidade .....	24
3.2.3 Fator de Retenção .....	25
3.2.4 Reações adversas .....	25
3.2.5 Descrição por Impureza Elementar .....	26
4 Métodos de determinação de I.E. ....	27
4.1 Critérios de Validação .....	31
4.1.1 Seletividade .....	32
4.1.2 Exatidão .....	33
4.1.3 Linearidade .....	33
4.1.4 Precisão .....	36

4.1.5	LOD e LOQ.....	37
5	Materiais e Métodos.....	39
5.1	Critérios de atribuição de risco.....	40
5.2	Ensaio de lixiviação.....	45
5.3	Ensaio de extração.....	45
5.4	Ensaio de digestão.....	46
5.5	Preparação dos padrões.....	46
5.6	Preparação das soluções para o estudo da exatidão.....	48
5.7	Condições de operação do ICP-AES.....	48
6	Apresentação e Discussão dos Resultados.....	49
6.1	Análise de Risco.....	49
6.2	Validação do método.....	52
6.2.1	Seletividade.....	52
6.2.2	Exatidão.....	54
6.2.3	Linearidade.....	55
6.2.4	Precisão.....	56
6.2.5	LOD e LOQ.....	57
6.3	Resultados obtidos para pior caso.....	58
7	Conclusões e Propostas de Trabalho Futuras.....	63
8	Referências.....	67
	Anexo A: Estudo da Normalidade dos Resíduos.....	73

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 3.1 Fontes de I.E. no produto final.....	13
Figura 3.2 Atribuição do nível de risco de acordo com a origem da I.E. ....	13
Figura 3.3 Exemplo demonstrativo da contribuição com I.E. para o produto final .....	14
Figura 3.4 Distribuição geográfica de diferentes contaminantes presentes na água .....	17
Figura 3.5 Técnicas de purificação da água e respectivas eficiências .....	18
Figura 3.6 Esquema representativo do funcionamento da OI .....	19
Figura 3.7 Funcionamento do CDI .....	19
Figura 3.8 Guia para a derivação do PDE.....	23
Figura 4.1 Sistema de introdução da amostra para plasma radial .....	29
Figura 4.2 Razão de Horwitz.....	37
Figura 5.1 Fluxograma para a preparação do ICP-AES .....	39
Figura 6.1 Comparação de I.E. do excipiente com os produtos finais .....	62



## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 3.1 Exposição diária permitida para I.E. ....	12
Tabela 3.2 Elementos a considerar para cada tipo de material.....	15
Tabela 3.3 I.E. potencialmente presente no material de acondicionamento primário .....	22
Tabela 3.4 Biodisponibilidade e efeitos adversos das I.E. ....	26
Tabela 4.1 Comparação das várias técnicas de determinação de I.E. ....	27
Tabela 4.2 Gastos referentes a cada tipo de técnica de medição de I.E. ....	28
Tabela 4.3 Diferentes métodos de digestão de amostras .....	31
Tabela 4.4 Eq. utilizadas na determinação da linearidade de i grupos com n determinações .....	34
Tabela 4.5 Eq. utilizadas na construção da ANOVA .....	34
Tabela 5.1 Explicitação dos níveis da detecção .....	40
Tabela 5.2 Relação entre a via de administração, origem e a quantidade de I.E.....	40
Tabela 5.3 Valores de RPN .....	41
Tabela 5.4 RPN para a substância ativa e excipientes .....	42
Tabela 5.5 RPN para o processo de produção e equipamento de produção .....	43
Tabela 5.6 RPN para o material de acondicionamento primário.....	44
Tabela 5.7. RPN para o material a água utilizada no processo .....	44
Tabela 5.8 Método de digestão utilizado .....	46
Tabela 5.9 Soluções padrão.....	47
Tabela 5.10 Soluções para calibração do ICP-AES .....	47
Tabela 5.11 Soluções para o estudo da exatidão .....	48
Tabela 5.12 Condições operatórias do ICP-AES .....	48
Tabela 6.1 PDE cutâneo estipulado.....	49
Tabela 6.2 Resultados da AR .....	50
Tabela 6.3 I.E. potencialmente presentes da AR.....	51
Tabela 6.4 Resultados da seletividade em brancos, em ppm .....	52
Tabela 6.5 Resultados da seletividade em amostra com padrão a 100%, em ppm .....	53
Tabela 6.6 Percentagem de discrepância entre as amostras com padrão a 100% e 150% .....	53
Tabela 6.7 Resultados da prova t-Student-Fisher.....	54
Tabela 6.8 Exatidão em %, com base no valor teórico introduzido .....	54
Tabela 6.9 Resultados da validação da linearidade .....	55

Tabela 6.10 Resultados de validação da Precisão .....	56
Tabela 6.11 Comparação e análise do LOD e LOQ.....	57
Tabela 6.12 Resultados referentes à medição dos produtos e excipiente.....	58
Tabela 6.13 Resultados dos ensaios com os materiais de acondicionamento primário .....	59
Tabela 6.14 Resultados referentes à medição das duas águas purificadas Milli-Q e PUR .....	60
Tabela 6.15 Comparação AR teórica e resultados do ICP-AES .....	61

# GLOSSÁRIO

---

**AAS** – Atomic Absorption Spectroscopy

(Espectroscopia de Absorção Atômica)

**AIM** – Autorização de Introdução no Mercado

**AR** – Análise de Risco

**BPF** – Boas Práticas de Fabrício

**CDI** – Eletrodesionização

**CV** – Coeficiente de variação

**ECHA** – European Chemicals Agency

(Agência Europeia das Substâncias Químicas)

**FMEA** – Failure Mode and Effect Analysis

(Análise de Modo e Efeito de Falha)

**ICH** – International Conference on Harmonisation

(Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano)

**ICP-AES** – Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry

(Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente)

**ICP-MS** – Inductively coupled plasma mass spectrometry

(Espectrometria de Massa por Plasma Acoplado Indutivamente)

**HDPE** – High-density Polyethylene

(Polietileno de alta densidade)

**I.E.** – Impureza Elementar

**LOAEL** – Lowest-Observed-Adverse-Effect Level

(Nível de Mínimo Efeito Tóxico Observado)

**LOD** – Limit of Detection

(Limite de Detecção)

**LOQ** – Limit of Quantification

(Limite de Quantificação)

**NOAEL** – No Observed Adverse Effect Level

(Nível sem Efeitos Adversos Observáveis)

**OI** – Osmose Inversa

**PDE** – Permitted Daily Exposure

(Exposição Diária Permitida)

**PE** - Polietileno

**Ph. Eur.** – Farmacopeia Europeia

**PPI** – Água para preparações injetáveis

**PUR** – Água purificada

**Q3D** – Diretriz da ICH para as Impurezas Elementares

**RF** – Fator de retenção

**UE** – União Europeia

# 1 Enquadramento e Motivação

---

## 1.1 Laboratórios Vitória

Os Laboratórios Vitória são uma empresa de referência no setor farmacêutico com atividade registada desde 1943. Esta empresa foca-se sobretudo em investigação, fabrico e comercialização dos medicamentos, tentando garantir os mais elevados padrões de qualidade. A empresa pertence ao Grupo FAES FARMA e é detentora da autorização de introdução no mercado (AIM) de vários medicamentos, entre os quais destacam-se: Venosmil, Magnesona e Bilaxten. Os Laboratórios Vitória produzem produtos de várias formas farmacêuticas, garantindo a qualidade estipulada em normas e legislações do mercado farmacêutico. A empresa fabrica as seguintes formas farmacêuticas:

- Comprimidos e cápsulas
- Soluções orais repartidas em 2 tipos de acondicionamento: frasco e ampola
- Soluções injetáveis de pequeno volume
- Supositórios e óvulos

Este trabalho encontra-se inserido na divisão de Garantia da Qualidade da empresa. Os Laboratórios Vitória asseguram o cumprimento das exigências atuais, diretivas comunitárias, conceção, layouts e fluxos de circulação. De forma a cumprir com todas as normas, a empresa aposta em planos de formação contínuos em formações de Boas Práticas de Fabrico (BPF); higiene e segurança; e produtividade. Estas formações permitem alcançar a qualidade do produto, a competência do pessoal e também uma posição competitiva no mercado [1].

## 1.2 Objetivo do trabalho – ICH Q3D

O objetivo principal do presente trabalho é a análise de risco dos medicamentos, cujo detentor de AIM são os Laboratórios Vitória, relativamente à presença de Impurezas Elementares (I.E.), com o intuito de selecionar os piores casos, que serão analisados pelo método ICP-AES.

Para o efeito, será efetuada uma priorização por risco, dos 21 medicamentos estudados (das vias de administração oral, parenteral e tópica), envolventes do processo de fabrico e materiais de acondicionamento primário. Esta priorização será efetuada através de uma avaliação de risco, relativa à presença de 24 I.E., apresentadas na diretriz Q3D, publicada pelo Conselho Internacional da Harmonização (ICH).

A diretriz anunciada não apresenta limites diários de exposição de Impurezas Elementares para a via tópica. Desta forma, para uma análise de risco coerente e completa, é necessário inicialmente estabelecer os limites para esta via, tendo por base os fatores que influenciam a exposição diária permitida (PDE).

No decurso, será realizada a validação do método analítico ICP-AES, para demonstrar que este método analítico é adequado para a medição das I.E.

Os piores casos obtidos, serão avaliados através do método ICP-AES, com a finalidade de estudar o grau de concordância entre a análise de risco e os valores obtidos através do método analítico anteriormente apresentado.

## 2 Indústria Farmacêutica

---

A indústria farmacêutica, da União Europeia (UE), segue padrões definidos de qualidade, pelo que, o fabrico dos medicamentos tem elevado controlo por parte da Agência Europeia do Medicamento (EMA) da Comissão Europeia – órgão que define a legislação deste mercado na Europa.

Em Portugal, a autoridade que regula e supervisiona todo o setor dos medicamentos de uso humano e produtos de saúde, incluindo as empresas é o Infarmed – entidade que detém o direito de atribuir ou remover a AIM do medicamento, conforme a qualidade, segurança e eficácia deste, que é monitorizada periodicamente pelo Infarmed, entidade que coordena o Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF) [2].

A Comissão Europeia, em nome da EMA, disponibiliza o EudraLex – documento que descreve a legislação relativa aos medicamentos, tanto para uso humano, como veterinário, na região da UE. O EudraLex consiste em 10 Volumes, nos quais constam legislações de medicamentos para administração em humanos, aplicações veterinárias, testes clínicos, entre outros. Posto isto, o Volume 4 do EudraLex, dita as BPF, a adaptar pela instituição que produz os medicamentos.

Todo o fabricante necessita de uma licença – Autorização de Fabrico, para poder produzir os medicamentos. Esta licença de produção garante que os medicamentos produzidos foram avaliados por uma autoridade competente, que verificou se o dito fabricante cumpre com os requerimentos estabelecidos, parte dos quais consta no Volume 4 do EudraLex, no que diz respeito à segurança, qualidade e eficácia. A emissão da Autorização de Fabrico atesta a conformidade do fabricante com os requisitos de BPF e tem uma validade máxima de 3 anos.

A importação de medicamentos a partir de países terceiros à UE também está sujeita a autorização por parte do Infarmed. Assim, só os detentores de Autorização de Fabrico/ Importação poderão proceder à importação de medicamentos nessas condições. Tais medicamentos estão sujeitos obrigatoriamente a controlo laboratorial complexo e libertação de lote num Estado Membro da UE [3].

### 2.1 Indústria Farmacêutica e Boas Práticas de Fabrico

As BPF têm elevada importância, visto que, visam garantir a qualidade dos medicamentos no seu circuito e prevenir riscos de saúde pública. É objetivo, durante o fabrico do produto, o controlo de ocorrências que podem influenciar de forma negativa a qualidade do medicamento, o ambiente de produção, a saúde dos funcionários e a do utente final.

Desde a história da humanidade, as soluções aparecem após a ocorrência do problema. A indústria farmacêutica não é uma exceção. Um longo percurso foi efetuado para serem definidas as BPF, ou seja, vários pontos surgiram como resposta aos problemas que ocorriam devido a falhas nos processos de produção, manipulação das matérias-primas e produtos, e de forma a evitar futuras tragédias.

Como exemplo, em 1937, nos EUA, a empresa S. E. Massengill Company utilizou na formulação da solução oral de Sulfanilamida como solvente o dietilenoglicol, sem fazer a verificação de segurança e compatibilidade com o corpo humano [4].

Como resultado, após graves ocorrências, este solvente foi considerado nefasto para a saúde, com resultado letal para quem tomou a solução oral, resultando na morte de mais de 100 pessoas, maioritariamente crianças. Foi reportado que, o principal problema desta ocorrência tenha sido a inexistência de legislação adequada, que controlasse os componentes da formulação e a perigosidade do produto final introduzido no mercado, pois a empresa que vendia o produto apresentava uma composição errada, no rótulo do xarope [5].

Passado 24 anos, em 1961, sucedeu outro acontecimento, desta vez na Europa. A Talidomida foi comercializada na Europa a partir de 1956, inicialmente como um medicamento sedativo/hipnótico. O seu uso foi generalizado posteriormente, como um medicamento para controlar as náuseas da gravidez. Em 1961, num congresso, relaciona-se o uso deste medicamento durante a gravidez com casos de malformação congénita, incluindo casos de focomelia e agenesia dos membros [4]. Esta relação resultou em cerca de 20 000 recém-nascidos mutilados e cerca de 80 000 mortos. Os estudos verificaram que, o medicamento era inadequado para grávidas, pois a Talidomida adultera as proteínas, que controlam a expressão de alguns genes como o SALL4, determinante no desenvolvimento de membros na gravidez. Dada a tragédia, este foi um dos medicamentos mais importantes do século XX em termos de mobilização de legislação de saúde constituindo um importante ponto de viragem para a aplicação de conceitos de segurança e Farmacovigilância [6].

Assim, até aos acontecimentos descritos e outros, os medicamentos eram considerados como algo com características sobretudo benéficas para a saúde, ou nunca tóxicas, sendo que os acontecimentos anunciados mudaram as ideias das pessoas e levaram ao surgimento de legislações, que começaram a ser cada vez mais exigentes para os fabricantes.

Desta forma, resultaram as BPF, que são um conjunto de regulamentações e diretrizes para os fabricantes de medicamentos, impostos pela EMA, que têm força de lei e têm como finalidade exigir a implementação de medidas que garantam a segurança, qualidade e eficácia do medicamento produzido, antes da sua introdução no mercado.

As BPF também têm como objetivo minimizar ou até mesmo, se possível, eliminar as fontes de contaminação e falhas durante a produção que tenham impacto na qualidade. Apesar de o seu cumprimento ser obrigatório, as BPF são generalizadas, de forma a que cada fabricante fica livre de estabelecer o caminho a adaptar e responsável pela forma como as estabelece e cumpre.

Assim, as BPF são um ponto de segurança muito importante, visto que é uma parte da garantia de que o medicamento não apresenta risco para a saúde humana. O utente tem de se sentir seguro, quando é lhe administrado o medicamento, relativamente à sua qualidade.

Posto isto, ao longo das fases de desenvolvimento, fabrico e controlo dos medicamentos, o fabricante tem obrigação de cumprir com as BPF, de forma a garantir que o produto entregue no mercado, não apresenta perigo para a saúde do cliente e, por sua vez, apresenta os respetivos fins terapêuticos.

As BPF, apresentadas no Volume 4 do EudraLex, foram baseadas em duas diretivas pré-existentes: Diretiva 2003/94/EC respetiva a medicamentos para administração em humanos e a Diretiva 94/412/EC que é respetiva a medicação veterinária. Na definição das BPF, todos os membros e indústrias chegaram ao acordo de que as Boas Práticas a adotar, relativas ao fabrico dos medicamentos tanto para o uso veterinário, como humano, são as mesmas [7].

Desta forma, e em concordância com as diretivas, são publicadas as BPF pela Comissão Europeia. Estas BPF cobrem todo o processo, que engloba o ciclo de vida do produto, desde os cuidados a ter com a matéria-prima, como por exemplo a sua origem, todo o material e equipamento que contacta com as substâncias durante o ciclo de vida, o ambiente, o espaço e as medidas de segurança do pessoal que manipula a substância ou o produto.

Os seguintes pontos são exemplos de BPF, adaptados do EudraLex [8]:

- O pessoal tem de utilizar roupas adequadas à atividade fabril da qual fazem parte, e a roupa tem de ser trocada quando definido. As roupas de proteção adicionais, para a cabeça, cara, mãos e braços tem de ser utilizadas quando há necessidade de proteger os intermediários e o API de forma a evitar a contaminação (Ponto 3.21).
- O equipamento de fabrico tem de ser projetado, localizado e mantido de acordo com a finalidade destinada (Ponto 3.34).  
A reparação e a manutenção do equipamento não podem apresentar nenhum perigo ao produto, nem à sua qualidade (Ponto 3.35).

Desta forma, é fundamental o cumprimento das BPF, visto que têm impacto direto no produto final. No caso dos medicamentos, independente da sua forma de administração, as BPF têm de ser rigorosamente cumpridas, de forma a evitar a presença de qualquer tipo de contaminação no produto final.

## **2.2 Garantia da Qualidade em Produtos Farmacêuticos**

O principal objetivo da garantia da qualidade na indústria farmacêutica, é garantir a qualidade do produto final, pelo que se trata de um sistema de gestão complexo, com diversas variáveis a ter em conta, para conseguir um controlo eficiente do sistema. A divisão de garantia da qualidade visa garantir que os medicamentos têm a qualidade exigida para o uso pretendido e em concordância com a sua AIM.

A qualidade tem de ser observada diariamente em todos os momentos da produção. O sistema de gestão da qualidade, envolve diversos departamentos na empresa, pois, apenas uma equipa interdisciplinar contribui de uma forma eficiente para resolução de problemas, por ter diferentes perspetivas de olhar sobre um problema.

Uma boa gestão da qualidade, por sua vez, contempla auditorias internas e externas regulares, onde as internas apresentam elevada importância, visto que, permitem evitar e/ou resolver problemas antes de ter inspeções por uma autoridade – auditorias externas.

As falhas na cadeia de controlo podem trazer consequências graves que resultam na expedição de produtos que não cumprem com as especificações, o que posteriormente pode causar danos graves ao cliente. Por esta razão, as empresas farmacêuticas na Europa, têm obrigatoriedade de ter uma *Qualified Person* – pessoa responsável pela certificação de um lote e sua libertação, após uma análise crítica da documentação relativa ao processo, material e dos resultados da análise do produto [9].

Outra componente, acoplada ao sistema de qualidade, são as Boas Práticas de Documentação. Esta parte engloba todo o tipo de documentação: registos, especificação, instruções, protocolos, relatórios e outros documentos inerentes ao processo de fabrico.

O sistema de gestão da qualidade também engloba as Boas Práticas de Distribuição, que é uma componente de importância significativa, pois, regula os intervenientes na distribuição de medicamentos e tem um papel fundamental na prevenção de introdução de medicamentos falsificados/contrafeitos no circuito legal do medicamento.

Uma outra componente são as Boas Práticas de Laboratório das quais fazem parte o processo de organização e as condições de planeamento, execução, registos e apresentação dos resultados de estudos não clínicos de segurança para a saúde e para o ambiente [10].

Desta forma, é objetivo de cada empresa cumprir com as BPF, Distribuição, Laboratório e Documentação, sendo estes os fatores que verificam, integram e garantem a qualidade.

### **2.3 Farmacopeia Europeia e Exclusão do Ensaio de Metais Pesados**

A Farmacopeia Europeia (Ph. Eur.) cuja 1ª edição data de 1969, é uma referência de trabalho para o controlo da qualidade dos medicamentos constituindo uma base legal cientificamente comprovada, que contribui para a qualidade durante o desenvolvimento laboratorial e comercialização dos medicamentos na Europa [11].

Trata-se de um conjunto de informações que o fabricante tem de ter em conta perante a formulação, fabricação e controlo dos medicamentos. Estas informações estão relacionadas e devem ser seguidas e verificadas, durante as fases anteriormente anunciadas. Pelo que, todos os fabricantes de medicamentos, devem – quando possível – cumprir os padrões publicados na Farmacopeia, para poderem enviar o medicamento para o mercado de referência [11].

A Ph. Eur., de edição anterior à nona, apresentava o ensaio de metais pesados, que foi eliminado nessa mesma edição. Este ensaio de metais pesados tinha por base um método clássico de *Wet Chemistry*, desenvolvido há mais de 100 anos e podem ser referidas várias razões que levaram à eliminação do dito ensaio, mas salienta-se principalmente [12] :

- Falta de sensibilidade para quantificar níveis baixos de metais pesados;
- Falta de especificidade, isto é, capacidade de distinguir e quantificar metais pesados específicos.

Esta exclusão teve como data limite o dia 1 de janeiro de 2017, data da publicação da nona edição da Farmacopeia Europeia. Os novos subcapítulos, Limites para I.E. e Procedimento com I.E., terão de ser implementados na Farmacopeia de 10ª Edição, com publicação prevista para 1 de janeiro de 2020.

A importância de limitar os metais nos medicamentos, levou o Conselho Europeu, por meio da ICH, a criar a diretriz de qualidade *Q3D*, para impurezas elementares.

Ainda é de referir que, durante a fase de eliminação do capítulo referente aos ensaios com metais pesados da *Ph. Eur. 9.0.*, a ICH trabalhava na *guideline Q3D*, que tinha como data de implementação: junho de 2016, para novos medicamentos introduzidos no mercado; e 1 de janeiro de 2018 para medicamentos já existentes no mercado <sup>[12,13]</sup> .

No decorrer, a Direção Europeia da Qualidade dos Medicamentos e Cuidados de Saúde (EDQM) anunciou a revisão de duas monografias da *Ph. Eur.*, 2034 – Substâncias para uso Farmacêutico,

e a 2619 relativa à Preparações Farmacêuticas. Foi acrescentada uma secção “Impurezas Elementares” às duas monografias, sendo que o capítulo 5.20 da *Ph. Eur.* aplica-se aos limites das impurezas metálicas e ao seu controlo. Os métodos de determinação de I.E. são apresentados no capítulo 2.4. da *Ph. Eur.* [15].

Como a contaminação de um medicamento com I.E. pode ocorrer a partir de várias fontes, incluindo a sua matéria-prima, foi decidido que o principal foco tem de ser realizado no produto final. Desta forma, a terminologia também mudou, os metais passaram a ser denominados por I.E.

Este foco no produto final, garante que os contaminantes metálicos de todas as fontes são tidos em consideração (matéria-prima, processo de fabrico e equipamento, enchimento e acondicionamento) e é requerido avaliar o produto final quanto à presença das I.E. Esta avaliação deve ser efetuada por meio de uma análise de risco baseada em dados científicos, com uma análise deliberativa que poderá ser sustentada por meio de testes em laboratório.

## **2.4 Avaliação de Risco na Indústria Farmacêutica**

Com base nos pontos anteriormente descritos relativamente à exigência da indústria farmacêutica, verifica-se que a qualidade requerida é altamente controlada, visto que se trata de um mercado em que um pequeno erro pode gerar graves consequências ao consumidor e ao fabricante.

As empresas encaram diferentes tipos de riscos, que podem afetar os seus objetivos finais. Assim, a avaliação de risco, é parte constituinte de gestão do risco, que através de um processo estruturado, identifica como os objetivos finais podem ser afetados, e analisa o risco em termos de consequências e suas probabilidades, de forma a decidir se é necessária uma ação corretiva.

A avaliação de risco é efetuada por meio de métodos lógicos e sistemáticos, que permitem identificar, analisar, avaliar e tratar o risco associado a qualquer atividade, processo, função ou produto. Desde modo, o fabricante tem de realizar análise de risco às várias componentes do processo de produção e ao produto, de forma a definir o risco e garantir que este é mínimo e manipulável [14,15].

Numa empresa, o profissional encarregue da análise de risco de I.E., nos produtos farmacêuticos, poderá ser o técnico de garantia da qualidade, do departamento de garantia da qualidade. De entre as várias ferramentas disponíveis, a mais utilizada para esta análise é a FMEA, que tem de ser adaptada a este contexto, porque os limites definidos na diretriz Q3D são numéricos [18].

A avaliação de risco efetiva, cria a capacidade de responder a riscos suscetíveis de afetar negativamente a atividade da empresa, dado que é uma análise que trata de uma avaliação crítica, o que é de elevada importância, pois permite que uma empresa defina e priorize bem o seu risco, para que a qualquer momento esteja preparada para os resolver, tanto a nível de gestão, como a nível financeiro. O descrito anteriormente permite identificar a análise de risco como uma ferramenta que permite que a empresa apresente um perfil competitivo no mercado, pois tem por base uma análise que ajuda nos processos de tomada de decisão e uma resolução acertada das falhas [14,15].

No caso deste trabalho, a avaliação de risco permite uma verificação detalhada de todas as fases do processo de produção, e de todas as componentes presentes no ciclo de vida do produto até à fase do seu acondicionamento primário (inclusive). Desta forma, uma análise detalhada e bem especificada, permite detetar pontos de maior influência no risco, identificar a origem e o grau do

perigo, havendo possibilidade de atuar sobre o mesmo. Ainda neste trabalho, a avaliação de risco serviu para definir os produtos pior caso (maior risco), para posterior análise em ICP-AES.

Ou seja, a avaliação de risco é uma forma resumida de apresentação dos dados recolhidos, relevantes e específicos, dos produtos e componentes, combinados com informações e conhecimentos de produtos ou processos, que permitem identificar as possíveis consequências que podem ser observadas no medicamento [19].

## **2.5 Fases da avaliação de risco**

Atualmente, diversos setores industriais procuram adaptar o conceito de avaliação de risco, porque é considerado como uma das ferramentas chave, para se tornar numa empresa de sucesso.

Uma avaliação de risco advém de uma análise crítica, de todos os elementos integrantes do processo, ou seja, um estudo detalhado, de todas as variáveis manipuladas. O objetivo é que, por meio dessa análise, se torne possível organizar e priorizar os fatores que têm influência na variável alvo – variável controlada.

Dado o exposto, trata-se de um procedimento composto pelas seguintes fases: identificação, análise, avaliação e controlo. Em que, uma avaliação racional das variáveis manipuladas poderá ser um ponto de partida na fase do controlo, em caso de problemas que surjam, visto que, os riscos estão priorizados. Desta forma, com base no peso de cada variável manipulada, a pessoa encarregada, sabe o elemento em que deve atuar [20].

### **2.5.1 Identificação**

O passo inicial da avaliação de risco é a identificação, que engloba a pesquisa e o registo dos dados. É fundamental identificar todos os fatores que direta ou indiretamente influenciam a variável final.

Durante esta fase, a decisão dos fatores que influenciam a variável alvo, não faz sentido sem a devida atenção às causas e fontes de risco. Por isto, torna-se necessário responder a questões como [21]:

- O que poderá acontecer e porquê?
- Quais são as consequências da falha?
- Qual é a probabilidade da ocorrência do risco?
- Há fatores que poderão suavizar as consequências do risco ou reduzir a sua probabilidade de ocorrer?
- Identificar se já existem controlos para o dito risco como: pessoas, processos e sistemas.

Desta forma, é necessário qualificar e quantificar toda a informação registada, caso os dados necessários para o propósito estiverem disponíveis. Caso contrário, é necessário fazer suposições teóricas baseadas em artigos científicos ou literatura, de situações prováveis de acontecer, de forma a ter em consideração todos os pontos importantes.

### **2.5.2 Análise – FMEA**

A análise de risco é a fase que passa por entender o risco, de forma a tomar decisões se o dito risco tem de ser tratado e sobre as estratégias e métodos de tratamento mais apropriados. Esta

fase, pode ser iniciada com a definição das consequências do risco, que têm de ser organizadas conforme a sua gravidade. Ainda, é de ter em consideração, a probabilidade de ocorrência do risco, tendo em conta os tipos de controlo existentes e a sua eficiência.

A combinação das consequências e da ocorrência resulta na criticidade, ou seja, permite obter uma ideia de quão crítico e grave é a ocorrência desse risco. A outra parte integrante da análise de risco é a deteção, que dita sobre a dificuldade de detetar uma falha antes desta ocorrer.

O método a ser selecionado para a análise pode ser qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo. O grau de detalhe irá depender da área de aplicação e da disponibilidade dos dados, que permitem tomar a decisão.

A *guideline* Q3D dita que a avaliação de risco do produto, deve ser focada na avaliação das I.E. potencialmente presentes no medicamento, tendo por base o PDE de cada impureza apresentado nesta diretriz, pelo que se deve documentar todas as abordagens de avaliação e o controlo dos riscos. Esta avaliação tem de se basear nos princípios de análise de risco, apresentados da diretriz Q9 da ICH [19].

A Organização Internacional de Normalização ( *International Organization for Standardization* – ISO) apresenta várias técnicas de analisar o risco na ISO 31010 e dentro de várias técnicas apresentadas nesta ISO, destaca-se a Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA), técnica que pode devolver resultados quantitativos, de grau de incerteza medio e tem aplicação para componentes e produtos, durante o processo de fabricação ou operação. O FMEA permite garantir que todos os modos de falha dos sistemas e dos processos e os seus efeitos sobre o produto final foram considerados e também identificar os modos e efeitos do erro humano, fornecendo uma base para o planeamento de testes e da manutenção, quando necessário [17].

Assim, a técnica escolhida para efetuar a análise de risco é a FMEA, que tecnicamente é uma análise que permite combinar as partes integrantes da avaliação (gravidade, ocorrência e deteção), de forma a gerar um *Risk Priority Number* (RPN), que permite definir a “hierarquia”, por fontes, do risco [21].

Este método realiza uma análise qualitativa (o risco é definido por níveis “alto”, “médio” e “baixo”), o que a torna de certa forma uma ferramenta limitada. Apesar disso, a FMEA divide metodicamente a análise dos processos complexos, em etapas gerenciáveis, tornando-se numa ferramenta eficaz para resumir os modos importantes de falha, os fatores que causam essas falhas e os possíveis efeitos das mesmas [18].

### **2.5.3 Avaliação**

A avaliação de risco pode ser realizada em vários graus de detalhe. A avaliação deve ser consistente com o contexto e com os critérios desenvolvidos durante a análise.

Esta fase não é objetiva no caso do FMEA, pois as conclusões podem variar consoante a pessoa que trata dos dados. Ainda que, independentemente da pessoa a tratar da avaliação, os fatores principais e os riscos de maior criticidade devem ser os mesmos.

## **2.5.4 Controlo**

A última fase da análise de risco é o controlo, esta fase está diretamente dependente da avaliação. Sendo que, casos em que o RPN esteja acima do valor médio, ações têm de ser tomadas. Caso contrário, será possível concluir que os controlos existentes são suficientes para o sistema.

### 3 Impurezas Elementares

---

As I.E. são metais em concentrações vestigiais, que podem ser encontrados em produtos farmacêuticos. Estas impurezas quando não são intencionalmente adicionadas, não apresentam benefícios terapêuticos, e ademais, algumas I.E. são extremamente tóxicas para o ser humano. Como tal, torna-se necessário controlar a presença e a quantidade das I.E. nos produtos farmacêuticos, de forma a garantir valores inferiores a exposição diária permitida e minimizar a presença de I.E., que podem interferir na eficácia do medicamento ou provocar efeito tóxico direto no utente [17].

As I.E. presentes nos medicamentos podem ter diferentes fontes: podem estar nas matérias-primas da substância ativa ou dos excipientes; podem ser resíduos de catalisadores, adicionados ao processo durante a síntese das matérias-primas; ou, podem estar presentes como impurezas vindas do equipamento, utilizado no processo de fabrico; ou ainda, do sistema de acondicionamento primário. Estas impurezas são classificadas de acordo com a seguinte lógica [19]:

- **Classe 1:** Elementos tóxicos para o ser humano, independentemente da sua via de administração. Normalmente estão relacionados com a origem da matéria-prima, maioritariamente presentes em excipientes minerais. Elementos: Cd, Pb, As, Hg.
- **Classe 2A:** Elementos tóxicos para o ser humano. Alta probabilidade de estarem presentes em todas as possíveis fontes de contaminação. Elementos: Co, V, Ni.
- **Classe 2B:** Elementos que devem ser analisados somente quando adicionados intencionalmente ao processo. A toxicidade depende da via de administração. Têm baixa probabilidade de estar presentes em medicamentos devido à sua rara abundância na natureza. Elementos: Tl, Au, Pd, Ir, Os, Rh, Ru, Se, Ag, Pt
- **Classe 3:** Elementos de toxicidade baixa, via oral. Alguns elementos devem ser avaliados quando administrados pelas vias parenteral (Li, Sb e Cu). Se o medicamento é administrado via inalatória todos os elementos devem ser analisados; ou em todas as vias, se adicionados intencionalmente. Elementos: Li, Sb, Ba, Mo, Cu, Sn, Cr.

A avaliação da presença de I.E. tem por base as BPF e os limites estabelecidos na *guideline* Q3D disponibilizada pela ICH, que fornece os valores de PDE ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) para as vias: oral, inalatória e parenteral (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 Exposição diária permitida para I.E. [19]

I.E.	PDE Parenteral (µg /dia)	PDE Oral (µg /dia)	PDE Inalatória (µg /dia)
Cd	2	5	2
Pb	5	5	5
As	15	15	2
Hg	3	30	1
Co	5	50	3
V	10	100	1
Ni	20	200	5
Tl	8	8	8
Au	100	100	1
Pd	10	100	1
Ir	10	100	1
Os	10	100	1
Rh	10	100	1
Ru	10	100	1
Se	80	150	130
Ag	10	150	7
Pt	10	100	1
Li	250	550	25
Sb	90	1200	20
Ba	700	1400	300
Mo	1500	3000	10
Cu	300	3000	30
Sn	600	6000	60
Cr	1100	11000	3

A *guideline* Q3D apresenta um procedimento sequencial demonstrativo da forma como os valores para a exposição diária permitida foram obtidos para as vias de administração estudadas. O Modulo 1, *Developing an Acceptable Level for Other Routes of Administration*, também disponibilizado pela ICH, apresenta uma explicação detalhada do procedimento a adaptar para a estipulação de PDE para as vias de administração não contempladas na diretriz, como é o caso da via cutânea [17–19].

### 3.1 Fontes de Impurezas Elementares

Os produtos farmacêuticos, durante o percurso de fabrico, apresentam contacto com diversas fontes de I.E. Estas I.E. podem ocorrer no produto final por meio de adição intencional do fabricante, como por exemplo, partículas residuais do catalisador utilizado na síntese do produto ou matéria-prima. Como o produto final é composto pelo API e um ou mais excipientes, a probabilidade de inclusão de I.E. no produto final depende do número de excipientes que foram sintetizados na presença do catalisador e do processo de síntese do API.

Outra forma de cedência de I.E. ocorre de forma natural, o que abrange a origem da substância ativa e dos excipientes; condições de produção e os materiais de contato do equipamento durante a produção; por fim, as utilidades e o acondicionamento primário do produto final também podem apresentar contribuição com I.E.

As fontes de contribuição de I.E. para o produto final estão apresentadas na Figura 3.1.

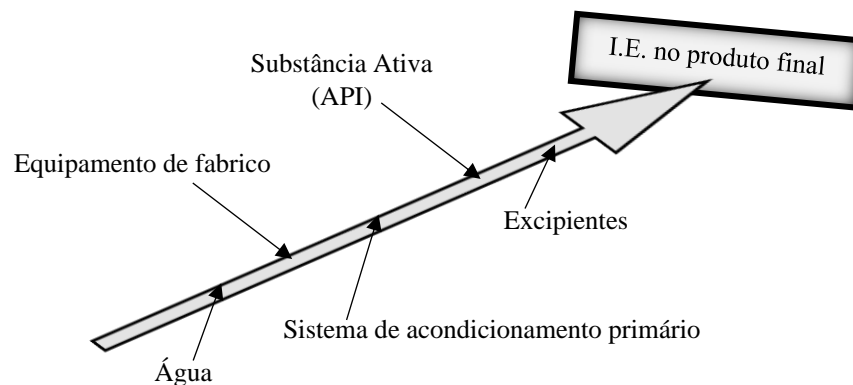


Figura 3.1 Fontes de I.E. no produto final [19]

As fontes que por norma apresentam maior contribuição de I.E., são os excipientes e a substância ativa. O anunciado anteriormente deve-se ao facto de que a origem do material tem elevado peso no que toca à presença de I.E.

O aumento do risco, associado à origem, está apresentado na Figura 3.2.

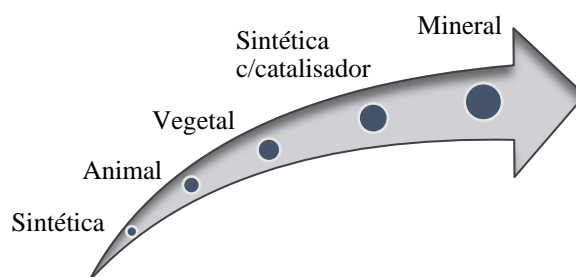


Figura 3.2 Atribuição do nível de risco de acordo com a origem da I.E. nos excipientes e API [24]

Através da observação da Figura 3.2., é possível verificar que, a origem sintética, sem uso de catalisador tem menor risco de introdução de I.E. para o medicamento. O material com esta origem é sintetizado em laboratório, passando por controlos regulares. Por esta razão, o fabricante sabe a composição atual e consegue prever a composição futura do material, no que toca às I.E. A origem que apresenta um risco relativamente superior à origem sintética, é a animal. É seguida pela origem vegetal que representa um risco acrescido, pois as plantas têm elevada capacidade de absorver metais nos seus meios de crescimento. Por fim, os excipientes de origem mineral, apresentam naturalmente I.E. com uma variação da composição, consoante a sua localização, daí os níveis de potenciais I.E. na origem mineral serem muito variáveis o que resulta num maior risco. A síntese, na presença de catalisador, pode deixar residuais deste, sendo que existe probabilidade de presença de resíduos tóxicos do catalisador após a síntese. O risco também é

superior para a origem mineral e para a sintética com catalisador, porque são as origens que têm uma purificação mais difícil, e não completa. Neste caso, a produção na presença de catalisador apresenta menos perigo do que a mineral, porque a fabricação é realizada com processos e controlos definidos [20,21].

A Figura 3.3. demonstra um exemplo resumido das potenciais fontes de I.E. de um produto semissólido e a contribuição destas para o produto final.

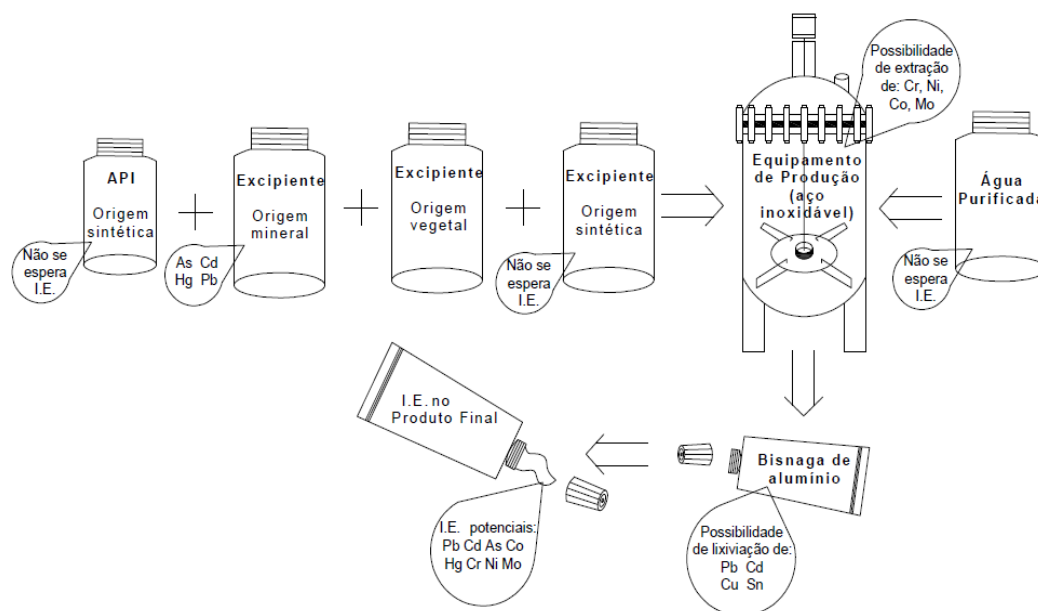


Figura 3.3 Exemplo demonstrativo da contribuição com I.E. para o produto final das várias fontes

### 3.1.1 Substância Ativa

Segundo a Infarmed, “A substância ativa é a definição que se dá a uma substância ou mistura de substâncias que são destinadas a serem utilizadas no fabrico de medicamentos e que, quando utilizada no seu fabrico, se torna um princípio ativo desse medicamento, destinado a exercer uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, com vista a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas ou a estabelecer um diagnóstico médico “ [27].

Com base na definição, é possível concluir que, quando se considera e avalia a substância ativa é fundamental considerar a fonte do seu perigo, neste caso a sua origem, visto que dada a sua composição, é a origem que no caso das I.E. poderá apresentar maior risco.

Ainda é de ter em conta as condições de produção da substância ativa. É fundamental que a produção seja rigorosa e de acordo com as BPF da substância ativa, de forma a evitar contaminação [27].

### 3.1.2 Excipientes

Segundo a Infarmed: “A definição legal de excipiente engloba qualquer componente de um medicamento, à exceção da substância ativa e do material da embalagem” [27].

Os excipientes são adicionados ao API com vários objetivos, como por exemplo, proteção e suporte, melhorar a biodisponibilidade da substância ativa, manter a segurança e a efetividade da substância ativa durante a validade do medicamento. Quando divididos pelas suas origens, os de origem animal são a lactose, gelatina e ácido esteárico; de origem vegetal: alginato, acácia, menta; de origem mineral: fosfato de cálcio, talco, parafina; e sintética: ácido bórico, ácido láctico, polietileno glicol, entre muitos outros [28].

Conclui-se que, tal como no API, o ponto crítico é a origem, sendo que se verifica que o excipiente é uma das principais fontes com contribuição de I.E. para o produto final, daí ser necessária uma análise detalhada a esta fonte, pelo que é de dedicar a respetiva consideração ao seu processo de fabrico e o ambiente em que foi desenvolvido.

### 3.1.3 Equipamento de Produção

A diretriz Q3D da ICH define que o equipamento de produção é uma possível via de I.E., mas “O risco de inclusão de impurezas elementares pode ser reduzido através da compreensão do processo, seleção de equipamento e seguimento da BPF” [19].

Todo o equipamento que contacta com as matérias-primas e com os produtos, pode apresentar contribuição de I.E. A capacidade de ceder metais, através do desgaste dos equipamentos, depende do material e das suas propriedades físicas, em que a cedência normalmente ocorre como resultado de condições agressivas durante o processo de produção.

Durante a produção, o produto contacta com diversos materiais, entre os quais está o silicone. Este material apresenta tendência para o desgaste mas não é esperado que este tenha tendência para ceder I.E, apesar de que as I.E. podem estar presentes na formação deste material. Assim, o risco de utilização de silicone quanto à avaliação de I.E. é baixo, como pode ser observado na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 Elementos a considerar para cada tipo de material [29]

<b>Materiais</b>	<b>Elementos que podem estar presentes</b>
ABS (Acrilonitrila butadieno estireno)	Mg
Vidro	Al, Ba, Ca, Fe, Mg, Si, Zr
PC (Policarbonato)	Ca, Si, Zn
PET (Polietileno tereftalato)	Co, Sb
PE (Polietileno)	Al, Ca, Cr, Pb
PES (Polietersulfona)	-
PP (Polipropileno)	Al, Ti
PMMA (Poli (metacrilato de metila)	Ca, Mg, Si
PTFE (Politetrafluoretileno)	Ca, Fe
Elastômeros	Al, B, Ca, Mg, S, Si, Zn
PVC (Policloreto de vinila)	Ca, Zn
Silicone	Si

Vários polímeros podem conter I.E. na sua composição, como resultado do seu processo de fabrico, sendo que, dentro dos mais utilizados estão o PE e o PP. O primeiro pode, potencialmente, ter crómio e chumbo na sua composição. Quanto ao PP, não se espera que este tenha I.E., apresentadas na *guideline* Q3D, como pode ser verificado na Tabela 3.2 Também é importante referir que, o PE é fabricado na presença de catalisadores, que têm por base o zircónio, o titânio ou o crómio [26,27]. Relativamente ao PP, este tem processos para a sua formação tanto na presença, como na ausência de catalisador, e normalmente são utilizados catalisadores de titânio, elemento não contemplado na diretriz Q3D [32]. Quanto ao PET, este é formulado na presença de catalisador (trióxido de antimónio), pelo que existe possibilidade de migração do antimónio presente no material PET para o meio, ou produto com o qual contacta [33]. Estes são materiais menos resistentes face ao aço inoxidável, mas são desenhados com flexibilidade de suportar os materiais/solventes, ou seja, são específicos para o processo. Mesmo assim, a combinação de condições agressivas de pH, temperatura, tempo de contacto e o tipo de substância podem aumentar o risco de cedência de I.E. [28].

O vidro apresenta-se como o material mais seguro para o contacto com os produtos e/ou matéria-prima, podendo assim ter uma baixa classificação quanto ao seu nível de risco [34].

No caso do aço inoxidável, a sua composição, independentemente do tipo, tem sempre ligas de crómio e níquel. Num estudo acerca da capacidade de o aço inoxidável ter potencial de ceder metais para alimentos, foi verificada esta suposição, apesar de no estudo ser utilizado o tipo de aço inoxidável SS 201, o estudo permite concluir que o pH, que varia entre 2.63-4.43, tem influência sobre a capacidade de cedência de Fe, Cr e Ni. O que significa que, um solvente agressivo tem impacto no material. Ainda, no mesmo trabalho, é relatado que as quantidades cedidas dependem do tempo de armazenamento no recipiente [35].

Também pode ser verificado que a temperatura apresenta influência na cedência. Um outro estudo foi efetuado entre os -40°C e 25°C, verificando que o aumento da temperatura, aumenta a capacidade de cedência, e que o tempo de armazenamento, por sua vez, também é um fator a considerar [36].

Num outro estudo, com o tipo de aço inoxidável 316L foi verificado que não há cedência de níquel quando ligas deste material foram imersas, durante uma semana em soluções com pH variável, a 23 °C, ao contrário dos outros tipos de aço inox, o que mostra que o aço inoxidável 316L é mais seguro do que os outros tipos de aço inoxidável descritos [37].

### **3.1.4 Água Purificada e Água para Injeção**

Segundo a diretriz Q3D da ICH “*O risco de inclusão de I.E. a partir da água utilizada no processo, pode ser reduzido cumprindo as normas apresentadas na Ph. Eur., no que toca à qualidade requerida da água no processo, se a água purificada ou a água para injeção, é utilizada no processo*” [19].

A água é um dos principais recursos utilizados pela indústria farmacêutica, e pode ser utilizada como excipiente, durante a síntese, durante a produção do produto final ou como agente de limpeza. Desta forma, conforme o destino da água, diferentes graus de qualidade são necessários [38].

A Ph. Eur. fornece padrões de qualidade da água para uso farmacêutico, incluindo água para preparações injetáveis (PPI) e a água purificada (PUR), em que até abril de 2017 a produção de água PPI estava limitada apenas a destilação, mas após a data foi permitido o uso de processos de purificação equivalentes à destilação, como osmose inversa (OI) em conjunto com técnicas apropriadas, como eletrodesionização, ultrafiltração ou nano filtração [38].

Quanto à definição, a água PPI é o tipo de água que tem de ser utilizado para a preparação de medicamentos para administração parenteral, quando a água é utilizada como excipiente, ou para dissolver ou diluir substâncias ou preparações. A água PUR é o tipo de água utilizada para a preparação de medicamentos que não sejam aqueles que têm de ser estéreis e apirogênicos, a menos que seja caso justificado e autorizado [38].

A água utilizada no processo de fabrico de medicamentos tem de ser uma água tratada, o que garante que, desta fonte não ocorre contribuição com I.E. para o sistema, pelo que o controlo de qualidade da água é um procedimento fundamental para o fabricante de produtos farmacêuticos.

Os principais poluentes, potencialmente presentes na água, são sobretudo contaminantes orgânicos, inorgânicos e biológicos. Dentro dos contaminantes que ocorrem naturalmente, a contaminação das águas subterrâneas com arsénio pode ocorrer em qualquer local do mundo. Por outro lado, dependendo da localização, a água pode conter diferentes I.E., mas principalmente: chumbo, mercúrio, crómio, arsénio e níquel, como pode ser observado na Figura 3.4. [39].

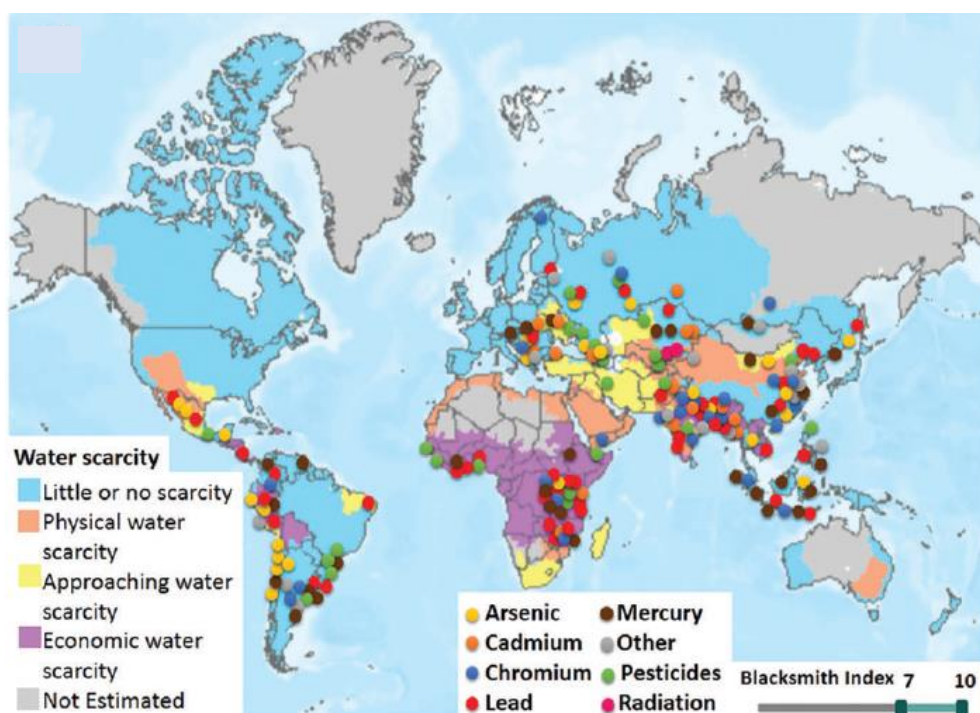


Figura 3.4 Distribuição geográfica de diferentes contaminantes presentes na água [39]

Para purificar a água existem vários métodos que variam consoante a sua eficiência, valor de aquisição e valor de manipulação. As tecnologias frequentemente utilizadas para a purificação da água a fim de remover metais pesados são: osmose inversa e a eletrodesionização, entre outras. E a maior parte destas tecnologias têm eficiência superior a 90% [39].

A primeira tecnologia, OI, no caso de remoção das I.E., é usada principalmente para tratar grandes quantidades de água subterrânea, esta tecnologia é muito eficiente com a maioria dos iões. Aqui, os iões são separados da água por meio de uma membrana semipermeável, por aplicação de uma pressão hidrostática que é determinada pela pressão osmótica, e a natureza hidrofílica das membranas da OI facilita o transporte de água através desta membrana. A OI não é seletiva quanto à remoção dos iões, pelo que a água precisa sempre de um pós-tratamento. No entanto, neste tipo de purificação da água, ocorrem altas perdas da água purificada, elevado consumo energético e grande investimento inicial, que são as principais desvantagens desta tecnologia [39].

A eletrodesionização (CDI) permite separar iões de metais pesados e os iões de sais da água, com a utilização de elétrodos e campo elétrico. Por exemplo, esta tecnologia consegue separar e remover  $Pb^{2+}$  e  $Na^+$ , com eficiências de até 99,9% e 98,7%. A seletividade dos elétrodos e as resinas seletivas, de troca iônica, na superfície dos elétrodos, são a justificação para a remoção eficiente de iões de metais pesados desta tecnologia [39].

Na Figura 3.5. são apresentadas várias tecnologias de purificação da água e as respetivas eficiências. Verifica-se que a técnica que envolve a troca iônica apresenta maior eficiência no que toca a remoção de I.E.

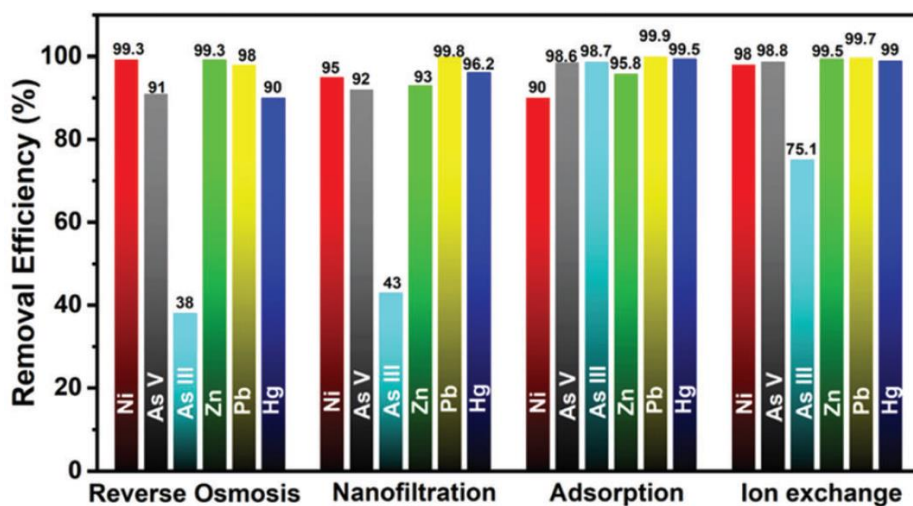


Figura 3.5 Técnicas de purificação da água e respetivas eficiências [39]

Os processos utilizados para o tratamento da água nos Laboratórios Vitória são apresentados nos dois seguintes pontos.

### Água Purificada [20] :

A produção da água purificada começa com uma filtração, através de um filtro de areia (sílex/antracite), da água de rede, que tem como função a retenção de partículas de tamanho superior a 25  $\mu m$  e redução da carga de material coloidal. Esta filtração é necessária para otimizar o rendimento posterior da osmose inversa, visto que as membranas podem colmatar, se a carga de coloides em suspensão na água for grande.

De seguida, a água filtrada passa por um descalcificador duplex que retém o cálcio e o magnésio da água filtrada (se existir), ou seja, elimina-se a dureza da água, evitando, por sua vez, a precipitação do carbonato de cálcio nos equipamentos. Após a descalcificação, a água tem que ser filtrada, com filtro de polipropileno, que retém partículas superiores a 1  $\mu m$  a partir de onde é

enviada para a unidade de OI, onde reduz-se o conteúdo salino, em cerca de 96% - 98% e em 99% de matéria orgânica. Na Figura 3.6. é apresentado um esquema demonstrativo da OI.

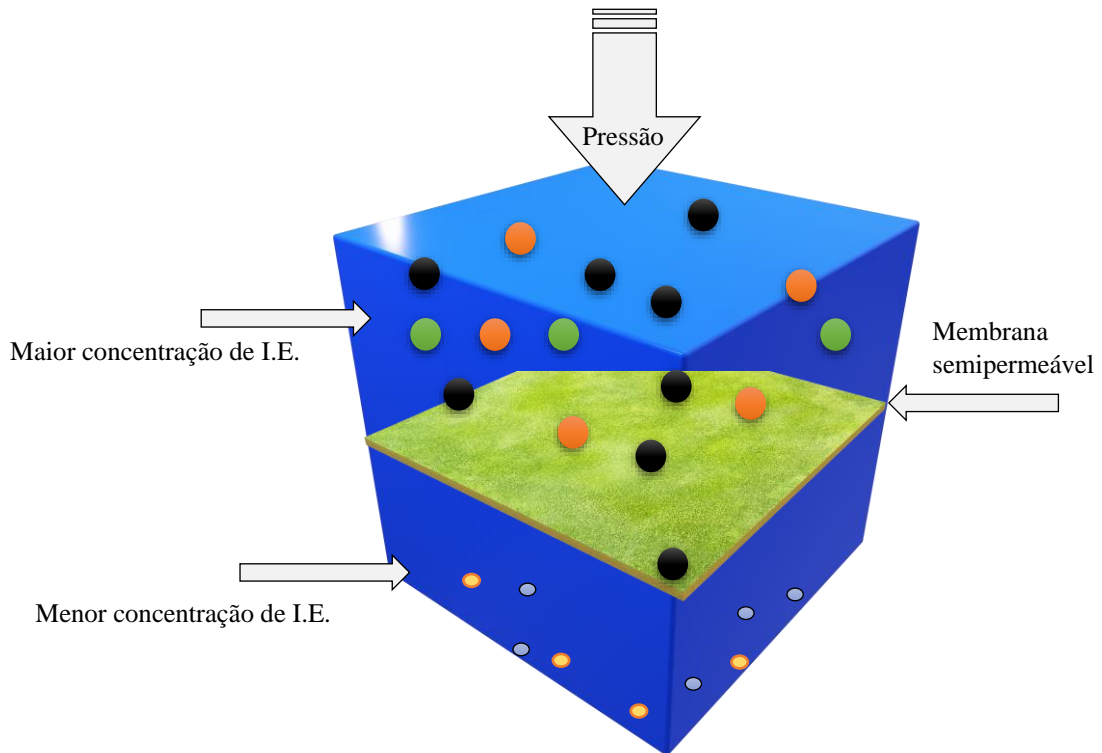


Figura 3.6 Esquema representativo do funcionamento da OI [40]

Após a unidade de OI, a água é enviada para o sistema CDI em que os íões são retidos por meio de resinas de intercâmbio iônico, contidas dentro de um módulo, e transportadas por meio de uma corrente elétrica. À saída do CDI está instalado um sensor de condutividade, que vai dando informações a cada momento sobre a qualidade da água. Um exemplo do funcionamento do CDI está representado na Figura 3.7.

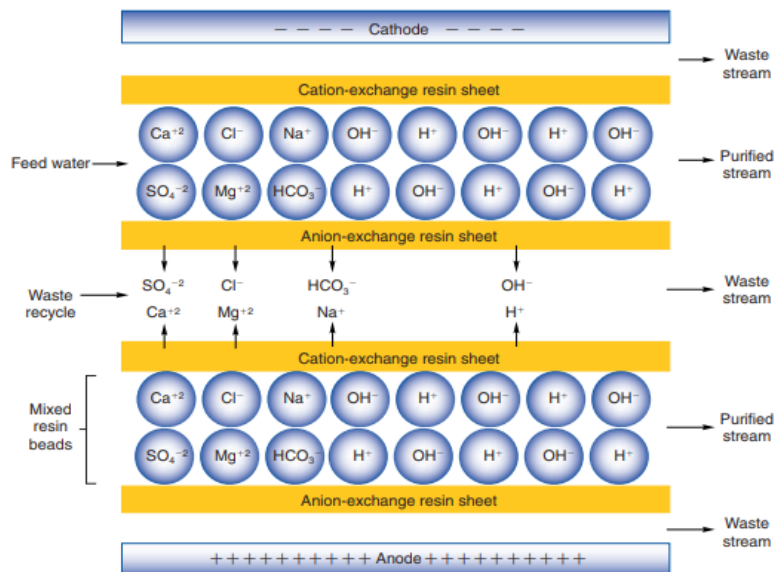


Figura 3.7 Funcionamento do CDI [41]

Podemos observar que a unidade CDI tem camadas alternadas de resina de troca catiónica e aniónica. No meio de cada par de resinas está localizado um espaço que são os canais por onde entra a água. Cada um destes canais (entre as membranas) está preenchido com resinas seletivas aniónicas e catiónicas. Os canais não preenchidos com leitos de resinas são para água de salmoura, ou seja, é o fluxo dos resíduos. O conjunto das camadas de resinas e dos seus canais é denominado de pilha. Cada extremidade da pilha tem um eléctrodo, por forma a que, quando é aplicada corrente aos eléctrodos, o eléctrodo carregado positivamente (ânodo) atrai aniões (carga negativa), enquanto que a outra extremidade tem o cátodo, atrai catiões (carga positiva). Desta forma, os catiões presentes na água de alimentação ao CDI irão mover-se para o lado do cátodo, como também os aniões, que irão mover para o lado do ânodo, pelo que desta forma, ao passarem pelas camadas de resina, ficam presos dentro do canal, donde são eliminados com água de salmoura [41].

No fim, a água proveniente do CDI, passa por um equipamento de ultravioleta (UV) onde são eliminadas 99,9% de bactérias, para garantir a qualidade microbiológica,

A água tratada na linha é acumulada num depósito donde é bombeada e distribuída a todos os pontos de uso. Como o anel de distribuição é fechado, a água não consumida volta ao depósito. Ainda é de referir que, o anel deve estar sempre em funcionamento, a uma velocidade mínima de segurança, para evitar a estagnação da água.

A sanitização (redução de microrganismos críticos para a saúde até níveis seguros) do anel é realizada com o aumento da temperatura, para valores superiores a 85°C, e mantendo esta temperatura durante 2 horas.

De acordo com a *Ph. Eur.* 9.4., se a água PUR não satisfizer os requisitos de condutividade prescritos para a água para injeção, é necessário realizar uma avaliação de risco de acordo com o capítulo geral 5.20. Esta avaliação de risco deve considerar o papel da água no processo de fabricação em particular quando a água é utilizada no processo, mas não está presente no produto final [42].

### **Água para Preparações Injetáveis [20]:**

A destilação da água, para preparações injetáveis, é a etapa final da purificação para este tipo de água, sendo que, a destilação é realizada na água já tratada, através de um bi-destilador de colunas.

Para isto, um dos pontos do anel de água purificada, alimenta o destilador que produz a água de qualidade para preparações injetáveis. A água produzida pelo destilador acumula-se num depósito, do qual é bombeada e distribuída pela tubagem, ficando disponível em diferentes pontos. A água não consumida volta ao depósito.

A linha de água PPI é sanitizada a cada duas semanas, sempre que houver uma paragem de mais de duas horas ou falta de especificação física ou microbiológica. Ainda, na linha de água PPI está instalado um TOC (Carbono orgânico total) online, para monitorização da qualidade diária da qualidade da água PPI.

### 3.1.5 Material de Acondicionamento

Os produtos farmacêuticos devem ser armazenados em recipientes que não afetem de forma adversa a qualidade do produto e, por sua vez, têm de oferecer a proteção adequada, contra as influências externas. Todos estes recipientes têm de ser devidamente rotulados com , pelo menos, a indicação de: nome do produto, o número do lote, prazo de validade ou o novo teste, condições de armazenamento especificadas e a referência à farmacopeia, quando for caso aplicável [43].

Desta forma, o acondicionamento primário consiste no conjunto de materiais que entram em contacto direto com o produto desde o seu fabrico até ao uso pelo utente final e tem como principais funções a contenção e a proteção, mas por vezes pode também ser uma fonte de I.E.

Os principais materiais de acondicionamento primário são: o vidro, o plástico (PVC, PVDC, PE) e o alumínio. Donde, o vidro continua a ser o material mais seguro apesar de haver vários tipos de vidro de borossilicato, onde é utilizado óxido de arsénio (I.E. de Classe 1) para remover bolhas durante a fusão [44].

Há três tipos de vidro utilizados na industria farmacêutica [45]:

- Tipo I – Contentores apropriados para preparações que são ou não administradas via parenteral;
- Tipo II – Contentores apropriados para a maioria de preparações líquidas ácidas e neutras, sendo parental ou não, a via de administração;
- Tipo III – Contentores que são adequados para preparações não aquosas de administração parentérica (exceto para preparações liofilizadas) e para preparações que não são para administração parentérica.

Quanto ao plástico, este é normalmente utilizado como acondicionamento primário de sólidos orais, como por exemplo blisters que têm como material PVC. Também pode ser utilizado para acondicionamento primário de soluções orais, em ampolas, que têm na sua composição: PVC, PVDC e PE, em que o polietileno pode ter I.E., das classes em avaliação (Tabela 3.2). Relativamente ao risco de cedência de I.E. para formas sólidas, armazenadas em blisters, estas apresentam uma interação mínima com o material de acondicionamento, pelo que, o respetivo risco é baixo [29, 30].

No que toca aos semissólidos, estes por norma são armazenados em bisnagas, que têm revestimento interior em alumínio (~99,7%) revestido por uma laca que tem por base a resina fenólica epóxi. Esta resina tem como matéria-prima o Bisfenol A (BPA) que demonstrou capacidade significativa de sofrer lixiviação quando em contato com solventes semi-polares a partir de 3 semanas de armazenamento e temperaturas entre os 30°C e 40°C [48].

Na Tabela 3.3 podem ser observados resultados de estudos efetuados sobre diferentes materiais.

Tabela 3.3 I.E. potencialmente presente no material de acondicionamento primário

Material	I.E.
Vidro	As [44] [49]
PVC	-
PVDC	-
PE	Cr [30]
Revestimento de Alumínio com BPA	Cd, Pb, Cu, Sn [50]

### 3.2 Outras Vias de administração não contempladas na diretriz Q3D – Via Cutânea

Como anunciado anteriormente, a exposição diária permitida apresentada na diretriz Q3D não apresenta valores para a via cutânea, mas como se trata de uma via frequente de administração de vários produtos, torna-se necessário o estabelecimento dos valores de exposição máximos permitidos.

Como a equipa de especialistas da ICH encontra-se a trabalhar na diretriz Q3D (R2) relativa à outras vias de administração – cutânea e transdérmica, neste momento não existem limites estabelecidos na *guideline*, pelo que há necessidade de estimar estes mesmos valores, tendo como base o guião – *Module 1 – Developing an Acceptable Level for Other Routes of Administration* – disponibilizado pela ICH.

Cada I.E. é única, ou seja, cada uma apresenta diferentes propriedades e perigos, pelo que, os princípios a seguir para a estipulação dos seus valores de PDE podem variar conforme esta. Assim para a estipulação de valores de PDE cutâneos, se não houverem dados quantitativos de experiências/testes em laboratório, que apresentam valores de NOAEL ou LOAEL, têm como ponto de partida o facto de se um metal é ou não sensibilizador (pode provocar efeitos locais).

Quando se trata de uma I.E. que não demonstra atividade sensibilizante, o ponto de partida é a via oral. Neste caso, tem-se por base a biodisponibilidade da I.E. para a via oral e para a via cutânea, o que permite uma extrapolação para o PDE cutâneo.

Quando a I.E. atua como sensibilizador, um estudo mais aprofundado das suas propriedades é necessário, de forma a decidir qual a via de administração, como ponto de partida, para a estimação do PDE. Esta decisão tem de ser tomada com base nos efeitos terapêuticos do produto – efeitos locais ou sistémicos. Trata-se de uma avaliação crítica, qualitativa. O procedimento a adaptar pode ser verificado na Figura 3.8.

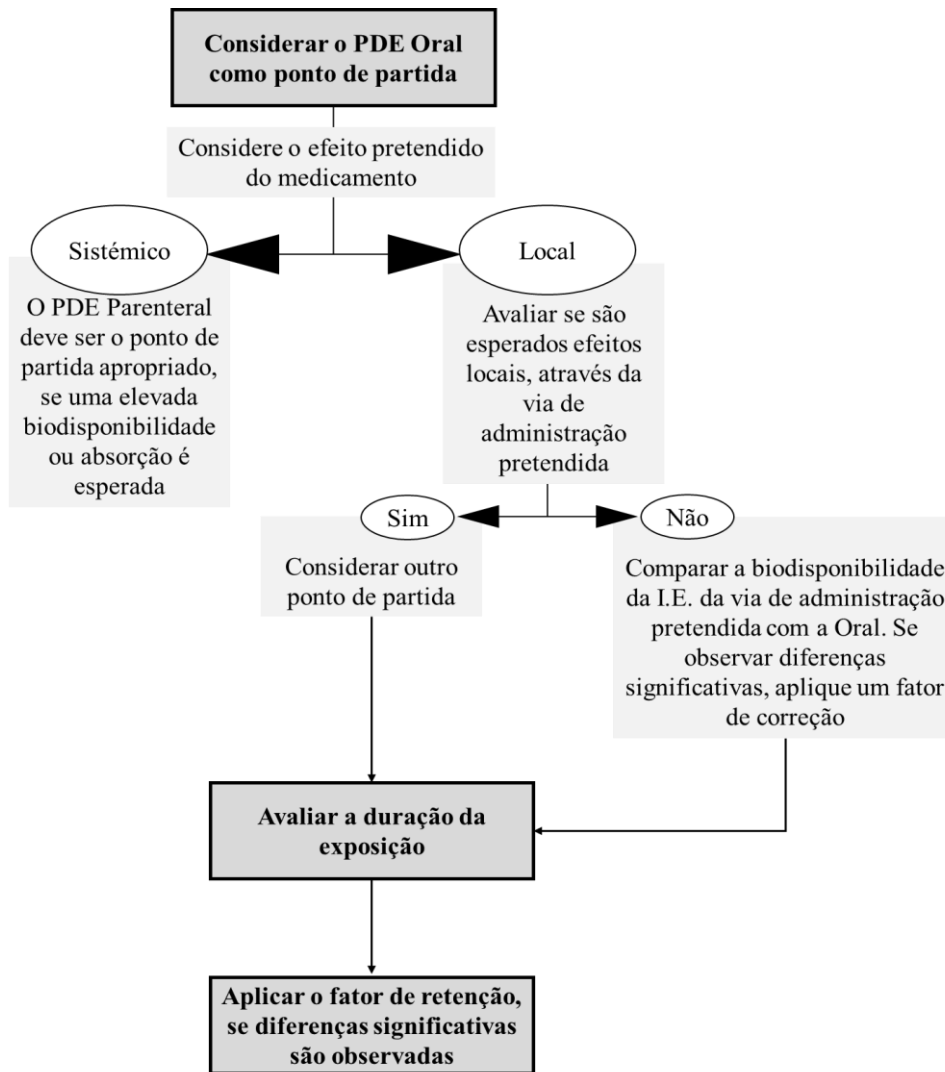


Figura 3.8 Guia para a derivação do PDE para vias de administração não contempladas na diretriz Q3D [51]

### 3.2.1 Metodologias de Conversão para PDE Cutâneo

#### ⇒ Impurezas elementares não sensibilizadoras

Quando a I.E. não provoca efeitos locais, o ponto de partida é o valor de exposição diária permitida para a via oral.

Para extrapolar é necessário considerar a biodisponibilidade da via oral comparativamente à da via cutânea, para a dada I.E.

De seguida, por meio da razão  $\frac{\text{Biodisponibilidade via oral}}{\text{Biodisponibilidade via cutânea}}$  é possível obter o valor do fator de correção (CF).

### ⇒ Impurezas elementares sensibilizadoras

Para o caso em que a I.E. provoca efeitos locais sobre a pele o ponto de partida é normalmente a via parenteral. O procedimento a seguir é idêntico ao descrito para as I.E. não sensibilizadoras.

A equação a aplicar para determinar o PDE cutâneo está apresentada de seguida:

$$PDE_{CUTÂNEA} = PDE_{PARTIDA} \times CF \times 1/RF$$

Onde,

$PDE_{CUTÂNEA}$  – Valor de exposição diário permitido, para a via de administração cutânea

$PDE_{PARTIDA}$  – Valor de exposição diário permitido, para a via de administração de partida

CF – Fator de correção

RF – Fator de retenção

Quando há vários valores de biodisponibilidade disponíveis, provenientes de diferentes estudos, é necessário considerar sempre o maior, visando cobrir o pior caso [23].

### 3.2.2 Biodisponibilidade

Segundo a Infarmed: “A biodisponibilidade é um termo farmacocinético, que descreve a velocidade e o grau que uma substância ativa ou a sua forma molecular, terapeuticamente ativa, é absorvida a partir de um medicamento e se torna disponível no local de ação. A avaliação da biodisponibilidade é realizada com base em parâmetros farmacocinéticos calculados a partir dos perfis de concentração plasmática do fármaco ao longo do tempo” [52].

Após a administração da medicação através da via tópica, as medições farmacocinéticas efetuadas, no sangue, plasma ou urina, não são viáveis, pois as concentrações normalmente são muito baixas [53]. Isto porque, um medicamento administrado através da via tópica tem de ultrapassar as barreiras da pele: camada córnea (camada superior, fina, da epiderme), epiderme e a derme, composta por uma rede complexa de capilares [53].

Os medicamentos são formulados de forma a ter efeito terapêutico, no local de aplicação, após a administração, na superfície da pele. A finalidade é maximizar a concentração do produto, no local de aplicação, com uma absorção sistémica mínima. Por esta razão, a biodisponibilidade sistémica pode nem sempre refletir de forma adequada a biodisponibilidade cutânea [53].

Os valores de absorção cutânea, por norma, são inferiores às outras vias de administração. A maior biodisponibilidade é verificada para as vias inalatória e parenteral. A via oral normalmente pode ter uma biodisponibilidade que varia de 1 a 100%, dependendo exclusivamente da I.E. Assim, quando maior a biodisponibilidade da I.E. para a dada via, maior a quantidade da impureza que fica disponível no organismo, pelo que as I.E. que têm maior biodisponibilidade apresentam maior perigo quando comparadas às que têm menor biodisponibilidade.

Quanto à via de administração parenteral, esta normalmente, apresenta maior biodisponibilidade, pois são medicamentos aplicados diretamente na circulação sanguínea, que ficam, com a dose administrada, imediatamente disponíveis para o utente. Esta via apresenta valores superiores a 85%, normalmente. Também a via inalatória apresenta biodisponibilidade elevada pelo facto de que as impurezas entram de imediato para o sistema circulatório [19].

Assim, quando maior a biodisponibilidade, mais rápido e maior é a dose, da que foi administrada, que fica disponível ao utente. Este é um dos aspetos que é considerado quando uma dosagem está estipulada, pois uma elevada biodisponibilidade pode estar relacionada com um maior perigo. É por esta razão que as dosagens máximas permitidas não devem ser excedidas, salvo exceções.

De acordo com os pontos anteriores, é fundamental considerar a biodisponibilidade, e tê-la como ponto de partida para a estipulação do PDE cutâneo, apesar de que os metais apresentam uma biodisponibilidade baixa para esta via de administração.

### **3.2.3 Fator de Retenção**

O fator de retenção, introduzido pela SCCNFP (*Scientific committee on cosmetic products and non-food products intended for consumers*) é um fator que deve ser considerado quando se trata de produtos acabados para aplicação em pele, ou couro cabeludo. Trata-se de uma variável que, tendo por base o tempo que o medicamento está em contacto com o local de administração, define um valor a adaptar para a estipulação do PDE, ou seja, é o fator que avalia o tempo de permanência do produto na superfície da pele ou outro local de aplicação.

Os valores para o fator de retenção (RF) são definidos entre 0,01 e 1, onde um fator de retenção baixo deve ser considerado para o gel de banho, shampoo, e pasta de dentes. Para o caso de sprays, o fator de retenção a considerar é de 0,1. O maior fator de retenção (1) deve ser selecionado quando se trata de produtos, como cremes/loções de aplicação corporal ou facial e desodorizantes [54].

### **3.2.4 Reações adversas**

Os medicamentos administrados através da via cutânea, que têm I.E. na sua composição, podem causar reações adversas. São conhecidos vários efeitos nefastos causados pelos metais quando em contacto com a pele, sendo que, os efeitos mais comuns causados são: a alergia de contacto e a dermatite alérgica de contacto. Neste caso, as substâncias que causam efeitos locais são denominadas de sensibilizadores, sendo que, os mais conhecidos são: o níquel, o mercúrio, o ouro, o cobalto e o paládio [55].

O tipo de dano causado pela I.E., depende do estado da pele. Uma pele lesionada está mais propícia a ter efeitos adversos mais intensos e tóxicos, pois está sem a camada superior, que serve de proteção. O facto de uma I.E. ter efeitos nocivos na pele, é um fator decisivo quanto à escolha do ponto de partida, pois a existência ou não destes efeitos, dita a via de administração de partida para a determinação do PDE.

### 3.2.5 Descrição por Impureza Elementar

Algumas I.E. são nutrientes essenciais à saúde humana e que, em quantidades controladas não apresentam efeitos tóxicos e têm de ser reconhecidos como tais, na regulamentação.

Mas como a maioria dos metais não têm nenhum efeito benéfico, ou não se apresentam como essenciais, as diretrizes regulamentares limitam a exposição humana ao nível mais baixo, conhecido por ter um efeito adverso para a saúde [56].

A Tabela 3.4 apresenta as características respetivas à cada I.E. da diretriz Q3D:

Tabela 3.4 Biodisponibilidade e efeitos adversos das I.E.

Classe	I.E.	Biodisponibilidade tópica	Efeitos Adversos	Ponto de partida
1	Cd	0,5% [57] 0,1% [58]	Dermatite de contato alérgica [59] [60]	Oral
	Pb	1% [23]	Cancerígeno [61]	Oral
	As	3% [23][62] 0,76% [63]	Hiperqueratinização [64] Dermatite de contato alérgica [59] NO(A)EL = 0,078 mg/m <sup>3</sup> [64]	Oral
	Hg	10% [58]	Dermatite (Urticária e Eczema) [59]	Oral
2	Co	10% [65]	Vermelhidão, Comichão ou Urticária, Eczema [66]	Oral
	V	-	Vermelhidão, Comichão ou Urticária, Eczema [66]	Oral
	Ni	2% [59][62] 1% [58]	Vermelhidão, Comichão ou Urticária, Eczema [66] NOAEL = 2,2 mg/kg/dia [67]	Oral
2B	Tl	-	Permeia rapidamente a pele [59] Polineuropatia e Alopecia [61] DL50 (ratos)=117 mg/kg [59]	Oral
	Au	-	Dermatite de contato alérgica [61]	Oral
	Pd	10% [68]	Mesma absorção tópica e oral [68] Dermatite de contato alérgica [59] LOAEL = 5400 µg/kg [67]	Oral
	Ir	10% [69] [23]	Pode ser comparado a outros do grupo, p.e. Pt	Oral
	Os	10% [69] [23]	Pode ser comparado a outros do grupo, p.e. Pt	Oral
	Rh	10% [69] [23]	Pode ser comparado a outros do grupo, p.e. Pt	Oral
	Ru	10% [69]	Pode ser comparado a outros do grupo, p.e. Pt	Oral
	Se	27% (ratos) [70]	Urticária, Potencialmente cancerígeno [59] LOAEL = 2,9 µg/kg [70]	Parenteral
	Ag	1% [71] [72]	-	Oral
Pt	10% [69] [23]	Alergia e Irritação [59]	Oral	
3	Li	Negligível [73]	-	Oral
	Sb	-	Irritação e intoxicação sistémica [59]. NO(A)EL = 8300 µg/kg [74]	Parenteral
	Ba	-	LOAEL = 2000 mg/kg [75]	Oral
	Mo	0,2% [62]	Dermatite, Eczema [59]	Oral
	Cu	0,3% [76]	Alergia [59] NOAEL = 26 mg/kg/dia [67]	Oral
	Sn	-	Irritação e intoxicação sistémica [59]	Parenteral
	Cr	-	Vermelhidão, Comichão ou Urticária, Eczema [66]	Oral

**Nota:** Deve ser considerado sempre o maior valor de biodisponibilidade encontrado na literatura.

A via de administração a considerar é parenteral quando se verificam efeitos sistémicos.

## 4 Métodos de determinação de I.E.

Existem várias técnicas para a determinar as I.E. presentes na amostra, das quais as mais utilizadas são: a espectrometria de emissão atômica por plasma induzido (ICP-AES), espectrometria de massa por plasma induzido (ICP-MS) e a espectroscopia de absorção atômica (AAS).

Estas técnicas são diferentes e de forma a determinar a técnica mais adequada é necessário ter em conta vários fatores, como por exemplo, o tipo de amostra da qual dispomos e o grau de detalhe procurado. Desta forma, um dos parâmetros fundamentais é o limite de detecção da técnica. Todos os outros parâmetros disponíveis devem ser considerados também para definir a técnica adequada para a análise.

A Tabela 4.1 apresenta as técnicas descritas e as respetivas características.

*Tabela 4.1 Comparação das várias técnicas de determinação de I.E.*

<b>Técnica</b>	<b>LOD</b>	<b>Precisão</b>	<b>Exatidão</b>
ICP-AES	0,6 ppb – 2 ppb (Ag, As, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb, Sn) [77]	CV<13% [79]	82%-113% (As, Cd, Cr, Pb) [80]
	0,006 ppm-0,116 ppm (As, Cd, Hg, Pb, Ni, V, Co, Pd, Tl) [78]		70%-149% [78]
ICP-MS	<0,05 ppm (Mo, V, Co, Cd, As, Hg, Sn, Ba) e <0,5 ppm (Cr, Ni, Pb, Cu) [81]	CV<15% [81]	94%-104% (Pb, Cd, Hg, As) [83]
	0,00004 – 0,001 ppb (Ag, As, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb, Sn) [77]		96%-103% [78]
	0,002-0,03 ppm (Cr, As, Cd, Ni, Hg, Pb) [82]		
AAS	1,6-2,8 ppm (Pb, Ni) [84]	CV< 12% [86]	91%-109% (Cd, Pb, Hg) [86]
	1,5 ppb-300 ppb [77]		
	0,07-0,09 ppm (Cd, Pb) [85]		97%-104% (Pb, Ni) [84]

Através da análise dos limites de detecção podemos verificar que, as três técnicas apresentam limites de detecção inferiores aos PDE de cada I.E. estabelecidas na diretriz, pelo que são técnicas que podem ser utilizadas para a medição destes elementos.

Como ambas as técnicas ICP-AES e ICP-MS permitem cumprir as especificações da diretriz e apresentam limites de detecção inferiores à técnica AAS é de optar por uma das técnicas de ICP, dado que permitem avaliar I.E. em produtos que têm uma dose diária mais pequena.

De forma a compararmos as técnicas a nível económico, é preciso ter por base a Tabela 4.2

Tabela 4.2 Gastos referentes a cada tipo de técnica de medição de I.E. para um ano de utilização [77]

Técnica	Gases (\$)	Energia (\$)	Consumíveis (\$)	Total (\$)
ICP-AES	2100	500	3100	5700
ICP-MS	2750	500	10000	13250
AAS	4700	100	1750	6550

Assim, com base no custo total operativo do equipamento durante um ano e considerando um ano de 250 dias úteis, funcionamento do equipamento de 4 horas por dia (1000 horas por ano). Pretendendo fazer a medição a 10 elementos, e sabendo ainda que a técnica AAS demora 20 segundos a fazer duas leituras a um elemento e a ICP-AES e ICP-MS em média 3 minutos a uma amostra. Podemos fazer a seguinte aproximação, o preço médio de uma medição para AAS é de 0,36\$, para o ICP-AES é de 0,29\$ e para o ICP-MS é de 0,66\$. Verifica-se que o custo por medição para o ICP-AES é inferior às outras técnicas, pelo que é economicamente mais viável para estes tipos de análise [77].

É de ter em consideração que o custo operativo anteriormente indicado, não contempla o custo do equipamento, pelo que uma análise de uma amostra no ICP-AES num laboratório certificado a 30 elementos apresenta um preço médio de 260\$ [87].

## • ICP-AES

Pretendendo-se determinar e quantificar as I.E. presentes na amostra, recorre-se técnicas que envolvem radiação eletromagnética, que é absorvida ou emitida pelos átomos da amostra.

O método analítico utilizado neste trabalho é a Espectrometria de Emissão Atómica por Plasma Induzido “*Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry*” (ICP-AES), sendo uma técnica que permite uma análise simultânea a vários elementos dando uma perspetiva qualitativa e quantitativa das amostras [88]. Onde, as informações quantitativas correspondem à quantidade de radiação eletromagnética emitida ou absorvida, enquanto que, a informação qualitativa é relativa aos comprimentos de onda, nos quais esta radiação é absorvida ou emitida [77].

Este método permite determinar quantitativamente os metais em concentrações na ordem dos mg/L para uma variedade ampla de matrizes, nomeadamente materiais biológicos, água, ligas metálicas, geológicas, etc. [88].

O fundamento utilizado para a compreensão das energias envolvidas, de absorção e emissão, da radiação eletromagnética, pode ser descrito através do modelo de Bohr de um átomo. Neste modelo, um átomo é composto por um núcleo, carregado com protões e neutrões, rodeado por eletrões, que se movimentam em torno das suas orbitais. Cada uma dessas orbitais, tem um nível de energia associado, que em geral quando mais afastado está do núcleo, maior é a sua energia. Os átomos são menos estáveis no seu estado excitado, pelo que tenderão sempre a voltar ao seu estado fundamental, perdendo a energia absorvida (emissão de energia eletromagnética), sob forma de fotões. Quando tal fenómeno ocorre, a diferença de energia, correspondente à diferença dos níveis define o comprimento de onda da radiação envolvida na transição [77].

Desta forma, cada elemento tem uma característica única, para o nível de energia e, portanto, terá o seu próprio conjunto de ondas de absorção e emissão. Esta é a propriedade que torna a espectrometria atômica um método útil, para técnicas analíticas dos elementos, pois permite a sua identificação e quantificação.

O princípio fundamental do ICP-AES consiste na utilização de um plasma como fonte de atomização. O plasma (4º estado da matéria) pode ser definido como um gás, inerte, neste caso o argon, fortemente ionizado e eletricamente neutro, composto por iões, elétrons e átomos. O plasma é mantido por uma energia que deriva do campo magnético, gerado por uma bobine de radiofrequência. A amostra a analisar é introduzida no plasma de argon, através de um nebulizador, na forma de aerossol, onde a energia e o tempo de residência no plasma é tal que a amostra sofre uma sequência de processos até ser decomposta, atomizada e ionizada (Figura 4.1.) [88].

No interior do plasma, a amostra é submetida a temperaturas na ordem dos 10 000 °C, levando à excitação dos elétrons nos átomos, o que leva à transições eletrônicas que produzem emissões atômicas ou iônicas características de cada elemento, numa gama de comprimentos de onda dos 120-900 nm. As linhas de emissão são filtradas e difratadas por um monocromador, onde a intensidade de cada linha de emissão é convertida por fotomultiplicadores em corrente elétrica, proporcional à intensidade de radiação que, após correlação com a concentração do analito permitem a sua quantificação dos elementos presentes [88].

Os dados são recolhidos através do *software* JY v5.4 instalado no computador, que também permite realizar o controlo do aparelho e a visualização on-line de todos os parâmetros e dados obtidos. O *software* JY tem uma base de dados de comprimentos de onda para todos os elementos da tabela periódica [88].

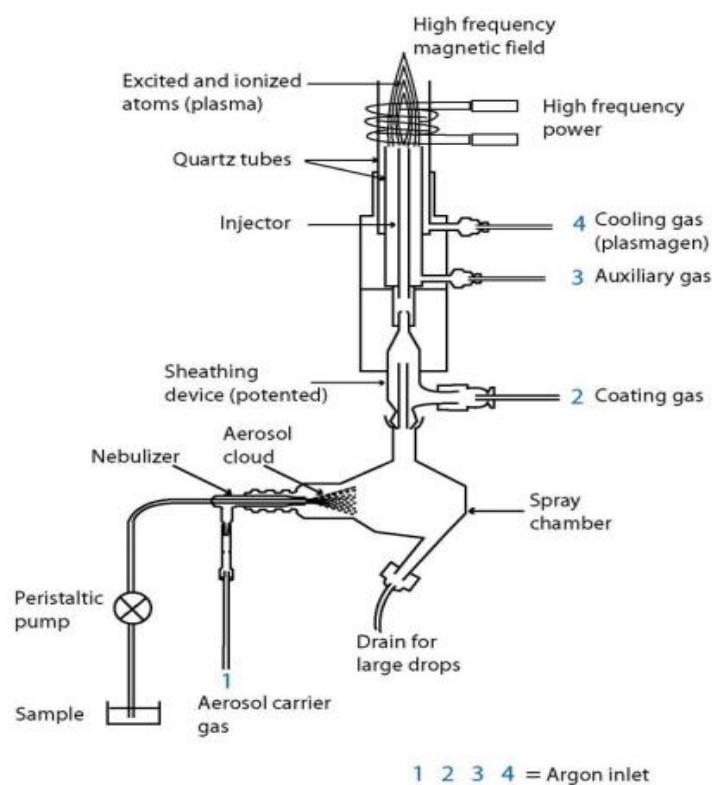


Figura 4.1 Sistema de introdução da amostra para plasma radial [88]

Este equipamento apresenta restrições relativamente ao tipo de amostra que lê. Desta forma, o estado físico da amostra tem de ser líquido, e é necessário ter em consideração a viscosidade desta amostra. A viscosidade é um fator fundamental para uma medição eficiente, pelo que as amostras com viscosidades elevadas poderão nunca chegar ao plasma [89].

Como dito anteriormente, o ICP-AES faz a leitura de amostras líquidas, com viscosidade reduzida, pelo que, as amostras que não se apresentem no estado pretendido, têm de ser preparadas. Esta preparação, pode envolver uma diluição, em casos de amostras aquosas densas ou solúveis em água; ou uma digestão, em caso de amostras oleosas e insolúveis em água.

- **Digestão da amostra**

Como já foi referido, alguns tipos de amostras devem sofrer digestão para poderem ser medidas no ICP. Desta forma, dependendo do tipo de amostra que se pretende digerir existem várias combinações de solventes e equipamentos que o permitem fazer.

A digestão ácida de vaso aberto é normalmente utilizada para digestão de amostras orgânicas e inorgânicas em laboratórios. Trata-se de um ataque que o ácido efetua sobre a amostra em recipiente com tampa de rosca plana (baixa pressão). Este tipo de digestão é limitado quanto à temperatura, pois a digestão máxima é limitada pelo ponto de ebulição, logo pela pressão ambiente do correspondente ácido ou mistura. Os ácidos normalmente utilizados são o ácido fluorídrico, ácido nítrico e ácido perclórico [88].

Para a obtenção de resultados precisos e reais é fundamental que a amostra seja totalmente digerida, pelo que a digestão em vaso fechado é uma boa solução. Esta digestão permite efetuar manipulações de temperatura que conseqüentemente podem causar aumento da pressão dentro do vaso, e com isso a digestão total da amostra, o que se reflete em menor quantidade de reagente necessária e menor tempo de digestão, neste caso os elementos voláteis não evaporam [88].

A Tabela 4.3 apresenta vários métodos de digestão que podem ser utilizados.

Tabela 4.3 Diferentes métodos de digestão de amostras

Método	Solventes	Condições
1 [78]	Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> ) 9,0 mL + Ácido Clorídrico (HCl) – 1,0 mL + Amostra a digerir – 4,0 mL + Água destilada	1. Aquecer até 80 °C durante 10 minutos 2. Manter 10 minutos 3. Aquecer até 180 °C durante 10 minutos 4. Manter 20 minutos 5. Arrefecer até 70 °C
2 [90]	Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> ) – 1,5 mL + Água régia (HNO <sub>3</sub> +3 HCl) – 1,0 mL + Solução de ácido nítrico com ácido perclórico (HNO <sub>3</sub> -HClO <sub>4</sub> ), na razão de 3:1 (v/v), respetivamente – 15 mL + Amostra a digerir – 1,0 g	1. Aquecer até 130 °C 2. Manter 3 horas nas mesmas condições 3. Adicionar 3,0 mL de HNO <sub>3</sub> a 40% e aquecer continuamente até a amostra ficar com cor brilhante 4. Transferir para um tubo calibrado de 10 mL e diluir até à marca, com água de alta pureza 5. Filtrar com filtro de papel de 0,22 µm
3 [91]	Ácido Nítrico (HNO <sub>3</sub> ) – 7,5 mL + Peróxido de hidrogénio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) – 1,5 mL + Amostra a digerir – 0,1 g	1. Aquecer a amostra num micro-ondas até 150 °C durante 8 minutos 2. Aquecer até 180°C durante 2 minutos 3. Manter nas condições anteriores 10 minutos 4. Esperar que a solução esfrie

## 4.1 Critérios de Validação

Os métodos analíticos utilizados durante o ciclo de vida de um produto desempenham um papel fundamental, pois, vários testes fornecem informação relativa à pureza, identidade, características físicas e qualidade. Como a integridade dos resultados resultantes dos diferentes métodos é vital para o sucesso do medicamento e, para a saúde e segurança do público, os métodos devem ser validados, para o nível de confiança exigido da aplicação.

A validação de um método analítico é um procedimento pelo qual é estabelecido, através de estudos em laboratório apropriados, que as características de desempenho do método atendem aos requisitos, para a especificação analítica pretendida e de acordo com a ICH, um método analítico deve ser validado nos seguintes parâmetros: linearidade, limite de quantificação, limite de deteção, especificidade, precisão e exatidão [92]. A organização mundial da saúde (WHO) acrescenta aos parâmetros anteriores ainda a robustez do método, salientando que a lista apresentada dos parâmetros é típica para os métodos analíticos, salvo casos ocasionais que devem ser tratados caso a caso [93].

Um protocolo de validação, por sua vez, deve incluir [94]:

1. Descrição completa dos parâmetros da configuração do instrumento e condições necessárias para estabelecer um sistema adequado e estável.
2. Referencias bibliográficas para os padrões utilizados, soluções, amostras, etc...
3. Critérios de aceitação para os resultados de cada característica de desempenho
4. Tratamento estatístico dos dados resultantes
5. Instrução de como lidar com os resultados que não estão em conformidade com os critérios de aceitação

### 4.1.1 Seletividade

A seletividade é a capacidade de um método analítico para medir e identificar simultaneamente ou separadamente os analitos de interesse, de forma inequívoca, em presença de outras substâncias químicas que podem estar presentes na amostra.

A presença de interferências pode ter diferentes efeitos na determinação do analito, como por exemplo, impossibilidade da sua detecção (aparecimento de falsos) ou ainda a distorção da resposta do analito. Este efeito pode revelar a presença de interferências de origem desconhecida. No estudo da seletividade são comparadas amostras com e sem padrão [95].

Um método é específico quando permite discriminar o analito relativamente a outras substâncias, excipientes ou impurezas, eventualmente presentes na amostra a analisar, ou seja, quando oferece garantias que a grandeza medida provém apenas do analito de interesse [91,94].

Para avaliar as interferências, pode-se realizar um teste de recuperação, utilizando uma série de amostras, com a mesma matriz, em que apenas varia a concentração do analito em proporções conhecidas e ao longo de toda a gama de trabalho [96].

Um método analítico pode ser considerado aplicável (específico e seletivo) quando se verificar que as taxas de recuperação são próximas de 100%.

#### **Procedimento de determinação da seletividade [95]:**

Preparam-se os seguintes grupos: amostras com padrão e brancos. O grau de discrepância entre as determinações na presença/ausência de possíveis interferências, mediante a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de discrepância} = \frac{(D_i - D_s)}{D_s} \times 100$$

Onde:

$D_i$  – Resposta média com interferência

$D_s$  – Resposta média sem interferência

Também, neste caso, tem de ser aplicado o teste *t-Student-Fisher* para comprovar a existência de diferenças significativas entre os dois grupos.

#### Objetivos a verificar:

1. Brancos < LOQ
2. Amostra com padrão deve apresentar resposta quantificável, > LOQ
3. Percentagem de discrepância deve ser verificada a cerca de 50% em amostras dos 100% e 150% de padrão.
4. Tem de ser efetuado um teste *t-Student-Fisher* que permite concluir sobre a capacidade do método de determinar a amostra com ou sem padrão.

## 4.1.2 Exatidão

A exatidão de um método analítico expressa a proximidade entre o valor aceite convencionalmente como valor verdadeiro ou um valor de referência e o valor experimental encontrado [91, 94].

A exatidão deve ser demonstrada em todo o intervalo especificado para o método analítico. É recomendado um mínimo de 9 determinações sobre 3 níveis de concentração do analito que cubram o intervalo especificado, por exemplo 3 determinações x 3 níveis de concentração, que podem ser a concentração central e as concentrações dos extremos do intervalo. Em função do tipo de método a validar e de cada caso concreto se devera ter em conta o intervalo de concentrações de trabalho, para o caso de impurezas, admite-se uma variação de 50% do nível de especificação até 120% do nível [96].

Objetivo a verificar:

Confirmar que a recuperação média varia entre 50% e 120% em amostras de produto, com adição de padrão a 50%, 100% e 150%.

## 4.1.3 Linearidade

Avaliação estatística da linearidade

O estudo da linearidade não só implica uma representação gráfica como também uma comprovação estatística. Geralmente, não é necessário efetuar todos os testes estatísticos relacionados com a linearidade.

Os de carater obrigatório são [95]:

- Equação da reta de regressão
- Representação gráfica da reta de regressão e dos resultados experimentais
- Coeficiente de correlação e de determinação
- Características da variância residual
- Análise da variância (significância do declive e da linearidade) comprovando que se cumprem os supostos de homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos.

Para esta avaliação são necessárias as fórmulas apresentadas nas Tabelas 4.4 e 4.5:

Tabela 4.4 Equações utilizadas na determinação da linearidade de *i* grupos com *n* determinações [95]

Equação de reta	$y = b \times x + a$
Valor estimado para $x_i$	$\hat{y}_i = b * x_i + a$
Valor residual	$e_i = \hat{y}_i - y_i$
Coefficiente de correlação	$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n})(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n})}}$
Variância residual	$s_{y,x}^2 = \frac{\sum e_i^2}{n - 2}$
Variância do declive	$s_b^2 = \frac{s_{y,x}^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$
Variância do termo independente	$s_a^2 = \frac{s_{y,x}^2}{\sum (x - \bar{x})^2} \times \frac{\sum x^2}{n}$

Tabela 4.5 Equações utilizadas na construção da ANOVA [95]

	Soma dos quadrados (SC)	Graus de liberdade (g.l.)	Variância	
Regressão	$SC_{REG} = \sum n_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	1	$V_{REG}$	$F_1 = \frac{V_{REG}}{V_{RES}}$
Falta de ajuste	$SC_{FA} = \sum n_i (\bar{y} - \hat{y}_i)^2$	k-2	$V_{FA}$	$F_2 = \frac{V_{FA}}{V_{EXP}}$
Erro experimental	$SC_{EXP} = \sum_i \sum_j (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$\sum_i n_i - k$	$V_{EXP}$	
Total	$SC_T = \sum_i \sum_j (y_{ij} - \bar{y})^2$	$\sum_i n_i - 1$		

#### □ **Equação de reta (Declive e Ordenada na origem)**

Na reta de regressão linear  $y = b \times x + a$ ,  $x$  representa a concentração,  $y$  a intensidade do sinal, o  $b$  é o valor do declive e  $a$  é o termo independente.

O declive,  $b$ , está relacionado com a sensibilidade do método, de forma que maior declive significa maior sensibilidade (resposta do método relativamente a variações de concentração do analito). O termo independente,  $a$ , ou ordenada na origem, é a interseção de reta com o eixo das ordenadas, pelo que é o indicativo do erro sistemático, não diferindo estatisticamente de zero caso não haja desvio [95].

#### □ **Coefficiente de correlação e coeficiente de determinação**

O coeficiente de correlação indica o grau de relação entre  $x$  e  $y$ . O seu valor máximo é 1. Quando  $r$  é próximo de 1 significa que existe correlação com uma probabilidade elevada. Enquanto que, um valor nulo indica ausência de relação linear entre as variáveis.

O valor recomendado para o coeficiente de correlação é  $\geq 0,999$ , sendo que, em caso de impurezas admite-se um valor  $\geq 0,990$ .

A informação a retirar a partir do cálculo do  $r$  é limitada e não justifica por si só a linearidade, sendo que  $r^2$ , coeficiente de determinação é o que traz uma maior importância estatística já que expressa a proporção total de variação de  $y$  explicada pelo modelo [95].

#### □ **Variância residual constante**

A representação dos residuais,  $e_i$ , representa informação acerca da validade do modelo. De entre as várias formas de o fazer, a mais comum é a representação dos residuais (eixo das ordenadas) versus valores estimados (eixo das abcissas). A distribuição dos pontos tem de ser aleatória e não demonstrar nenhuma tendência [95].

#### □ **Análise de variância: ANOVA**

Normalidade dos resíduos [95]:

A normalidade dos resíduos pode ser comprovada mediante uma representação gráfica de alguns programas estatísticos ou aplicando um teste de normalidade.

Uma vez comprovados os pressupostos, calculam-se  $F_1$  e  $F_2$ .

Quando  $F_{1EXP} > F_{1TABELADO}$ , demonstra-se a existência de um declive/inclinação diferente de 0.

Quando  $F_{2EXP} < F_{2TABELADO}$ , demonstra-se a linearidade entre os resultados.

□ **Teste de linearidade** [95]:

1. Coeficiente de variação dos fatores da resposta (f)

O fator de resposta (f) expressa a relação entre a resposta e a concentração, e pode-se tomar como uma expressão aproximada da sensibilidade do calibrado.

Numa calibração linear, os fatores de resposta devem ser semelhantes entre si e próximos do valor do declive. Valores dos coeficientes de variação (**CV**) superiores a 5% são indicativos de uma possível falta de linearidade, ainda que, são recomendados valores inferiores a 2%.

2. Significância estatística do desvio padrão do declive

Nesta parte, trata-se de comprovar que existe um declive significativamente diferente de zero, mediante um teste *t-Student*.

O declive tem de ser estatisticamente diferente de zero para um grau de significância de  $\alpha = 0,05$ .

Também é habitual calcular os intervalos de confiança a partir da expressão:  $b \pm t^*s_b$ , sendo neste caso o **t** o valor da distribuição de *t-Student* para **n-2** graus de liberdade e um grau de significância  $\alpha = 0,05$ . Estes intervalos de confiança não devem incluir o zero [95].

#### 4.1.4 Precisão

A precisão do método expressa o grau de concordância entre uma série de medidas a partir da mesma amostra. Espera-se que uma amostra precisa resulte em resultados iguais quando medida várias vezes.

No presente trabalho, estudou-se a precisão sob forma de repetibilidade do método, que consiste em medições de amostra de igual composição, analisada no mesmo instrumento, pelo mesmo analista.

A estimação da repetibilidade do método, é realizada por meio do cálculo do **CV** das respostas obtidas e estimação dos intervalos de confiança nos quais os resultados são precisos.

Na Figura 4.2. pode ser observado o rácio de Horwitz que é habitualmente utilizado para determinar o intervalo de variação permitido para diferentes tipos de amostras e aplicações, a figura mostra a relação entre a concentração do analito e o coeficiente de variação admitido para o correspondente intervalo.

Objetivo a verificar:

Neste caso um **CV** < 20% demonstra a estabilidade da amostra no intervalo de tempo aplicado.

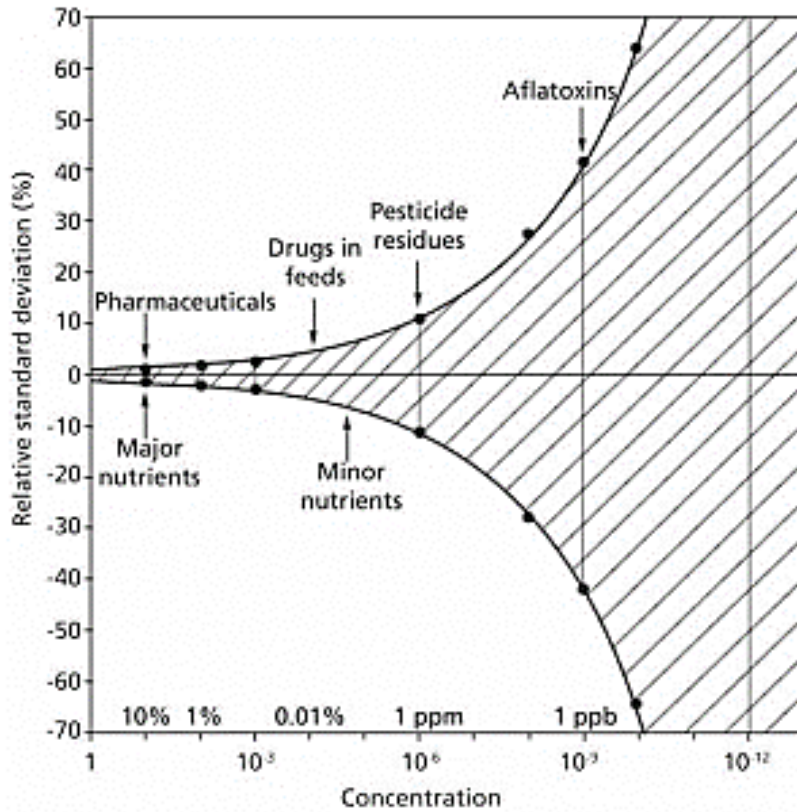


Figura 4.2 Razão de Horwitz [97]

### 4.1.5 LOD e LOQ

De acordo com o guia RELACRE, os limites LOD e LOQ, quando em condições de calibração linear, são dados pelas seguintes equações [96]:

$$LOD = \frac{3,3 \times S_{Y/X}}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{Y/X}}{b}$$

Onde:

$S_{Y/X}$  - Desvio padrão residual da curva de calibração

b - Declive da reta



## 5 Materiais e Métodos

Inicialmente estipulou-se o PDE para a via transdérmica, com base nas metodologias apresentadas no Capítulo 3.2.1. e nos dados da Tabela 3.3

De seguida realizaram-se AR a 21 produtos farmacêuticos, dos quais: 4 preparações injetáveis, 5 produtos sob forma de supositório, 3 soluções líquidas orais e 9 produtos semissólidos (pomadas/geles). Desta forma, esta AR contemplou a análise de 19 API, cerca de 60 excipientes, 4 tipos de acondicionamento primário e diferentes materiais e condições de fabricação.

Destas AR foram selecionados produtos e materiais de acondicionamento primário que se apresentavam como piores casos, casos com informação escassa, ou poucos estudos efetuados até a presente data. A Figura 5.1. apresenta um fluxograma da lógica para a escolha dos produtos a serem analisados por ICP-AES e dos métodos de preparação necessários para esta análise.

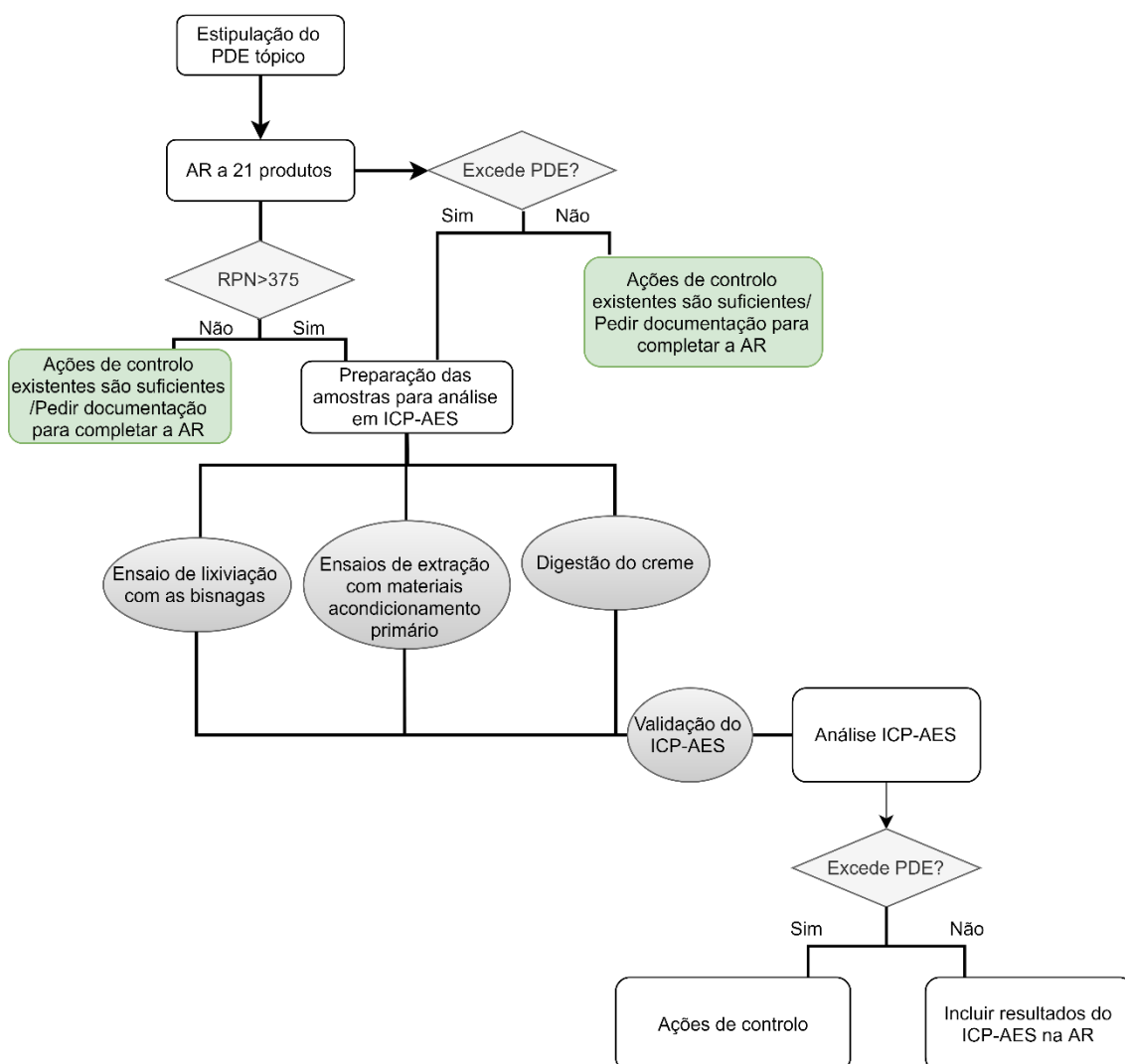


Figura 5.1 Fluxograma para a preparação do ICP-AES

## 5.1 Critérios de atribuição de risco

Os critérios para a escolha dos níveis de Detecção (D) estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Explicitação dos níveis da detecção

<b>D=1</b>	<p>Considera-se detecção difícil/impossível quando é impossível detetar a origem/causa do problema. Ou seja, o controlo existente não deteta a causa do problema. Pode ser considerado em falhas de elevada gravidade mas baixa ocorrência, ou ainda, quando apenas com métodos de verificação é possível a confirmação da origem do problema.</p> <p>Por exemplo, no processo de produção, devido a condições agressivas, pode haver prosperidade de cedência de uma quantidade negligível de algum metal do equipamento de produção, mas como a quantidade é demasiado pequena, esta quantidade em análise, por erro, é incluída na composição da matéria-prima. Desta forma, detetar que a impureza tem origem no equipamento durante a produção torna-se impossível. A mesma lógica pode ser aplicada ao material de acondicionamento, visto que, a falha pode apenas ser prevista e não detetada, por se tratar de um produto final que contacta. Por esta razão, é muito importante um estudo detalhado das propriedades do material de acondicionamento primário.</p>
<b>D= 0,2</b>	<p>Detecção média é considerada normalmente em casos em que há certeza de qual é a principal fonte de falha do processo. Por exemplo, sabe-se que no caso do produto final, o que tem maior contribuição com I.E. é a substância ativa e os excipientes. Desta forma, ocorrendo uma elevada concentração de metais no produto final sabe-se através de uma avaliação qualitativa e quantitativa que o principal peso está associado à matéria-prima.</p> <p>Também é lógico que, se o material do equipamento de produção não apresentar condições de integridade, este terá probabilidade de ceder metais, assim, por meio de uma análise visual e/ou sabendo a quantidade E.I. no produto final é possível prever que grande probabilidade de esta componente da análise contribuir com E.I.</p>
<b>D= 0,1</b>	<p>A detecção pode ser considerada fácil quando há um equipamento de verificação de metais que verifica a presença dos mesmos no produto. Ou, ainda, se houver uma falha no sistema de água PPI ou PUR, as análises em laboratório darão resultados exatos, o que dirá a quantidade de E.I. que esta fonte poderá ter originado.</p>

A Severidade (S) e a Ocorrência (O) são diferentes em cada caso. As Tabelas 5.4 a 5.7 apresentam a conclusão e o RPN para cada caso possível. A Severidade, por sua vez, está relacionada também com a via de administração do medicamento e a quantidade de I.E. presentes, Tabela 5.2.

Tabela 5.2 Relação entre a via de administração, origem e a quantidade de I.E. potencialmente presentes

Via de administração	Origem da substância ativa e excipientes				
	Sintética	Animal	Vegetal	Com catalisador	Mineral
Tópica					
Oral					
Parenteral/Inalatória					
	Abaixo dos 30 % do PDE com toda a informação disponível	Abaixo dos 30 % do PDE	Excede 30% PDE com toda a informação disponível	Excede 30 % PDE	Excede PDE
	<b>Quantidade de I.E.</b>				

Os possíveis valores de *Risk Priority Number* (RPN) estão apresentados na Tabela 5.3 Quando maior a gravidade de ocorrência da falha, maior é o RPN.

Tabela 5.3 Valores de RPN

RPN		SxO																				
		50	120	125	250	300	350	375	500	600	625	875	900	1200	1250	1750	1875	2500	2625	3500	3750	5000
D	0,1	5	12	13	25	30	35	38	50	60	63	88	90	120	125	175	188	250	263	350	375	500
	0,2	10	24	25	50	60	70	75	100	120	125	175	180	240	250	350	375	500	525	700	750	1000
	1	50	120	125	250	300	350	375	500	600	625	875	900	1200	1250	1750	1875	2500	2625	3500	3750	5000

Tabela 5.4 RPN para a substância ativa e excipientes

Tipo/Origem		Risco	Conseq.	S	Causa	O	Ação de controle	D	RPN	
Sintético	Apenas matéria-prima de origem sintética	Não se espera I.E.	I.E. no produto final	10	Muitos excipientes	5	Menos de 4 excipientes, docum. completa	Sem ação necessária	0,2	10
						12	Menos de 4 excipientes, docum. incompleta	Sem ação necessária		24
						25	5 ou 6 excipientes, docum. completa / Quase completa- permite tirar conclusões qualitativas	Sem ação necessária		50
						35	5 ou 6 excipientes, docum. muito incompleta, grandes aproximações	Pedir resultados de análise ao fornecedor		70
						50	Mais de 6 excipientes	Pedir resultados de análise ao fornecedor		100
Animal	Matéria-prima de origem animal com/sem sintética	Incertez a das I.E. possiv. presente	I.E. no produto final	25	Falta de docum. dos fornecedor/ Muitos excipientes com I.E.	5	Menos de 4 excipientes, docum. completa	Sem ação necessária	0,2	25
						12	Menos de 4 excipientes, docum. incompleta	Sem ação necessária		60
						25	5 ou 6 excipientes, docum. completa / Quase completa- permite tirar conclusões qualitativas	Pedir resultados de análise ao fornecedor		125
						35	5 ou 6 excipientes, docum. muito incompleta, grandes aproximações	Pedir resultados de análise ao fornecedor		175
						50	Mais de 6 excipientes	Pedir resultados de análise ao fornecedor		250
Vegetal	Matéria-prima de origem vegetal com/sem sintética com/sem animal	Classe 1 e 2A	I.E. no produto final	50	Origem/n.º de excipientes / Falta de docum.	5	Menos de 4 excipientes, docum. completa	Sem ação necessária	0,2	50
						12	Menos de 4 excipientes, docum. incompleta	Pedir resultados de análise ao fornecedor		120
						25	5 ou 6 excipientes, docum. completa / Quase completa- permite tirar conclusões qualitativas	Pedir resultados de análise ao fornecedor		250
						35	5 ou 6 excipientes, docum. muito incompleta, grandes aproximações	Pedir resultados de análise ao fornecedor		350
						50	Mais de 6 excipientes	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		500
Presença de catalisador	Catalisador utilizado na síntese de algum componente	Ag, Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Se, Tl	I.E. no produto final	75	Origem/n.º de excipientes / Falta de docum.	5	Menos de 4 excipientes, docum. completa	Pedir resultados de análise ao fornecedor	0,2	75
						12	Menos de 4 excipientes, docum. incompleta	Pedir resultados de análise ao fornecedor		180
						25	5 ou 6 excipientes, docum. completa / Quase completa- permite tirar conclusões qualitativas	Pedir resultados de análise ao fornecedor		375
						35	5 ou 6 excipientes, docum. muito incompleta, grandes aproximações	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		525
						50	Mais de 6 excipientes	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		750
Mineral	Matéria-prima de origem mineral presente	As, Cd, Hg, Pb	I.E. no produto final	100	Sobretudo origem/n.º de excipientes / Falta de dados	5	Menos de 4 excipientes, docum. completa	Pedir resultados de análise ao fornecedor	0,2	100
						12	Menos de 4 excipientes, docum. incompleta	Pedir resultados de análise ao fornecedor		240
						25	5 ou 6 excipientes, docum. completa / Quase completa- permite tirar conclusões qualitativas	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		500
						35	5 ou 6 excipientes, docum. muito incompleta, grandes aproximações	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		700
						50	Mais de 6 excipientes	Pedir resultados de análise ao fornecedor/Troca de fornecedor/ Análise do produto		1000

Tabela 5.5 RPN para o processo de produção e equipamento de produção

Tipo/Origem		Risco	Conseq.	S	Causa	O	Ação de controle	D	RPN	
Processo	Ambiente seco, pH básico (> 7)	Ausência de condições agressivas.	Potência de cedência de I.E. presentes no material por causa das condições	Abração/ Corrosão do equipamento com posterior cedência de metais durante o processo	Idade do equipamento/ Falta de inspeções/ BPF não seguidas / Condições demasiado agressivas	5	Não há cedência de E.I.	0,2	10	
	Número de fases	Líquidos contactam com PE. Muitas fases do processo ocorrem em plástico. Há uma fase de risco médio.				12	Muito improvável haver cedência de E.I.		60	
	Reagentes agressivos / Corrosão	Várias fases de risco médio				25	A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas		250	
	Temperatura / Energia cinética ou mecânica alta	Compressão. Agitação turbulenta. Temperaturas elevadas. Fases de risco elevado.				25	A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas		375	
	pH muito ácido (< 2,5)	Componentes ácidos.				25	A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas		500	
Equipamento	Muito recente/ Vidro/Aço Inox/ Inspeções regulares /Material de única utilização	Todo o material apresenta risco muito baixo	Cedência de As, Ba, Ni, Cr, Cu, Mo	Cedência durante a fase da preparação	Idade do equipamento/ Falta de inspeções/ GMP não seguidas /Material inadequado ao processo	5	Não há cedência de E.I.	0,2	10	
	Recente/ Plástico / Silicone / Inspeções regulares	Material de risco muito baixo e baixo				PE: Cr, Pb / Silicone: Si / PET: Co, Sb	12		Muito improvável haver cedência de E.I.	60
	Antigo com boas condições/ Inspeções regulares / nº equipamentos de plástico e silicone	Material de risco baixo quando se aproxima dos 25 anos				PE: Cr, Pb / Silicone: Si / PET: Co, Sb	25		A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas	250
	Antigo com sinais de uso / Inspeções periódicas	Material onde se verificam riscos/ Tendência a perder revestimento				I.E. respetiva	35		A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas	525
	Muito antigo, Idade > 25 anos	Aço inox com revestimento antigo, sinais de uso				Cu,Cr, Ni, Mo	25		A probabilidade de ceder E.I. é baixa se GMP forem seguidas	500

Tabela 5.6 RPN para o material de acondicionamento primário

Tipo/Origem	Risco	Conseq.	S	Causa	O	Ação de controlo	D	RPN
PP/PES/PVC	-	Inclusão das impurezas elementares no produto final	10	Material inadequado para o medicamento / Material inadequado para o tempo de armazenamento	5	Sem ação necessária	0,2	10
Vidro/PE	As/Pb,Cr		25		12	Sem ação necessária		60
Alumínio	Pb, Cd, Cu, Sn		50		25	Estudar outros fornecedores para ver se apresentam melhores propriedades/composição do material		250
Vidro contacta com produto ácido	As		75		12	X Estudar outros fornecedores para ver se apresentam melhores propriedades/composição do material		180
PE/ Alumínio contacta com produto ácido/ agressivo	Pb, Cr/Pb, Cd, Cu, Sn		100		25	Estudar outros fornecedores para ver se apresentam melhores propriedades/composição do material. Troca do material		500

Tabela 5.7. RPN para o material a água utilizada no processo

Tipo/Origem	Risco	Conseq.	S	Causa	O	Ação de controlo	D	RPN
Água para injetáveis	As, Cd, Cr, Pb, Hg	Contaminação do processo	100	Falha no processo de purificação	5	Verificação dos equipamentos de tratamento da água/ Análise em laboratório	0,1	50
Água purificada								

## 5.2 Ensaios de lixiviação

Foi realizado o ensaio de lixiviação com as bisnagas de alumínio. O ensaio foi realizado em 3 réplicas. Para o efeito foi utilizado o álcool isopropílico como solvente de lixiviação, que foi armazenado em bisnagas fechadas e isoladas com *parafilm*, durante 3 semanas [48].

### Procedimento:

1. Lavar as bisnagas com água purificada
2. Encher as 3 bisnagas com álcool isopropílico
3. Encher um tubo *Falcon* com o solvente de lixiviação, para servir de branco
4. Fechar as bisnagas, isolar com *parafilm*
5. Deixar *na hotte* durante 3 semanas
6. Recolher o solvente de lixiviação para o tubo de amostra

## 5.3 Ensaios de extração

Os ensaios de extração foram realizados com ampolas de vidro do Tipo I de cores âmbar e incolor; Frascos de vidro de Tipo III de cor âmbar; Ampolas de PVC/PVDC/PE âmbar; Alvéolos (PVC/PE); Bisnagas de alumínio; e rolhas das bisnagas (HDPE).

Os ensaios de extração foram realizados com água purificada, durante 1 hora na Autoclave, a 121°C para as ampolas de Vidro de Tipo I [98]. Enquanto que, o restante material de acondicionamento primário foi submetido a 60°C, durante 24 horas, na estufa [99].

### Procedimento base

1. Lavar o material que irá sofrer extração com água purificada e secar com ar comprimido
2. Pesar todo o material utilizado na extração
3. Encher o material que irá sofrer extração com água purificada
4. Seguir o procedimento específico, fechando devidamente o material antes de ir para a estufa/autoclave
5. Deixar arrefecer
6. Fechar com *parafilm*
7. Pesar o material utilizado na extração

### Procedimento para o Vidro Tipo I (Autoclave):

1. Encher as 9 ampolas de cada tipo com água purificada.
2. Fechar as ampolas.
3. Na autoclave, colocar as ampolas com água purificada a 121°C durante 1 hora.
4. Quando arrefecerem, fechar com *parafilm*.
5. Encher 1 ampola de cada tipo com água purificada e fechar com *parafilm*.

### Procedimento para o restante material (Estufa):

1. Encher o material de acondicionamento primário água purificada
2. Tapar o material com papel de alumínio, de forma a evitar a evaporação da água purificada.
3. Colocar na estufa durante 24 horas, a 60°C.
4. Quando arrefecer, transferir o conteúdo de amostra para o respetivo tubo *Falcon*.

## 5.4 Ensaio de digestão

Como os produtos selecionados tinham todos composição aquosa, exceto o SS7 (textura oleosa), apenas este último teve de ser digerido

A técnica de digestão utilizada está apresentada na Tabela 5.8 Esta teve por base o Método 3 de digestão apresentado no Capítulo 4.

Tabela 5.8 Método de digestão utilizado

Solventes	Condições
8 mL de HNO <sub>3</sub> + 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 250 mg de amostra de SS7	<u>Equipamento:</u> Digestor micro-ondas de vaso aberto  <u>Método:</u> Estearato de magnésio  1. Aquecer durante 10 minutos até 120°C 2. Manter a 120°C durante uma hora

## 5.5 Preparação dos padrões

### Materiais:

- Balança de alta precisão
- Balões de 100 mL
- Balões de 50 mL
- Tubos Falcon
- Tubos de análise
- Pipetas
- Micropipetas
- HCl 5%
- HNO<sub>3</sub> 5%
- Água Milli-Q
- Soluções comerciais dos 24 metais
- ICP-AES (Horiba Jobin-Yvon, modelo Ultima)

Foram preparadas 3 soluções padrão A, B e C (Tabela 5.9), com matriz de HNO<sub>3</sub>, HCl e Água Milli-Q, respetivamente. Em cada uma das matrizes foram introduzidas as I.E. respetivas.

Para calibrar o ICP, as soluções A, B e C são diluídas a 0,75 mg/L, 0,5 mg/L, 0,25 mg/L e 0,1 mg/L, em tubos de amostra de 10 mL. Ainda, foi preparada uma solução de branco para cada uma das soluções e um tubo de concentração 1 mg/L, resultando assim em 18 tubos, 6 para cada solução. (Tabela 5.10).

Tabela 5.9 Soluções padrão

<b>Padrão A</b>	Num balão de 100 mL, colocar um pouco da solução de HNO <sub>3</sub> 5% Adicionar 5 mL das soluções comerciais de As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Li, Ni, Pb, Se, Tl, V Aferir com HNO <sub>3</sub> 5% até perfazer os 100 mL
<b>Padrão B</b>	Num balão de 100 mL, colocar um pouco da solução de HCl 5% Adicionar 5 mL das soluções comerciais de Au, Ir, Mo, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb e Sn Aferir com HCl 5% até perfazer os 100 mL
<b>Padrão C</b>	Num balão de 100 mL, colocar um pouco da água Milli-Q Adicionar 5 mL da solução comercial de Ag Aferir com água Milli-Q até perfazer os 100 mL

Tabela 5.10 Soluções para calibração do ICP-AES

<b>1 ppm</b>	10 mL de cada uma das soluções A, B, e C é transferida para cada um dos três tubos de amostra, devidamente identificados.
<b>0,75 ppm</b>	7,5 mL de cada uma das soluções A, B e C é transferida para cada um dos três tubos de amostra, devidamente identificados. De seguida, adicionar a cada um dos tubos 2,5 mL da solução comercial da respetiva matriz.
<b>0,5 ppm</b>	5 mL de cada uma das soluções A, B e C é transferida para cada um dos três tubos de amostra, devidamente identificados. De seguida, adicionar a cada um dos tubos 5 mL da solução comercial da respetiva matriz.
<b>0,25 ppm</b>	2,5 mL de cada uma das soluções A, B e C é transferida para cada um dos três tubos de amostra, devidamente identificados. De seguida, adicionar a cada um dos tubos 7,5 mL da solução comercial da respetiva matriz.
<b>0,1 ppm</b>	1 mL de cada uma das soluções A, B e C é transferida para cada um dos três tubos de amostra, devidamente identificados. De seguida, adicionar a cada um dos tubos 9 mL da solução comercial da respetiva matriz.
<b>Branco</b>	Adicionar a cada um dos tubos 10 mL da solução comercial da respetiva matriz.

## 5.6 Preparação das soluções para o estudo da exatidão

Para a validação da exatidão do ICP-AES prepararam-se as soluções apresentadas na Tabela 5.11, em que foram preparados três níveis para cada solução padrão A, B e C, resultando num total de 9 soluções.

Tabela 5.11 Soluções para o estudo da exatidão

Nível de exatidão	Solução padrão (µL)	Amostra de SS7 (mg)	HNO <sub>3</sub> (mL)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	Concentração (ppm)
50%	50	250	8	2	0,25
100%	100				0,50
150%	150				0,75

## 5.7 Condições de operação do ICP-AES

O equipamento de medição das amostras é da marca Horiba Jobin-Yvon, de modelo Ultima de observação radial, equipado com um gerador de RF de 40,68 MHz e um monocromador tipo Czerny-Turner de 1,00m.

As condições de operação do equipamento podem ser observadas na Tabela 5.11 [88].

Tabela 5.12 Condições operatórias do ICP-AES

Potência	1200 kW
Caudal Árgon Plasma	12,0 L/min
Caudal Árgon Revestimento	0,3 L/min
Diâmetro tubo injetor	3 mm
Nebulizador	Mira Mist
Câmara nebulização	Ciclónica
Pressão do nebulizador	3 bar
Velocidade da bomba	15 rpm
Caudal de débito da amostra	1,0 mL/min

## 6 Apresentação e Discussão dos Resultados

### 6.1 Análise de Risco

Para estimar o PDE cutâneo considerou-se  $RF = 1$ , porque os produtos estudados são semissólidos, pomadas/geles de aplicação localizada, e não é suposto serem lavados após a aplicação.

A Tabela 6.1 apresenta os valores estimados para a exposição diária permitida para a via cutânea. Estes valores foram calculados com base nos valores de NOAEL ou LOAEL quando disponíveis, ou obtidos através no método explicitado em 3.2.1. (Metodologias de Conversão para PDE Cutâneo para I.E.) ou, como no caso de Cd, Pb e Hg foi utilizado o menor valor de PDE para a via cutânea encontrado na bibliografia.

Tabela 6.1 PDE cutâneo estipulado

I.E.	Efeitos Sistêmicos	PDE estipulado com base na biodisponibilidade ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )	PDE estipulado com base no NOAEL/LOAEL ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )	PDE cutâneo a considerar ( $\mu\text{g}/\text{dia}$ )
Cd		50	-	12 [51]
Pb		500	-	35 [51]
As		480	-	480
Hg		90	-	30 [51]
Co		500	30	30
V		100	-	100
Ni		4000	220	220
Tl		640	-	640
Au		100	-	100
Pd		100	108	100
Ir		100	-	100
Os		100	-	100
Rh		100	-	100
Ru		100	-	100
Se	x	80	145	80
Ag		150	-	150
Pt		600	-	600
Li		46750	-	46750
Sb	x	90	1660	90
Ba		1400	-	1400
Mo		231000	-	231000
Cu		120000	260	260
Sn	x	600	-	600
Cr		110000	-	110000

Os resultados das análises de risco realizadas podem ser observados na Tabela 6.2.

Tabela 6.2 Resultados da AR

Produto	Origem de API e excipientes	RPN	FABRICO (Equipamento)	RPN	FABRICO (Processo)	RPN	Água	RPN	Acond. primário	RPN
SS6	Vegetal, mineral	1000	ss316, ss316L, ss304, silicone, PP, PE, vidro	250	Homogeneização, fusão, arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SUP1	Sintética, vegetal	120	ss316L, ss(ns), silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	PVC/PE	60
SUP2	Sintética, vegetal	120	ss316L, ss(ns), silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	PVC/PE	60
LIQ1	Tudo desconhecido	1000	ss, vidro, silicone, PP, PE	250	Preparação (pH ácido), Filtração, Enchimento	375	PUR	50	PVC/PVDC/PE	60
SUP3	Vegetal	50	ss316L, ss(ns), silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	PVC/PE	60
INJ1	Sintética, vegetal c/catalisador	525	ss, vidro, PP, PE, silicone	250	Homogeneização, Filtração	60	PPI	50	Vidro Tipo I	60
SS1	Sintética, vegetal	500	ss304, ss316, ss316L, silicone, vidro, PE, PP	250	Fusão, Homogeneização, Filtração, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SUP4	Vegetal	120	ss316L, silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	PVC/PE	60
SS2	Vegetal	500	ss304, ss316, ss316L, silicone, PE, PP, vidro	250	Fusão, Homogeneização, Filtração, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
INJ2	Sintética, vegetal c/catalisador	525	ss, vidro, PP, PE, silicone;	250	Homogeneização, Filtração	60	PPI	50	Vidro Tipo I	60
INJ3	Sintética, mineral	700	ss, vidro, PE, silicone	250	Homogeneização, Filtração	60	PPI	50	Vidro Tipo I	60
LIQ2	Sintética, vegetal	500	ss, vidro, silicone, PP, PE	250	Preparação da solução com T, Filtração	375	PUR	50	PVC/PVDC/PE	60
SS3	Sintética, vegetal, animal	500	ss316, ss316L, ss304, silicone, PP, PE, vidro	250	Homogeneização, fusão, arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
INJ4	Sintética, mineral	240	ss, vidro, PP, PE, silicone	250	Homogeneização, Filtração	60	PPI	50	Vidro Tipo I	60
LIQ3	Sintética, vegetal	500	ss, vidro, silicone, PP, PE	250	Homogeneização, Filtração	375	PUR	50	PVC/PVDE/PE	60
SS4	Origem desconhecida	100	ss304, ss316, ss316L, silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Filtração, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SS7	Sintética, vegetal, catalisador, mineral	1000	ss316, ss316L, ss304, silicone, PP, PE, vidro	250	Fusão, Homogeneização, Filtração, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SS8	Mineral, catalisador, sintética	240	ss316, ss316L, ss304, silicone, PP, PE, vidro	250	Fusão, Homogeneização, Filtração, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SUP5	Vegetal	120	ss316L, ss(ns), silicone, PE	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	PVC/PE	60
SS9	Vegetal, sintética	500	ss316, ss316L, ss304, silicone, PP, PE, vidro	250	Fusão, Homogeneização, Arrefecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250
SS5	Sintética	70	ss304, ss316, ss316L, Silicone, PE	250	Homogeneização, Arrefecimento, Filtração, Aquecimento	375	PUR	50	Bisnaga alumínio	250

Verifica-se que:

- Dos 21 produtos estudados, 12 estão acima do valor médio de RPN (375) dada, principalmente, a sua origem, pelo que os piores casos são: SS1, SS2, SS3, SS6, SS7, SS9, LIQ1, LIQ2, LIQ3, INJ1, INJ2, INJ3.
- O risco é médio para o equipamento de produção, e este é manipulável com o seguimento das BPF.
- O risco associado ao processo de produção é superior para os casos em que existem fases do processo que ocorrem com elevação da temperatura ou pH baixo.
- A água PUR/PPI tem um RPN sempre baixo.
- O risco associado ao material de acondicionamento primário, verifica-se que os produtos semissólidos armazenados em bisnagas de alumínio apresentam maior RPN.

De acordo com a diretriz Q3D, a análise de risco tem de ter por base as possíveis I.E. presentes no produto, pelo que, o total de I.E. potencialmente presentes nos 21 produtos estão apresentadas na Tabela 6.3.

Tabela 6.3 I.E. potencialmente presentes da AR

Produto	Total de I.E. diária (µg)									
	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni	Mo	Cu	Cr
SS6	0,06	0,06	0,01	0,06	0,06	0,06	3,66	0,96	0,00	0,00
SUP1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00
SUP2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00
LIQ1	15,38	15,53	25,67	34,94	47,74	88,91	166,31	2324,25	2,76	2,25
SUP3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,40	0,00	0,00	0,00
INJ1	1,25	1,25	1,25	1,25	0,15	1,55	1,28	46,25	10,25	1,25
SS1	0,80	0,80	1,60	0,81	0,00	0,80	1,20	1,20	0,80	0,80
SUP4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,70	0,00	0,03	0,00
SS2	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	1,60	0,00	0,00	0,00
INJ2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
INJ3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LIQ2	1,94	0,44	0,80	0,09	1,57	1,58	0,80	0,00	0,02	0,00
SS3	0,37	0,37	0,91	1,13	2,00	4,01	7,64	0,00	4,85	0,00
INJ4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LIQ3	0,87	1,00	2,36	4,02	7,02	13,33	85,67	1260,00	900,01	3300,00
SS4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
SS7	0,75	2,38	4,70	1,86	1,88	5,08	8,62	348,63	59,89	216,32
SS8	0,39	0,98	2,94	0,59	0,98	1,96	134,58	424,90	58,85	215,78
SUP5	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	3,78	0,00	0,04	0,00
SS9	5,05	5,23	7,92	5,08	2,56	4,99	5,11	20,40	6,23	15,60
SS5	6,37	6,37	6,37	6,37	6,37	6,37	6,37	0,00	0,01	0,00

Podemos verificar que há produtos que excedem substancialmente o PDE admitido, o que é resultado de aproximações e considerações nas situações em que o fornecedor de matéria-prima não fornecia análises de I.E. e na análise considerava-se sempre o pior caso possível. Verifica-se que os piores casos são: INJ1, LIQ1, LIQ2, LIQ3, SS2, SS3, SS5, SS7, SS8 e SS9.

Com base nas Tabelas 6.2 e 6.3 podemos definir como piores casos da AR: INJ1, LIQ1, LIQ2, SS5 e SS7, que serão posteriormente analisados no ICP-AES.

Foram escolhidos 2 piores casos de soluções líquidas orais uma delas (LIQ1) apresenta o maior RPN e a outra pela sua composição em I.E. e origem desconhecidas, e por ser uma das matérias-primas mais utilizadas neste grupo farmacêutico.

Mais 2 produtos selecionados foram do grupo dos semissólidos, pois trata-se de um grupo que não tem PDE definidos, por enquanto, na diretriz Q3D. Selecionaram-se 2 produtos, um de base oleosa e outro de base aquosa, também pela razão de que há muita falta de informação dos fornecedores.

Por fim, foi selecionado 1 excipiente que esta na composição da matéria-prima de dois dos produtos pior caso (INJ1 e SS7) e é muito utilizado em produtos farmacêuticos.

## 6.2 Validação do método

Antes de proceder à medição do conteúdo de cada I.E. no equipamento ICP-AES, é necessário validar o método analítico. Os seguintes subcapítulos apresentam os resultados da validação.

### 6.2.1 Seletividade

A maior parte das I.E. não foram quantificadas no branco (Tabela 6.4).

*Tabela 6.4 Resultados da seletividade em brancos, em ppm*

<b>I.E.</b>	<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>	<b>Conclusão</b>
<b>Cd</b>	0,00093	0,00281	<LOQ
<b>Pb</b>	0,00797	0,02414	<LOQ
<b>As</b>	0,02858	0,08661	<LOQ
<b>Hg</b>	0,00454	0,01376	<LOQ
<b>Co</b>	0,00145	0,00438	<LOQ
<b>V</b>	0,00287	0,00871	<LOQ
<b>Ni</b>	0,00124	0,00375	<LOQ
<b>Tl</b>	0,00200	0,00607	<LOQ
<b>Au</b>	0,00847	0,02565	<LOQ
<b>Pd</b>	0,00267	0,00809	<LOQ
<b>Ir</b>	0,00257	0,00777	Quantificado
<b>Os</b>	0,00337	0,01022	Quantificado
<b>Rh</b>	0,00427	0,01295	<LOQ
<b>Ru</b>	0,00420	0,01273	<LOQ
<b>Se</b>	0,00680	0,02060	<LOQ
<b>Ag</b>	0,00766	0,02321	<LOQ
<b>Pt</b>	0,01238	0,03752	<LOQ
<b>Li</b>	0,00134	0,00406	<LOQ
<b>Sb</b>	0,00439	0,01330	Quantificado
<b>Ba</b>	0,00005	0,00014	<LOQ
<b>Mo</b>	0,00254	0,00770	Quantificado
<b>Cu</b>	0,01325	0,04015	<LOQ
<b>Sn</b>	0,01677	0,05081	<LOQ
<b>Cr</b>	0,00179	0,00541	<LOQ

A amostra com padrão foi quantificada para todos os elementos (Tabela 6.5):

*Tabela 6.5 Resultados da seletividade em amostra com padrão a 100%, em ppm*

<b>I.E.</b>	<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>	<b>Conclusão</b>
<b>Cd</b>	0,00093	0,00281	Quantificado
<b>Pb</b>	0,00797	0,02414	Quantificado
<b>As</b>	0,02858	0,08661	Quantificado
<b>Hg</b>	0,00454	0,01376	Quantificado
<b>Co</b>	0,00145	0,00438	Quantificado
<b>V</b>	0,00287	0,00871	Quantificado
<b>Ni</b>	0,00124	0,00375	Quantificado
<b>Tl</b>	0,00200	0,00607	Quantificado
<b>Au</b>	0,00847	0,02565	Quantificado
<b>Pd</b>	0,00267	0,00809	Quantificado
<b>Ir</b>	0,00257	0,00777	Quantificado
<b>Os</b>	0,00337	0,01022	Quantificado
<b>Rh</b>	0,00427	0,01295	Quantificado
<b>Ru</b>	0,00420	0,01273	Quantificado
<b>Se</b>	0,00680	0,02060	Quantificado
<b>Ag</b>	0,00766	0,02321	Quantificado
<b>Pt</b>	0,01238	0,03752	Quantificado
<b>Li</b>	0,00134	0,00406	Quantificado
<b>Sb</b>	0,00439	0,01330	Quantificado
<b>Ba</b>	0,00005	0,00014	Quantificado
<b>Mo</b>	0,00254	0,00770	Quantificado
<b>Cu</b>	0,01325	0,04015	Quantificado
<b>Sn</b>	0,01677	0,05081	Quantificado
<b>Cr</b>	0,00179	0,00541	Quantificado

As I.E. que foram quantificadas no branco, foram estudadas em amostras de 100 e 150% de padrão. Os resultados apresentam discrepância significativa, o que demonstra a seletividade do método para estes elementos (Tabela 6.6).

*Tabela 6.6 Percentagem de discrepância entre as amostras com padrão a 100% e 150%*

<b>I.E.</b>	
<b>Os</b>	88%
<b>Ag</b>	48%
<b>Ir</b>	60%
<b>Sb</b>	55%
<b>Mo</b>	63%

As I.E. detetadas no branco, no teste *t-Student-Fisher* demonstram ser estatisticamente diferentes, quanto aos seus valores médios quantificados (Tabela 6.7).

Tabela 6.7 Resultados da prova t-Student-Fisher

<b>I.E.</b>	
<b>Os</b>	Verifica
<b>Ag</b>	Verifica
<b>Ir</b>	Verifica
<b>Sb</b>	Verifica
<b>Mo</b>	Verifica

O método demonstrou ser seletivo.

**Erros:** Seria necessário fazer comparação com soluções de padrões isolados e não em solução multi-elementar.

## 6.2.2 Exatidão

O método mostrou ser exato para todas as I.E., exceto para: chumbo, ósmio e prata (Tabela 6.8).

Tabela 6.8 Exatidão em %, com base no valor teórico introduzido

<b>I.E.</b>	<b>50%</b>	<b>100%</b>	<b>150%</b>
<b>Cd</b>	54	48	54
<b>Pb</b>	41	37	41
<b>As</b>	96	80	82
<b>Hg</b>	69	62	64
<b>Co</b>	60	53	57
<b>V</b>	66	60	66
<b>Ni</b>	49	47	53
<b>Tl</b>	76	60	61
<b>Au</b>	97	71	75
<b>Pd</b>	72	61	63
<b>Ir</b>	95	61	67
<b>Os</b>	440	493	619
<b>Rh</b>	97	69	73
<b>Ru</b>	80	54	61
<b>Se</b>	99	84	90
<b>Ag</b>	6	4	6
<b>Pt</b>	104	69	74
<b>Li</b>	87	86	88
<b>Sb</b>	72	50	53
<b>Ba</b>	67	63	70
<b>Mo</b>	87	64	70
<b>Cu</b>	77	79	81
<b>Sn</b>	82	53	55
<b>Cr</b>	60	54	59

**Erros:** As soluções deviam ter sido preparadas sem o produto, que pode ter causado interferências na resposta do equipamento.

### 6.2.3 Linearidade

O método demonstrou ser linear (Tabela 6.9). Os gráficos respetivos ao estudo da normalidade dos resíduos podem ser observados no [Anexo A](#).

*Tabela 6.9 Resultados da validação da linearidade*

<b>I.E.</b>	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Normalidade dos resíduos</b>	<b>Variância residual constante</b>	<b>CV dos fatores resposta</b>	<b>Significância estatística do desvio padrão do declive</b>
<b>Cd</b>	0,9996	0,9993	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Pb</b>	0,9991	0,9982	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>As</b>	0,9994	0,9989	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Hg</b>	0,9996	0,9992	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Co</b>	0,9997	0,9994	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>V</b>	0,9998	0,9997	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Ni</b>	0,9996	0,9992	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Tl</b>	0,9991	0,9983	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Au</b>	0,9993	0,9987	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Pd</b>	0,9955	0,9911	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Ir</b>	0,9993	0,9986	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Os</b>	0,9988	0,9977	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Rh</b>	0,9995	0,9990	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Ru</b>	0,9969	0,9938	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Se</b>	0,9993	0,9986	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Ag</b>	0,9977	0,9954	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Pt</b>	0,9994	0,9988	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Li</b>	0,9998	0,9996	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Sb</b>	0,9990	0,9981	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Ba</b>	0,9978	0,9956	Verifica	Não verifica	Verifica	Verifica
<b>Mo</b>	0,9996	0,9993	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Cu</b>	0,9997	0,9994	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Sn</b>	0,9995	0,9990	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica
<b>Cr</b>	0,9997	0,9995	Verifica	Verifica	Verifica	Verifica

## 6.2.4 Precisão

A precisão foi estudada sob forma de repetibilidade do método. Com padrões introduzidos a concentrações de 0,25 ppm, 0,50 ppm e 0,75 ppm e teve por objetivo verificar que o CV (%) é inferior a 21% em amostras na ordem dos 0,01 ppm e inferior a 15% em amostras na ordem dos 0,1 ppm.

O método demonstrou ser repetitivo para todas as I.E. exceto para: Níquel, Paládio e Ósmio (Tabela 6.10). Quando mais a amostra é manipulada, maior é a variabilidade do método.

*Tabela 6.10 Resultados de validação da Precisão*

<b>I.E.</b>	<b>CV estabelecido</b>
<b>Cd</b>	Verifica
<b>Pb</b>	Verifica
<b>As</b>	Verifica
<b>Hg</b>	Verifica
<b>Co</b>	Verifica
<b>V</b>	Verifica
<b>Ni</b>	<b>16%</b>
<b>Tl</b>	Verifica
<b>Au</b>	Verifica
<b>Pd</b>	<b>37%</b>
<b>Ir</b>	Verifica
<b>Os</b>	<b>38%</b>
<b>Rh</b>	Verifica
<b>Ru</b>	Verifica
<b>Se</b>	Verifica
<b>Ag</b>	Verifica
<b>Pt</b>	Verifica
<b>Li</b>	Verifica
<b>Sb</b>	Verifica
<b>Ba</b>	Verifica
<b>Mo</b>	Verifica
<b>Cu</b>	Verifica
<b>Sn</b>	Verifica
<b>Cr</b>	Verifica

## 6.2.5 LOD e LOQ

Os limites de detecção foram comparados com valores encontrados na bibliografia e verifica-se que o limite calculado é inferior ao encontrado na bibliografia. Os limites de detecção e quantificação, obtidos a partir das retas de calibração, demonstram ser ideais quando comparados com os limites disponibilizados na bibliografia (Tabela 6.11).

*Tabela 6.11 Comparação e análise do LOD e LOQ*

<b>I.E.</b>	<b>LOD Bibliografia [100]</b>	<b>LOD Calibração</b>	<b>LOQ Calibração</b>
<b>Cd</b>	0,005	0,00093	0,00281
<b>Pb</b>	0,05	0,00797	0,02414
<b>As</b>	0,05	0,02858	0,08661
<b>Hg</b>	0,05	0,00454	0,01376
<b>Co</b>	0,005	0,00145	0,00438
<b>V</b>	0,005	0,00287	0,00871
<b>Ni</b>	0,005	0,00124	0,00375
<b>Tl</b>	0,05	0,00200	0,00607
<b>Au</b>	0,05	0,00847	0,02565
<b>Pd</b>	0,05	0,00267	0,00809
<b>Ir</b>	0,05	0,00257	0,00777
<b>Os</b>	0,001	0,00337	0,01022
<b>Rh</b>	0,1	0,00427	0,01295
<b>Ru</b>	0,05	0,00420	0,01273
<b>Se</b>	0,05	0,00680	0,02060
<b>Ag</b>	0,005	0,00766	0,02321
<b>Pt</b>	0,05	0,01238	0,03752
<b>Li</b>	0,005	0,00134	0,00406
<b>Sb</b>	0,05	0,00439	0,01330
<b>Ba</b>	0,0005	0,00005	0,00014
<b>Mo</b>	0,01	0,00254	0,00770
<b>Cu</b>	0,005	0,01325	0,04015
<b>Sn</b>	0,05	0,01677	0,05081
<b>Cr</b>	0,005	0,00179	0,00541

### 6.3 Resultados obtidos para pior caso

O ICP-AES utilizado na análise permitiu confirmar ou, na maior parte dos casos, excluir o risco de presença de I.E. É importante salientar que o método analítico não substitui a análise de risco, mas permite ser mais objetivo aquando da sua realização e atualização.

Os resultados do método analítico utilizado para a avaliação dos piores casos pode ser observado nas Tabelas 6.12 e 6.13:

*Tabela 6.12 Resultados referentes à medição dos produtos e excipiente, em ppm*

<b>I.E.</b>	<b>SS5</b>	<b>LIQ2</b>	<b>Excipiente</b>	<b>SS7</b>	<b>INJ1</b>	<b>LIQ1</b>
<b>Cd</b>	<LOD	0,00951	0,04501	<LOD	0,05101	0,00858
<b>Pb</b>	<LOD	<LOD	1,73608	<LOD	1,07663	<LOD
<b>As</b>	<LOD	0,12355	10,00749	0,66124	4,30686	<LOD
<b>Hg</b>	<LOD	<LOD	3,09550	0,20999	1,43577	<LOD
<b>Co</b>	<LOD	<LOD	0,01005	<LOD	0,03123	<LOD
<b>V</b>	0,00817	0,00819	<LOD	<LOD	<LOD	0,00654
<b>Ni</b>	0,01107	0,01735	<LOD	0,00599	0,02913	0,00779
<b>Tl</b>	<LOD	<LOD	1,53171	0,41108	0,63629	<LOD
<b>Au</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Pd</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Ir</b>	<LOD	<LOD	0,06387	<LOD	0,10088	<LOD
<b>Os</b>	0,02156	0,01964	0,05234	0,02205	0,07956	0,01750
<b>Rh</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Ru</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Se</b>	<LOD	<LOD	6,66351	0,52737	3,69412	<LOD
<b>Ag</b>	0,02822	0,06317	<LOD	0,02159	0,00851	0,02898
<b>Pt</b>	<LOD	0,06087	4,57081	0,21469	3,39622	<LOD
<b>Li</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Sb</b>	<LOD	<LOD	1,93734	0,30180	1,19938	<LOD
<b>Ba</b>	<LOD	<LOD	<LOD	0,01149	<LOD	<LOD
<b>Mo</b>	<LOD	<LOD	0,08839	0,10798	0,07435	<LOD
<b>Cu</b>	0,01075	0,02077	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Sn</b>	<LOD	0,12057	10,37837	0,50299	4,77028	<LOD
<b>Cr</b>	0,00585	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Podemos observar que nas amostras do excipiente analisado e da solução INJ1 foram detetadas quantidades significativas de I.E.

Tabela 6.13 Resultados dos ensaios com os materiais de acondicionamento primário, em ppm

I.E.	Vidro Tipo I Transp.	Vidro Tipo I Âmbar	Vidro III Âmbar	BG	SO	Alv.	Rolhas	BG Lixiviação
Cd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,00799
Pb	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,17719
As	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,20340
Hg	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,32894
Co	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,00921
V	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ni	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,01237
Tl	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,12147
Au	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Pd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ir	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Os	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,00110	0,01573
Rh	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ru	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Se	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,77105
Ag	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,00568
Pt	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Li	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sb	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,29131
Ba	<LOD	0,02987	0,00370	<LOD	<LOD	<LOD	0,00584	<LOD
Mo	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,01121
Cu	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sn	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,15330
Cr	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

BG - Bsnaga/SO - Ampolas solução oral/Alv -Alvéolos

Os resultados dos ensaios, realizados com os materiais de acondicionamento primário, observados na Tabela 6.13 verificam que o risco de cedência de I.E. após o ensaio de extração dos materiais é baixo. Pelo que, se este material de acondicionamento não apresenta cedência significativa de I.E. nas condições do ensaio (60°C, 24 horas) então o risco do correspondente material, nas condições em que um produto farmacêutico é armazenado, é baixo. No caso do frasco de vidro do Tipo III (cor âmbar), que também passou o ensaio dos 60°C durante 24 horas, verifica-se que houve cedência de Ba (0,00370 ppm).

No caso das ampolas de vidro, ensaio a 121°C, durante 1 hora, observa-se que o risco também é baixo. Todas as I.E. abaixo do LOD, exceto o Ba (0,02987ppm) das ampolas de cor âmbar.

O ensaio de lixiviação (armazenamento do álcool isopropílico durante 3 semanas) apresentou resultados diferentes e relevantes. Verifica-se que, nestas condições as bisnagas de alumínio cedem quantidades significantes de Chumbo, Arsénio, Mercúrio, Tálcio, Selénio, Antimónio e Estanho. Estes resultados tornam-se interessantes também pelo facto de que, em estudos anteriores foram detetados os seguintes metais: Chumbo, Cadmio, Mercúrio e Crómio, pelo que os outros elementos detetados no presente trabalho, não eram esperados pela AR.

A água utilizada nos Laboratórios Vitória é PUR e PPI, em que a primeira foi analisada e confirmaram-se concentrações baixas de I.E. (Tabela 6.14) o que era expectável dado que a linha de água instalada nos Laboratórios Vitória forma um sistema fechado em circulação contínua, concebida para funcionar de maneira automática durante 24 horas. A qualidade da água PUR deve-se aos tratamentos pelo quais esta água passa, como a OI e CDI, que permitem reduzir ao mínimo as I.E. que podem estar presentes e a composição da água utilizada no processo, PUR ou PPI, é validada através de análises regulares, em laboratório.

Tabela 6.14 Resultados referentes à medição das duas águas purificadas Milli-Q e PUR em ppm

<b>I.E.</b>	<b>Água Milli-Q</b>	<b>Água PUR</b>
<b>Cd</b>	0,00896	0,00425
<b>Pb</b>	0,01393	0,02339
<b>As</b>	<LOD	<LOD
<b>Hg</b>	<LOD	<LOD
<b>Co</b>	0,00469	0,00321
<b>V</b>	0,00464	0,00546
<b>Ni</b>	0,00851	0,01000
<b>Tl</b>	0,02621	0,00539
<b>Au</b>	0,01829	0,01573
<b>Pd</b>	0,00639	0,00890
<b>Ir</b>	0,01963	0,01871
<b>Os</b>	0,02067	0,01957
<b>Rh</b>	0,00517	0,01154
<b>Ru</b>	0,00738	0,00796
<b>Se</b>	0,00916	<LOD
<b>Ag</b>	0,03549	0,02899
<b>Pt</b>	<LOD	<LOD
<b>Li</b>	<LOD	<LOD
<b>Sb</b>	0,02290	0,02363
<b>Ba</b>	<LOD	<LOD
<b>Mo</b>	0,00939	0,00878
<b>Cu</b>	<LOD	<LOD
<b>Sn</b>	<LOD	<LOD
<b>Cr</b>	0,00288	0,00295

Como na primeira parte do trabalho foi objetivo determinar os piores casos da AR para posteriormente serem analisados em ICP-AES, na Tabela 6.15 é possível comparar os resultados obtidos através do ICP-AES com os esperados da AR.

Tabela 6.15 Comparação AR teórica e resultados do ICP-AES, em ppm

I.E.	SS5		SS7		INJ1		LIQ1		LIQ2		Excipiente	
	ICP-AES	AR	ICP-AES	AR	ICP-AES	AR	ICP-AES	AR	ICP-AES	AR	ICP-AES	AR
Cd	<LOD	6,37419	<LOD	0,39232	<b>0,05101</b>	1,35317	<b>0,00858</b>	15,37500	<b>0,00951</b>	1,94478	<b>0,04501</b>	1,00000
Pb	<LOD	6,37419	<LOD	0,98080	<b>1,07663</b>	1,40525	<LOD	15,52500	<LOD	2,39404	<b>1,73608</b>	1,00000
As	<LOD	6,37419	<b>0,66124</b>	2,94240	<b>4,30686</b>	1,70623	<LOD	25,66500	<b>0,12355</b>	6,20520	<b>10,00749</b>	2,00000
Hg	<LOD	6,37099	<b>0,20999</b>	0,58848	<b>1,43577</b>	1,33983	<LOD	34,93980	<LOD	10,89540	<b>3,09550</b>	1,00000
Co	<LOD	6,36619	<LOD	0,98080	<b>0,03123</b>	0,19800	<LOD	47,74200	<LOD	19,66390	<b>0,01005</b>	0,00000
V	<b>0,00817</b>	6,37419	<LOD	1,96160	<LOD	1,59301	<b>0,00654</b>	88,90500	<b>0,00819</b>	37,58250	<LOD	1,00000
Ni	<b>0,01107</b>	6,37419	<b>0,00599</b>	134,58311	<b>0,02913</b>	1,32303	<b>0,00779</b>	166,30500	<b>0,01735</b>	85,33445	<LOD	1,00000
Tl	<LOD	0,00000	<b>0,41108</b>	130,65991	<b>0,63629</b>	0,04800	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<b>1,53171</b>	0,00000
Au	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<LOD	0,04800	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000
Pd	<LOD	0,00000	<LOD	130,65991	<LOD	1,29301	<LOD	2,25000	<LOD	0,00000	<LOD	1,00000
Ir	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<b>0,10088</b>	1,29301	<LOD	2,25000	<LOD	0,00000	<b>0,06387</b>	1,00000
Os	<b>0,02156</b>	0,00000	<b>0,02205</b>	0,00000	<b>0,07956</b>	1,29301	<b>0,01750</b>	0,00000	<b>0,01964</b>	0,00000	<b>0,05234</b>	0,00000
Rh	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<LOD	1,29301	<LOD	2,25000	<LOD	0,00000	<LOD	1,00000
Ru	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<LOD	1,29301	<LOD	2,25000	<LOD	0,00000	<LOD	1,00000
Se	<LOD	0,00000	<b>0,52737</b>	0,00000	<b>3,69412</b>	0,01440	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<b>6,66351</b>	0,00000
Ag	<b>0,02822</b>	0,00000	<b>0,02159</b>	0,00000	<b>0,00851</b>	0,04800	<b>0,02898</b>	0,00000	<b>0,06317</b>	0,00000	<LOD	0,00000
Pt	<LOD	0,00000	<b>0,21469</b>	0,00000	<b>3,39622</b>	1,29301	<LOD	2,25000	<b>0,06087</b>	0,00000	<b>4,57081</b>	1,00000
Li	<LOD	0,00000	<LOD	49,04000	<LOD	7,54800	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000
Sb	<LOD	0,00000	<b>0,30108</b>	17,65440	<b>1,19938</b>	2,74800	<LOD	0,00000	<LOD	0,00000	<b>1,93734</b>	0,00000
Ba	<LOD	0,00000	<b>0,01149</b>	137,31200	<LOD	0,04800	<LOD	0,30000	<LOD	0,86760	<LOD	0,00000
Mo	<LOD	0,00000	<b>0,10798</b>	424,89991	<b>0,07435</b>	46,29301	<LOD	2324,25000	<LOD	1080,00000	<b>0,08839</b>	1,00000
Cu	<b>0,01075</b>	0,00800	<LOD	58,84800	<LOD	10,29302	<LOD	2,76300	<b>0,02077</b>	0,01626	<LOD	1,00000
Sn	<LOD	0,00000	<b>0,50299</b>	117,69600	<b>4,77028</b>	0,04800	<LOD	0,00000	<b>0,12057</b>	0,00000	<b>10,37837</b>	0,00000
Cr	<b>0,00585</b>	0,00000	<LOD	215,77600	<LOD	1,29301	<LOD	2,25000	<LOD	0,00000	<LOD	1,00000

Nota: As I.E. destacadas a vermelho ultrapassam os 30% do PDE.

É possível verificar que:

- Os semissólidos (SS) analisados, através do ICP-AES não ultrapassam os 30% do PDE Parenteral, e consequentemente dos 30% do PDE Oral. Dada a afirmação anterior, é admissível concluir que a AR efetuada previamente é excessiva quanto à presença de I.E., o que se deve principalmente ao facto de que os valores utilizados para esta análise tenham sido sempre o pior caso possível, devido à falta de informação dos fornecedores, o que resultou num resultado final mais agravado que a realidade.
- As soluções líquidas orais (LIQ) analisadas, através do ICP-AES, por sua vez, também não ultrapassam os 30% do PDE Oral. Verifica-se que, neste caso tal como no anterior, a AR foi realizada por excesso, exceto para os elementos que não eram prometidos pelo fornecedor, que tinham como valor esperado 0, na AR, pelo que, neste caso eram esperados valores inferiores ao limite de deteção, no ICP-AES, o que não se verificou. Ainda assim, a análise demonstrou a conformidade do produto final em relação aos limites estabelecidos na *guideline* Q3D.

- A solução injetável analisada revelou alguns elementos (Mercúrio – Classe 1 e Selênio – Classe 2B) superiores aos 30% do PDE Parenteral, não ultrapassando o valor do PDE da via Parenteral. Ainda é de referir que, alguns elementos foram detetados em quantidades superiores às esperadas da AR.
- O excipiente analisado foi escolhido pela sua falta de informação e abundante presença em medicamentos, o que demonstra, através dos resultados, ser a escolha acertada.
- Verifica-se que, este excipiente apresenta elevadas quantidades de I.E., enquanto que o fornecedor prometia um máximo de 1 ppm. As I.E. presentes no excipiente foram encontradas a níveis superiores aos prometidos, com destaque para o Arsénio (prometido pelo fornecedor da matéria-prima a 2 ppm) que na verdade foi detetado a 10 ppm.

Como o excipiente analisado no ICP-AES está na composição de dois dos produtos analisados no ICP-AES, foi realizada uma comparação de resultados que permitiu verificar uma tendência de I.E., o que leva a crer que estes produtos (INJ1 e SS7) devem as suas I.E. a este excipiente (Figura 6.1.).

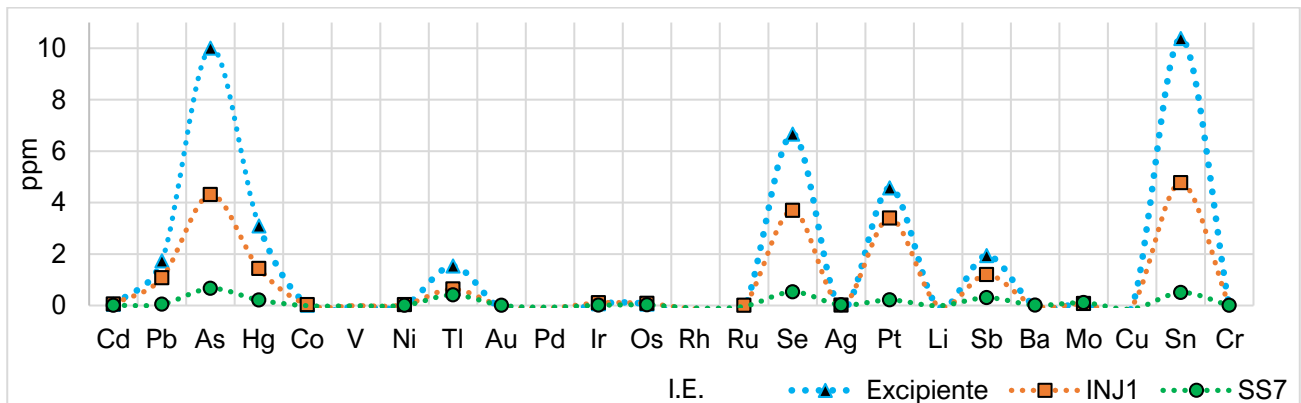


Figura 6.1 Comparação de I.E. do excipiente com os produtos finais, que o têm na sua composição

Nota: Os produtos INJ1 e SS7 têm o excipiente diluído em água e outros excipientes, pelo que o excipiente apresentado apresenta valores superiores quando analisado isolado.

Esta conclusão demonstra a causa do problema, pelo que é exigida uma das seguintes ações de controlo, em relação ao excipiente analisado:

- Pedido de análise, no que conta às I.E. ao fabricante, de 3 lotes aleatórios
- Troca de fabricante do excipiente

## 7 Conclusões e Propostas de Trabalho Futuras

---

Com o objetivo de verificar se os produtos fabricados nos Laboratórios Vitória cumprem com os valores de PDE estabelecidos na *guideline* Q3D e o potencial risco que apresentam ao utente, foram realizadas análises de risco a 21 produtos. Destes produtos, 12 ultrapassam o RPN médio, em que o maior RPN (RPN=1000) foi observado para 3 dos produtos, em que 2 deles são semissólidos e 1 é uma solução líqüida oral. Nomeadamente, esta solução líqüida oral (LIQ1) excede significativamente o PDE da *guideline* para a via de administração oral. O risco associado ao API é baixo nos produtos analisados, dado que aqueles que tinham informação disponível, são fabricados via sintética.

O RPN elevado obtido para estes produtos deve-se ao facto de que estes têm excipientes de origem mineral ou foram fabricados na presença de catalisador, exceto a solução líqüida oral que tem 6 excipientes, todos de origem desconhecida. Neste caso, o RPN elevado provém de uma extrapolação de pior caso possível e a AR realizada a estes produtos permite concluir que, a fonte de maior contribuição de I.E. para o produto final são os excipientes.

A AR permitiu verificar também que:

- No caso do acondicionamento primário verificou-se que, o material respetivo aos produtos semissólidos (biscnagas de alumínio) apresenta um RPN médio (RPN=250) enquanto que, os outros materiais de acondicionamento primário estudados (vidro, alvéolos e ampolas para os líqüidos orais), apresentam baixo risco (RPN=60);
- A água PUR apresenta um RPN baixo (RPN=50), devido aos processos de tratamento pelos quais passa, mais propriamente a OI e a CDI que permitem garantir a qualidade da água e a sua baixa concentração em metais pesados;
- O material de contacto durante o fabrico e as condições apresentam também um risco médio, que é controlável pelo seguimento das BPF;

Desta parte inicial do trabalho, concluimos que, a incerteza na avaliação de risco advém principalmente da falta de informação formada pelos fabricantes da matéria-prima. O fabricante do produto final é responsável por solicitar os relatórios/certificados da composição da matéria-prima, correndo um risco de não os receber, porque esta *guideline* apenas apresenta caráter obrigatório para os fabricantes do produto final e não para os da matéria-prima. Estes fazem-no consoante a importância da indústria farmacêutica no seu negócio. Para evitar este risco, o fabricante do produto final pode testar todos os excipientes que utiliza, de forma a garantir a sua qualidade, o que não é viável economicamente.

Para avaliar a adequabilidade do método analítico selecionado para estudar os piores casos, foi realizada a validação deste. O método ICP-AES demonstrou ser adequado para medir I.E. de forma a cumprir com os requisitos da *guideline*, dados os seus limites de deteção e quantificação baixos:

- LOD (Hg)=0,00454 ppm, LOQ (Hg)=0,01376 ppm
- LOD (As)=0,02858 ppm, LOQ (As)=0,08661 ppm

Também pela razão de este se apresentar seletivo e linear para todas as I.E., exato para todos os elementos exceto para o Pb, Os, Ag e preciso para todas as I.E. exceto para o Ni, Pd e Os.

O facto de algumas I.E. não poderem ser validadas para todos os parâmetros poderá pôr em dúvida os resultados referentes a estas I.E. Apesar disso, neste caso, seria apenas incerteza do valor apresentado, dado que estes elementos foram detetados a níveis inferiores aos esperados, na presença de concentração conhecida padrão. Estes resultados devem ser considerados para o resultado final, pelo que, pelo menos a quantidade encontrada destes elementos está na amostra.

O ICP-AES foi utilizado para estudar 5 produtos pior caso (2 semissólidos, 2 líquidos orais, 1 solução injetável), 1 excipiente, 4 tipos de materiais de acondicionamento primário e a água PUR. Acrescentando as amostras da validação, analisou-se um total de 50 amostras no ICP-AES.

Os resultados do método analítico demonstraram que os produtos semissólidos e as soluções líquidas orais apresentam I.E. abaixo dos valores esperados da AR, enquanto que o produto injetável apresentou vários elementos (As, Hg, Tl, Se, Pt, Sn) acima do esperado, pela AR deste produto, particularmente o Hg e o Se excedem os 30% do PDE parenteral.

O excipiente analisado está na composição de 2 dos produtos analisados e é utilizado em muitos outros produtos farmacêuticos. Os resultados de I.E. no ICP-AES deste excipiente são superiores aos esperados da AR, e elevados para alguns elementos, como por exemplo, o As foi encontrado a 10,00749 ppm, o Se a 6,66351 ppm e o Sn a 10,37837 ppm, enquanto que na Ph. Eur. é admitido o limite de 5 ppm como total de metais pesados. É de reparar também que, o fornecedor deste excipiente prometia limite de 1 ppm de alguns metais pesados.

Dado o exposto, é necessária uma das seguintes ações de controlo em relação ao excipiente analisado:

- Pedido de análise, no que conta às I.E. ao fabricante, de 3 lotes aleatórios
- Troca de fabricante do excipiente

A água PUR analisada, tal como esperado da AR, apresentou I.E. em concentrações insignificantes (< 0,1 ppm), pelo que esta água não apresenta contribuição relevante com I.E. para o produto final.

Os materiais de acondicionamento primário, que foram submetidos a processos de extração não mostraram cedência de significativa de I.E., sempre abaixo do LOD, exceto o vidro de cor âmbar, que tanto no vidro do Tipo I, como no vidro Tipo III cedeu Ba, 0,02987 ppm e 0,00370 ppm, respetivamente. As rolhas HDPE apresentaram cedência de Os e Ba de 0,00110 ppm e 0,00584 ppm, respetivamente.

As bisnagas de alumínio submetidas ao processo de lixiviação durante 3 semanas apresentaram valores significantes cedidos de várias I.E., com evidência para o As (1,20340 ppm) e o Sn (1,15330 ppm). Porém, nas condições normais de armazenamento dos produtos (< 25°C) não foi observada cedência. É importante salientar que os produtos semissólidos analisados não contêm álcool na sua composição e em outros produtos semissólidos que tenham álcool como excipiente, o risco de cedência de I.E. é baixo dado que, este excipiente não será utilizado puro como no ensaio de lixiviação, que teve por objetivo criar condições propícias à cedência de I.E.

Desta forma, com base nas evidências anteriores verifica-se que uma AR, com base nos dados disponibilizados pelos fornecedores, ao fabricante do medicamento, cientificamente comprovados, é suficiente para obter conclusões acerca da segurança de um produto, relativamente às I.E.. Podemos também concluir que uma AR com resultado de risco baixo, é suficiente para negar a necessidade de um teste analítico para garantir a qualidade do produto final.

Dado o custo operatório do ICP-AES, não é viável analisar todos os produtos aos quais se faz AR, pelo que o relevo tem que ser dado aos seguintes casos:

- RPN elevado e há muitos dados em falta
- RPN elevado para medicamento administrado via parenteral ou oral
- Elementos que têm biodisponibilidade alta e podem estar potencialmente presentes, dada a origem
- Soma das I.E. potencialmente presentes excede 30% do PDE

Em síntese, o grau de confiança que o fabricante do medicamento concebe ao fabricante da matéria prima é a chave do negócio. Desta relação poderá resultar uma AR completa e detalhada, se ambas as partes se mostrarem disponíveis para colaborar, o que não se verificou no presente trabalho. Se todos os dados solicitados fossem disponibilizados pelos fabricantes da matéria-prima, seria possível evitar a análise no ICP-AES de vários produtos, pois, concluiu-se que todos os produtos analisados no ICP-AES são seguros, para o consumo humano, não ultrapassando o PDE estabelecido na diretriz Q3D.

No futuro, seria interessante a realização de ensaios de extração, nas condições deste trabalho (60°C, 24 horas), com o aço inoxidável 316L, de forma a confirmar a segurança deste material transmitida em estudos já existentes.

Ademais, um desenvolvimento mais pormenorizado dos parâmetros da validação do método ICP-AES ou outro (ICP-MS) poderá ser realizado.



## 8 Referências

---

- [1] Laboratórios Vitória S.A., “Fabrico.” [Online].  
Available: <https://www.labvitoria.pt/pt/fabrico?mt=5>. [Accessed: 17-Aug-2019].
- [2] Infarmed, “Apresentação do Infarmed.” [Online].  
Available: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/apresentacao>. [Accessed: 19-Aug-2019].
- [3] Infarmed, “Importação.” [Online].  
Available: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/importacao>. [Accessed: 19-Aug-2019].
- [4] “Farmacovigilância,” Infarmed. [Online].  
Available: [http://app10.infarmed.pt/25\\_anos/3/farmacovigilancia.html](http://app10.infarmed.pt/25_anos/3/farmacovigilancia.html). [Accessed: 30-Apr-2019].
- [5] L. Stoppa, “Revision of EudraLex VOL. 4 - GMP” 2011. [Online].  
Available: <https://slideplayer.com/slide/12126250/>. [Accessed: 30-Apr-2019].
- [6] M. James, "Thalidomide caused up to 10,000 miscarriages and infant deaths in UK", The Guardian, 2016. [Online].  
Available: <https://www.theguardian.com/society/2016/mar/06/thalidomide-caused-up-to-10000-miscarriages-infant-deaths-uk>. [Accessed: 29-Apr-2019].
- [7] European Commission, “EU Guidelines for GMP for Medical Products for Human and Veterinary use,” Eudralex, vol. 4, 2010.
- [8] European Comission, “EudraLex GMP Guideline, Volume 4, Chapter 3: Premises and Equipment,” pp. 1–5, 2015.
- [9] Pharmaceutical Technology Editors, “The Role of the Qualified Person in European Pharmaceutical Regulations,” 2010. [Online].  
Available: <http://www.pharmtech.com/role-qualified-person-european-pharmaceutical-regulations?id=&sk=&date=&pageID=3>. [Accessed: 03-May-2019].
- [10] Infarmed, “Boas Práticas de Laboratório.” [Online].  
Available: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/boas-praticas-de-laboratorio>. [Accessed: 13-Sep-2019].
- [11] European Directorate for the Quality of Medicines, “Background and Legal Framework of the European Pharmacopoeia - EDQM.” [Online].  
Available: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-background-50.html>. [Accessed: 03-May-2019].
- [12] Consumer Product Testing Company, “USP Eliminates Heavy Metals Test: FAQs Answered.” [Online].  
Available: <https://www.cptclabs.com/usp-heavy-metals-test/>. [Accessed: 03-May-2019].
- [13] Impact Analytical, “Elemental Impurities : new USP chapters and Frequently Asked Questions Regarding their Implementation,” 2018.
- [14] P. De Raeve, “Q3D - Elemental Impurities : What implications for APIs & excipients suppliers?,” Quality Assistance Contract Research Organization, 2015.

- [15] ECA Academy, “ICH Q3D implemented in the European Pharmacopoeia: Revision of Two General Monographs with Regard to Elemental Impurities,” 2016. [Online].  
Available: <https://www.gmp-compliance.org/gmp-news/ich-q3d-implemented-in-the-european-pharmacopoeia-revision-of-two-general-monographs-with-regard-to-elemental-impurities>. [Accessed: 13-Sep-2019].
- [16] News Farma. “Análise à gestão do risco no setor farmacêutico e biotecnológico ” [Online].  
Available: <http://www.newsfarma.pt/artigos/3324-análise-à-gestão-do-risco-no-setor-farmacêutico-e-biotecnológico.html>. [Accessed: 06-May-2019].
- [17] ISO, ISO 31010: Risk management-Risk assessment techniques. 2009.
- [18] ICH, “Q9 - Quality Risk Management Guideline,” pp. 1–23, November, 2005.
- [19] International Conference on Harmonization, “Q3D (Guideline for Elemental Impurities),” 2014.
- [20] Laboratórios Vitória S.A., “Método Interno.” .
- [21] IEC, “Draft International Standard IEC / FDIS,”, 2009.
- [22] A. DeStefano, K. Zaidi, T. L. Cecil, G. I. Giancaspro, and USP Elemental Impurities Advisory Panel, “General Chapter on Inorganic Impurities: Heavy Metals - Stimuli to the Revision Process,” *Pharmacopeial Forum*, vol.36, pp.1-5, 2010.
- [23] International Conference on Harmonization, “Module 1 Developing an Acceptable Level for Other Routes of Administration,” pp. 1–23, 2015.
- [24] A. Teasdale, C. Chéry, G. Cook, J. Glennon, and L. Harris, “Pharmaceutical Technology- Elemental Impurities,” vol. 27, pp. 12–21, 2015.
- [25] G. Li, D. Schoneker, K. L. Ulman, J. J. Sturm, L. M. Thackery, and J. F. Kauffman, “Elemental impurities in pharmaceutical excipients,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 104, pp. 4197–4206, 2015.
- [26] M. Schweitzer, “Implementation of ICH Q3D: Challenges and opportunities,” September, 2016.
- [27] Infarmed, “Matérias primas ” [Online].  
Available: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/materias-primas>. [Accessed: 06-May-2019].
- [28] S. P. Chaudhari and P. S. Patil, “Pharmaceutical Excipients : A review,” *Int. J. Adv. Pharmacy, Biol. Chem.*, vol. 1, pp. 21–34, 2012.
- [29] Azierta, Presentation “How to implement ICH Q3D of elemental impurities in 5 steps,” 2017.
- [30] W. R. Coutant, M. B. Welch, L. P. Mozer, M. P. McDaniel, and J. L. Martin, “Ethylene polymers,” EP0533154A1, European Patent Office, 2013.
- [31] E. Laurent, “High Density Multimodal Polyethylene,” US 6433095B1, United States Patent, 2002.
- [32] E. S. Shamshoum, D. J. Rausher, and C. G. Bauch, “Ziegler-natta catalysts modified with metallocenes,” US 5767031, United States Patent, 1998.
- [33] M. Sánchez-Martínez, T. Pérez-Corona, C. Cámara, and Y. Madrid, “Migration of antimony from PET containers into regulated EU food simulants,” *Food Chem.*, vol. 141, pp. 816–822, 2013.
- [34] United States Pharmacopeia, “Evaluation of the Inner Surface Durability of Glass Containers,” p. 9, 2018.
- [35] G. Bassioni, A. Korin, and A. E. D. Salama, “Stainless steel as a source of potential hazard due to metal leaching into beverages,” *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 10, pp. 3792–3802, 2014.

- [36] S. Zhou, B. Evans, C. Schöneich, and S. K. Singh, “Biotherapeutic Formulation Factors Affecting Metal Leachables from Stainless Steel Studied by Design of Experiments,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 13, pp. 284–294, 2012.
- [37] P. Haudrechy, J. Foussereau, B. Mantout, and B. Baroux, “Nickel release from nickel-plated metals and stainless steels,” pp. 249–255, 1994.
- [38] EMA, “Guideline on the quality of water for pharmaceutical use,” vol. 44, pp. 1–10, 2018.
- [39] S. Bolisetty, M. Peydayesh, and R. Mezzenga, “Sustainable technologies for water purification from heavy metals: review and analysis,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 48, no. 2, pp. 463–487, 2019.
- [40] ESP Water Products, “How Reverse Osmosis Works.” [Online].  
Available: <https://www.espwaterproducts.com/understanding-ro/>. [Accessed: 13-Sep-2019].
- [41] D. Paul, “Electrodeionization in pharmaceutical water treatment,” *Pharm. Technol.*, vol. 26, no. 7, pp. 36–42, 2002.
- [42] European Pharmacopoeia, “Purified Water,” pp. 2697–2698, 2018.
- [43] WHO, “Annex 9: Guide to good storage practices for pharmaceuticals,” pp. 1–10, 2003.
- [44] R. A. Schaut, J. S. Peanasky, S. E. Demartino, and S. L. Schiefelbein, “A new glass option for parenteral packaging,” *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, vol. 68, no. 5, pp. 527–534, 2014.
- [45] European Pharmacopoeia 7.0., “Glass Containers for Pharmaceutical Use,” pp. 363–367, 2010.
- [46] A. Teasdale and L. Rutter, “Elemental Impurity Risk Assessment - Case Studies,” *EFPIA*, April, 2016.
- [47] ICH, “Case Study: Solid Oral Drug Product,” pp. 1–14, 2016.
- [48] J. B. Haverkamp, U. Lipke, T. Zapf, R. Galensa, and C. Lipperheide, “Contamination of semi-solid dosage forms by leachables from aluminium tubes,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 70, no. 3, pp. 921–928, 2008.
- [49] S. A. Pillai, D. Chobisa, D. Urimi, and N. Ravindra, “Pharmaceutical glass interactions: A review of possibilities,” *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 8, no. 2, pp. 103–111, 2016.
- [50] A. Buculei, S. Amariei, M. Oroian, G. Gutt, L. Gaceu, and A. Birca, “Metals migration between product and metallic package in canned meat,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 58, no. 2, pp. 364–374, 2014.
- [51] P. Alonso, D. Martín, Azierta Presentation “Implementation of ICH Q3D in products intended for other routes of administration”, 2018.
- [52] Infarmed, “Avaliação Biodisponibilidade/Bioequivalência.” [Online].  
Available:  
[http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao\\_e\\_informacao/informacao-tematica?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_returnToFullPageURL=http%3A%2F%2Fwww.inf](http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/informacao-tematica?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_returnToFullPageURL=http%3A%2F%2Fwww.inf). [Accessed: 06-May-2019].
- [53] C. Herkenne, I. Alberti, A. Naik, Y. N. Kalia, F. X. Mathy, V. Prétat, R. H. Guy, “In vivo methods for the assessment of topical drug bioavailability,” *Pharm. Res.*, vol. 25, pp. 87–103, 2007.
- [54] Scientific Committee on Consumer Safety European Commission, “The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation 9th revision,” October, 2018.

- [55] L. Garner A., "Contact dermatitis to metals," *Dermatol. Ther.*, vol. 17, pp. 321–327, 2004.
- [56] R. Goyer, M. Golub, H. Choudhury, M. Hughes, E. Kenyon, and M. Stifelman, "Issue Paper on the Human Health Effects of Metals," pp. 1–44, 2004.
- [57] T. Pamela G, "Agency for Toxic Substances and Disease Registry Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Cadmium," *Environ. Occup. Med.*, pp. 1–63, 2009.
- [58] OEHHA, "Appendix F: Technical Support Document for Exposure Assessment and Stochastic Analysis," pp. 1–14, September, 2000.
- [59] C. R. Lorence, R. S. Hinz, R. H. Guy, J. J. Hostýnek, and M. Price, "Metals and the Skin," *Crit. Rev. Toxicol.*, vol. 23, no. 2, 2008.
- [60] S. Kaaber, M. Cramers, and F. L. Jepsen, "The role of cadmium as a skin sensitizing agent in denture and non-denture wearers," *Contact Dermatitis*, 1982.
- [61] G. F. Nordberg, B. A. Fowler, M. Nordberg, and L. Friberf, *Handbook on the Toxicology of Metals*, 3rd ed. Copenhagen: Academic Press, 2005.
- [62] A. Walsh, T. Katherine, U. Jean, and P. Domoradzki, "Establishing Limits for Dermal Absorption of Elemental Impurities," *Pharm. Technol. Eur.*, 2015.
- [63] Y. W. Lowney, R. C. Wester, R. A. Schoof, C. A. Cushing, M. Edwards, and M. V. Ruby, "Dermal absorption of arsenic from soils as measured in the rhesus monkey," *Toxicol. Sci.*, vol. 100, no. 2, pp. 381–392, 2007.
- [64] N. K. Erraguntla, R. L. Grant, and T. Division, "Arsenic and Inorganic Arsenic Compounds," *TCEQ*, 2012.
- [65] Government of Alberta, "Appendix 2 - Cobalt toxicity profile," 2007.
- [66] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, "Biomaterials Science: An Introduction to Materials", 3rd ed. Academic Press, 2012.
- [67] D. S. Lim, T.H. Roh, Y.C. Kwon, S.M. Choi, S.J. Kwack, K.B. Kim, S. Yoon, H.S. Kim, B.M. Lee., "Non-cancer, cancer, and dermal sensitization risk assessment of heavy metals in cosmetics," *J. Toxicol. Environ. Health*, vol. 81, no. 11, pp. 432–452, 2018.
- [68] ECHA, "Palladium - Registration Dossier." [Online].  
Available: <https://echa.europa.eu/pt/registration-dossier/-/registered-dossier/18747/7/2/1>. [Accessed: 17-Aug-2019].
- [69] ECHA, "Ruthenium - Registration Dossier." [Online].  
Available: <https://echa.europa.eu/pt/registration-dossier/-/registered-dossier/21165>. [Accessed: 17-Aug-2019].
- [70] J. Risher, "Toxicological Profile for Selenium," *Agency Toxic Subst. Dis. Regist.*, 2003.
- [71] *Agency Toxic Subst. Dis. Regist.* "Toxicological profile for silver," December, 1990.
- [72] A. B. G. Lansdown, "Silver in Healthcare: Its Antimicrobial Efficacy and Safety in Use," 2006.
- [73] ECHA, "Lithium - Registration Dossier." [Online].  
Available: <https://echa.europa.eu/pt/registration-dossier/-/registered-dossier/14178/7/2/2>. [Accessed: 17-Aug-2019].
- [74] L. Breasdorff and E. Nielsen, "Evaluation of health hazards and proposal of a health-based quality criterion for drinking water, soil and ground water," *The Danish Environmental Protection Agency*,

2015.

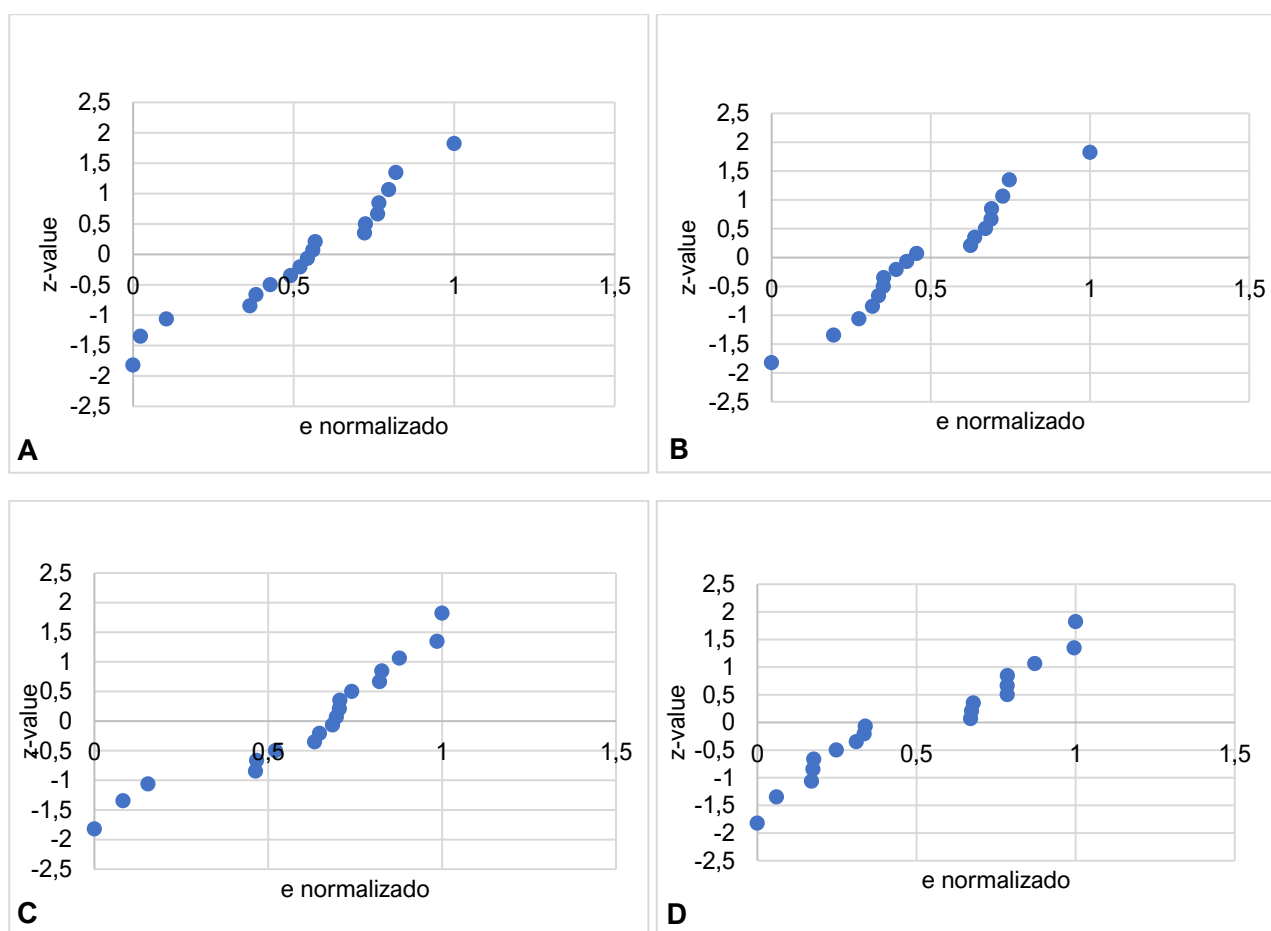
- [75] ECHA, “Barium sulfate - Registration Dossier.” [Online]. Available: <https://echa.europa.eu/pt/registration-dossier/-/registered-dossier/15235/7/3/4>. [Accessed: 17-Aug-2019].
- [76] A. Walsh, T. Katherine, U. Phyllis, and D. Jean, “Establishing Limits for Dermal Absorption of Elemental Impurities,” *Pharm. Technol. Eur.*, vol. 27, 2015.
- [77] R. Thomas, *Measuring Elemental Impurities in Pharmaceuticals - A Practical Guide*, vol. 84. Taylor and Francis Group, LLC, 2018.
- [78] R. Klopper, “Microwave Digestion for Elemental Impurities Analysis According to ICH and USP Guidelines,” pp. 2–6, 2017.
- [79] M. A. Morgano et al., “Avaliação de contaminantes inorgânicos ( As , Cd , Cr , Hg e Pb ) em espécies de peixes,” *Rev Inst Adolfo Lutz*, vol. 70, no. 4, pp. 497–506, 2011.
- [80] D. P. Leite, “Estudo de métodos para a determinação de As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base orgânica por AAS e ICP OES,” Universidade de São Paulo, 2015.
- [81] R. Falciani, E. Novaro, M. Marchesini, and M. Gucciardi, “Multi-element analysis of soil and sediment by ICP-MS after a microwave assisted digestion method,” *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 15, no. 5, pp. 561–565, 2000.
- [82] C. Voica, A. Dehelean, and A. Pamula, “Method validation for determination of heavy metals in wine and slightly alcoholic beverages by ICP-MS,” *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 182, no. 1, 2009.
- [83] G. Habte, J. Y. Choi, E. Y. Nho, S. Y. Oh, N. Khan, H. Choi, K. S. Park, K. S. Kim, “Determination of toxic heavy metal levels in commonly consumed species of shrimp and shellfish using ICP-MS/OES,” *Food Sci. Biotechnol.*, vol. 24, no. 1, pp. 373–378, 2015.
- [84] M. Ghaedi, H. Tavallali, A. Shokrollahi, M. Zahedi, M. Montazerzohori, and M. Soylak, “Flame atomic absorption spectrometric determination of zinc, nickel, iron and lead in different matrixes after solid phase extraction on sodium dodecyl sulfate (SDS)-coated alumina as their bis (2-hydroxyacetophenone)-1, 3-propanediimine chelates,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 166, no. 2–3, pp. 1441–1448, 2009.
- [85] N. Burham, S. M. Abdel-Azeem, and F. El-Shahat, “Determination of lead and cadmium in tap water and apple leaves after preconcentration on a new acetylacetone bonded polyurethane foam sorbent,” *Journal Environmental Analytical Chemistry*, 2008.
- [86] E. A. Rawar and A. Rohman, “Validation of atomic absorption spectrophotometry and mercury analyzer for analysis of cadmium, lead and mercury in red chili pepper,” *Asian J. Agric. Res.*, vol. 10, no. 1, pp. 65–71, 2016.
- [87] Huffman Hazem Laboratories, “ICP-AES Analysis (ICP-OES Analysis).” [Online]. Available: [https://www.huffmanlabs.com/?page\\_id=124](https://www.huffmanlabs.com/?page_id=124). [Accessed: 16-Sep-2019].
- [88] LAQV / REQUIMTE, “Técnica ICP-AES,”.
- [89] T. T. Nham and R. M. Bombelka, “Determination of Metals in Lubricating Oil by ICP-OES,” *Agil. Technol.*, pp. 1–6, 1991.
- [90] X. Tan, Z. Wang, and Z. Wang, “A Facile Acidic Digestion Method for Cosmetic Lead and Cadmium Determination by an Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer,” *J. Appl. Spectrosc.*, vol. 85, no. 4, pp. 659–664, 2018.

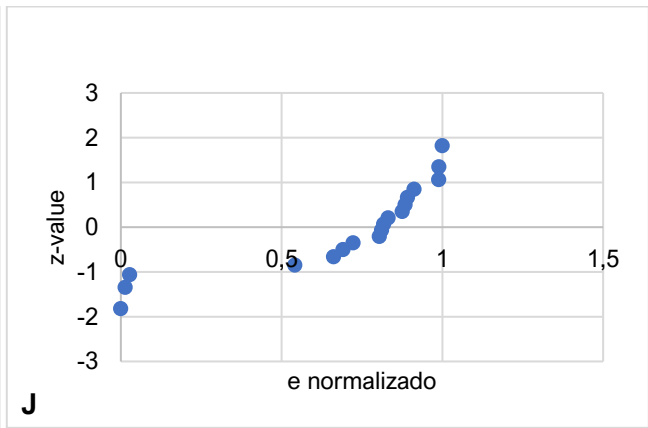
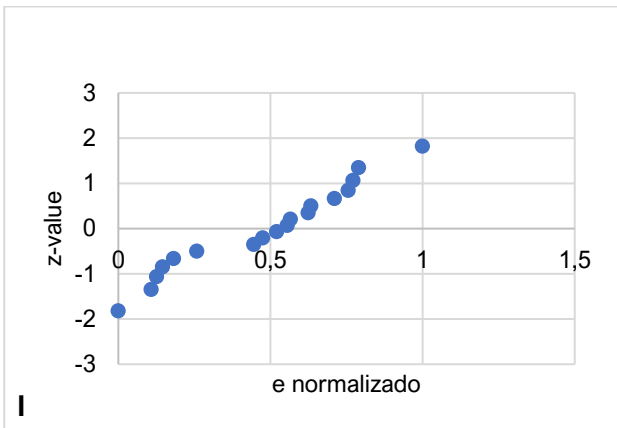
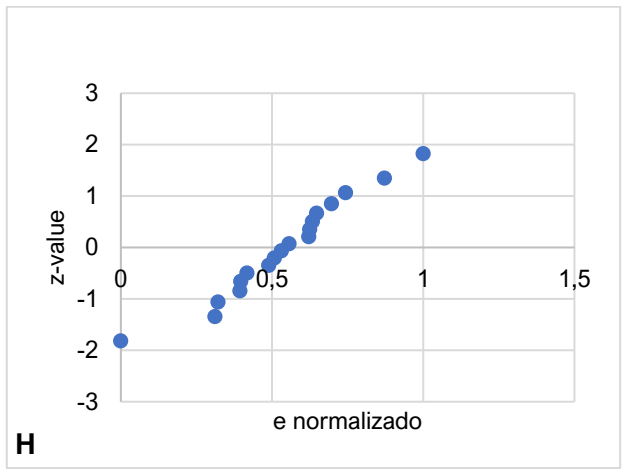
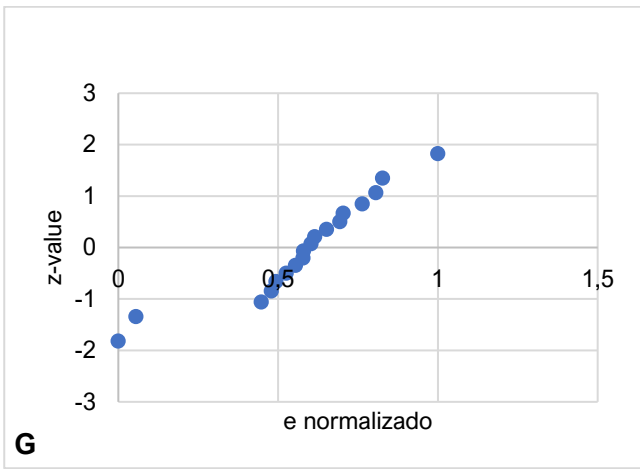
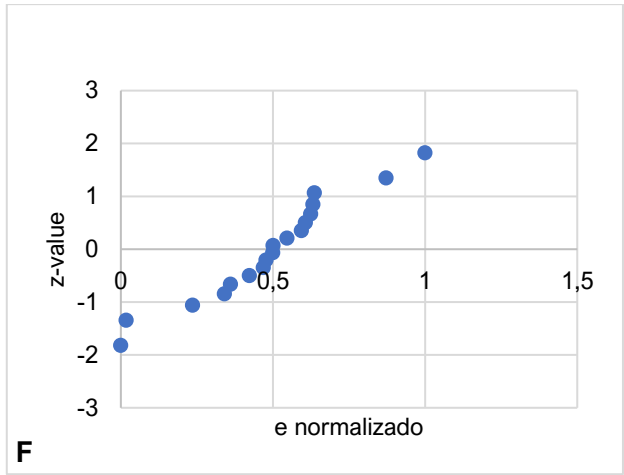
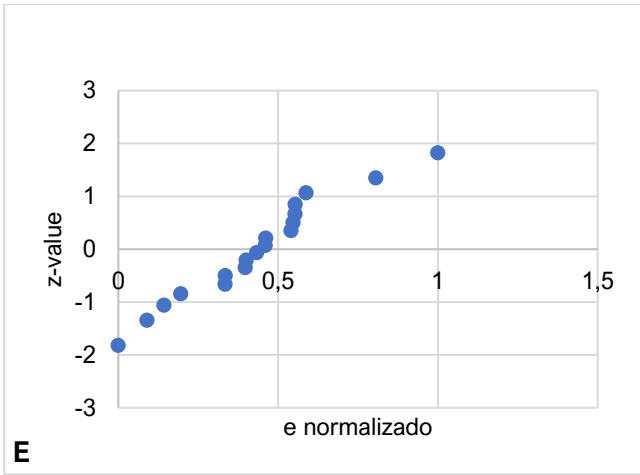
- [91] A. A. Alqadami et al., “Determination of heavy metals in skin-whitening cosmetics using microwave digestion and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 11, no. 5, pp. 597–603, 2017.
- [92] EMEA, “Validation of analytical procedures: text and methodology,” vol. 2, pp. 1–15, 2006.
- [93] WHO, “Guidelines on Validation – Appendix 4 Analytical method validation,” Work. Doc. (QAS 16.671), pp. 1–11, 2018.
- [94] J. Moldenhauer, *Laboratory Validation: A Practitioner’s Guide*, 2003.
- [95] L. Aguirre Ortega, J. Perez Cuadrado, and M. Pujol Forn, *Validación de métodos analíticos*. Barcelona, 2001.
- [96] “Guia RELACRE: Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química.” Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal, 2000.
- [97] C. Rivera and R. Rodriguez, “Horwitz Equation as Quality Benchmark in ISO / IEC 17025 Testing Laboratory,” 2010.
- [98] SCHOTT, “Extractables from FIOLAX ® clear Glass.” n.d.
- [99] J. Bennan et al., “Evaluation of Extractables from Product-Contact Surfaces,” *BioPharm Int.*, vol. 15, no. 12, pp. 22–34, 2002.
- [100] Evans Analytical Group, “ICP-OES and ICP-MS Detection Limit Guidance,” 2007.

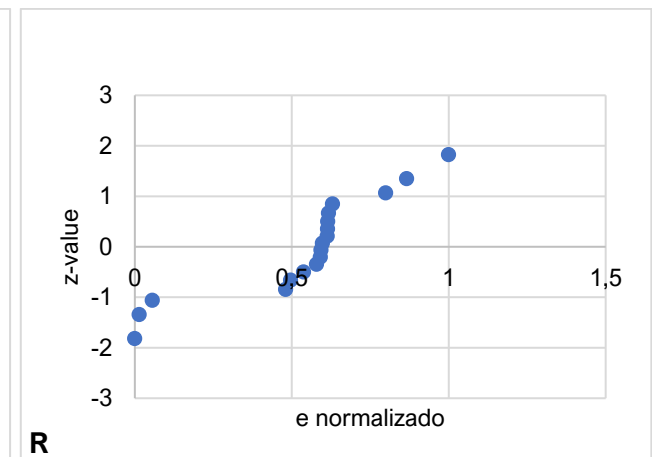
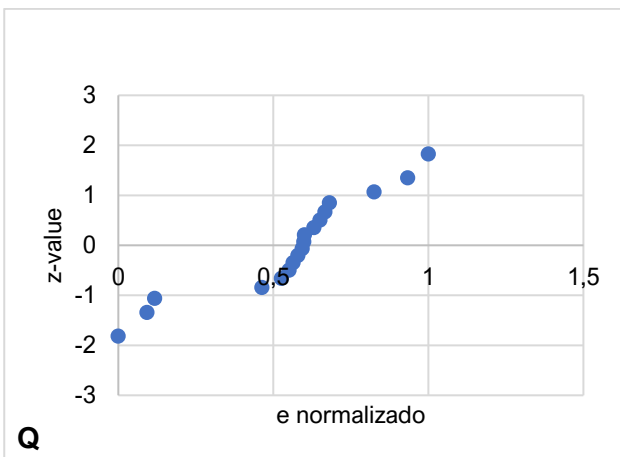
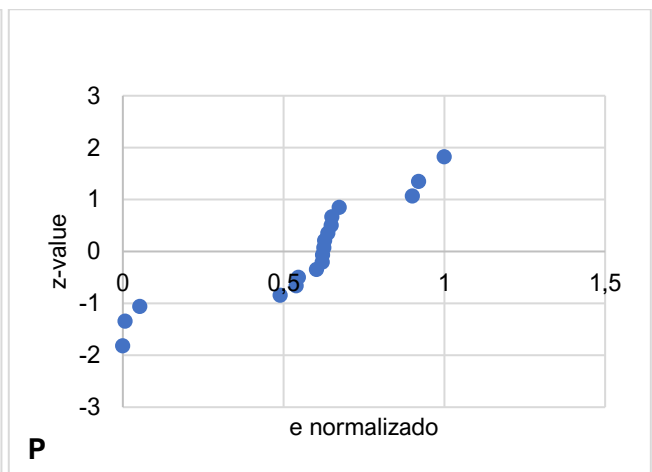
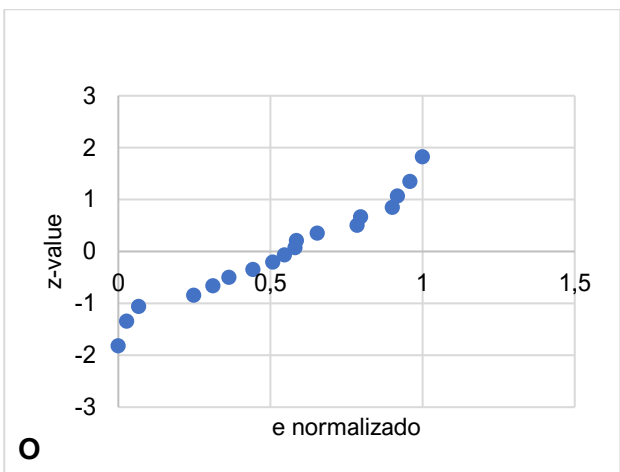
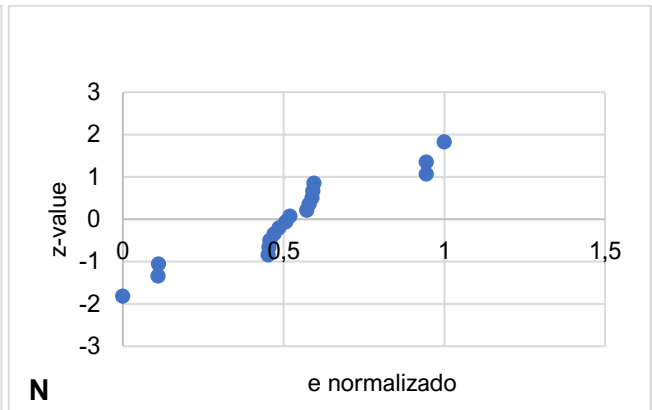
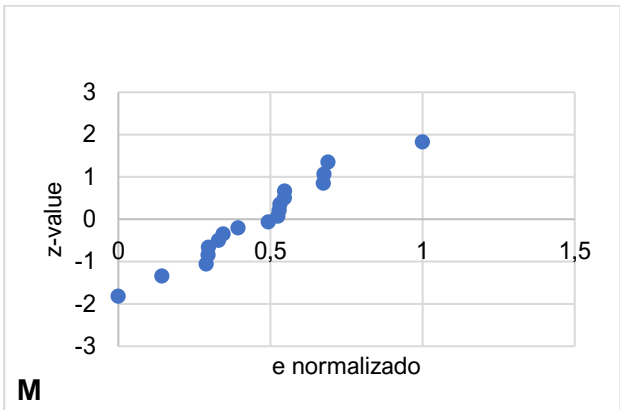
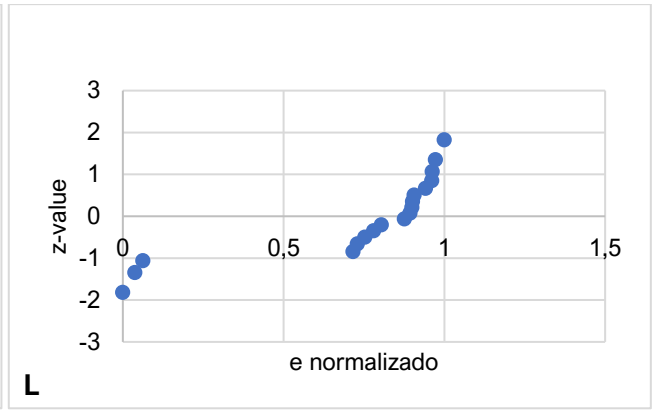
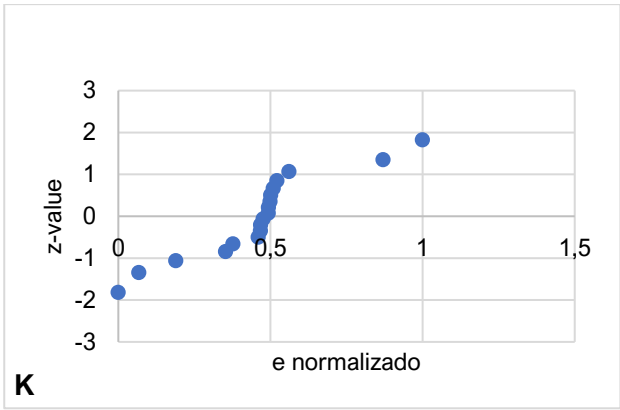
## Anexo A: Estudo da Normalidade dos Resíduos

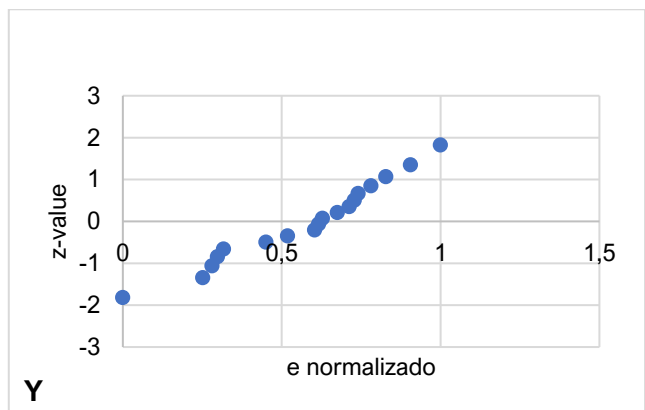
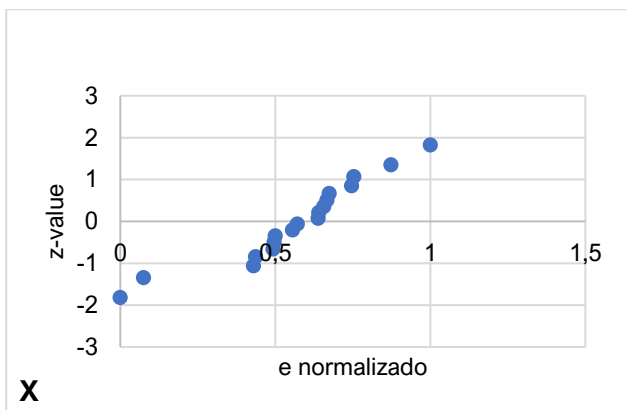
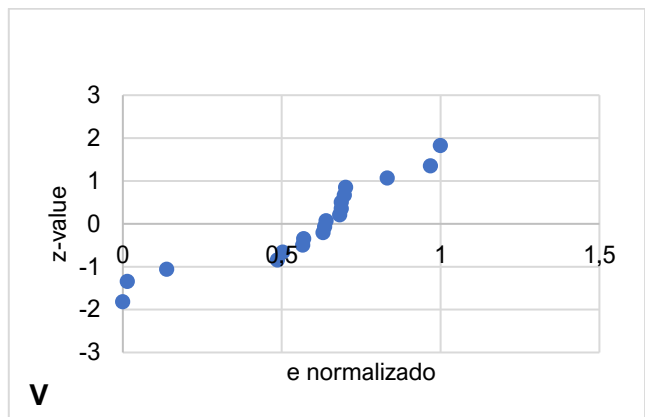
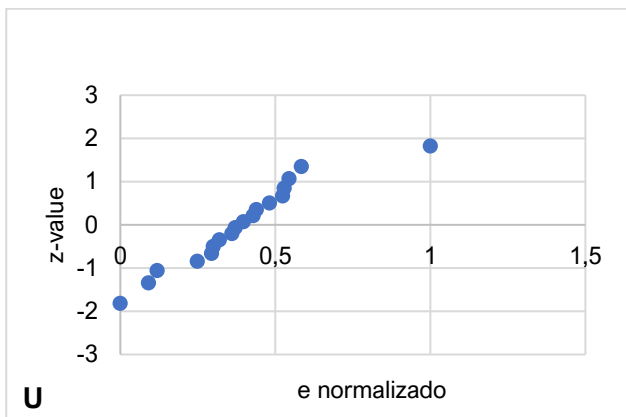
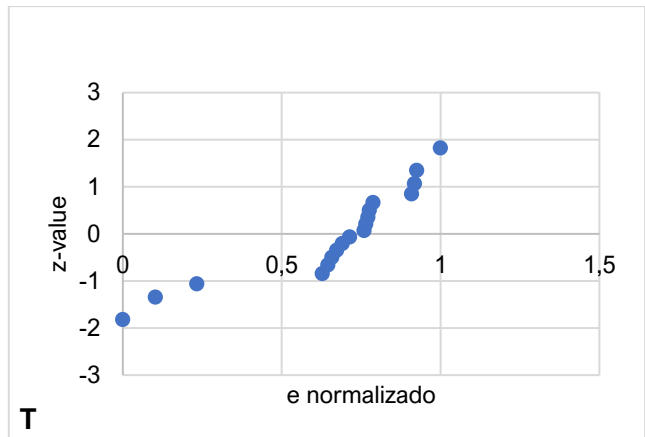
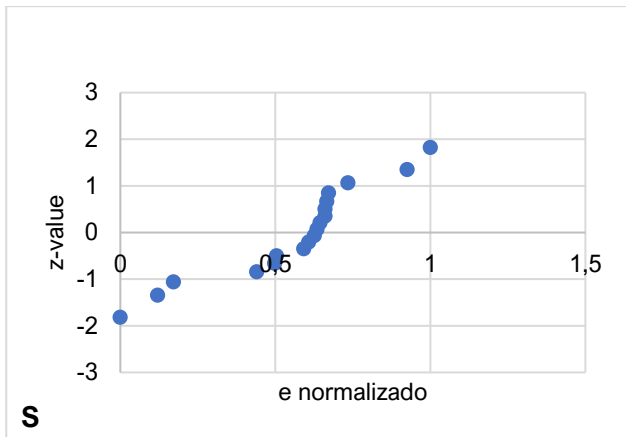
Na validação do método analítico ICP-AES realizou-se o estudo da linearidade do método. Uma das componentes de demonstração da linearidade do método é o estudo da normalidade dos resíduos da regressão linear. A regressão linear calculada para cada elemento, só pode ser utilizada se os resíduos dessa regressão apresentarem distribuição normal.

As Figuras de A a Y representam graficamente o resultado do estudo da normalidade onde podemos verificar que os resíduos das regressões lineares de todas as Impurezas Elementares são normalmente distribuídos.









Legenda:

<b>A-</b>	Ag	<b>I-</b>	Hg	<b>Q-</b>	Pt
<b>B-</b>	As	<b>J-</b>	Ir	<b>R-</b>	Rh
<b>C-</b>	Au	<b>K-</b>	Li	<b>S-</b>	Ru
<b>D-</b>	Ba	<b>L-</b>	Mo	<b>T-</b>	Sb
<b>E-</b>	Cd	<b>M-</b>	Ni	<b>U-</b>	Se
<b>F-</b>	Co	<b>N-</b>	Os	<b>V-</b>	Sn
<b>G-</b>	Cu	<b>O-</b>	Pb	<b>X-</b>	Tl
<b>H-</b>	Cr	<b>P-</b>	Pd	<b>Y-</b>	V