

Tiago Miguel Dinis Leitão

**Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo em
Ciências Farmacêuticas**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2012

Tiago Miguel Dinis Leitão

**Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo em
Ciências Farmacêuticas**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2012

**Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo em
Ciências Farmacêuticas**

**Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa
como parte integrante dos requisitos para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Tiago Miguel Dinis Leitão

Índice Geral

Abstract-----	6
Capítulo I - Introdução-----	8
1 - História-----	8
2 - Princípios básicos teóricos-----	10
3 - Factores que afectam o espectro NIR-----	16
4 - Vantagens da utilização de NIRS-----	17
5 - Desvantagens da utilização de NIRS-----	18
6 - NIRS com Transformada de Fourier (FT-NIRS)-----	19
7 - Tipos de leitura óptica/amostragem-----	22
8 - Quimiometria-----	23
9 - Métodos de Qualificação e Identificação-----	25
10 - Método de Quantificação-----	27
11 - Processos de medição em tempo real-----	28
12 - Tipos de Sondas (para medição <i>in-line</i> e <i>on-line</i>)-----	29
Capítulo II - Aplicações-----	30
1.Aplicações da técnica NIRS na Indústria Farmacêutica-----	30
2. Potenciais Aplicações de NIRS na Indústria Farmacêutica Primária-----	32
2.1 - Caso a aplicação tecnológica utilize sistemas biológicos.-----	32
2.1.1 - Fermentação-----	32
2.1.2 - Liofilização-----	34
2.2 - Caso a produção de princípios activos e excipientes tenha por base processos químicos industriais.-----	36
2.2.1 - Análise de matérias-primas (identificação e qualificação)-----	36
2.2.2 - Cristalização-----	37
2.2.3 - Aplicações do NIRS na recuperação de solventes-----	40
2.2.4 - Aplicações NIRS em processos de secagem-----	41

3–Potenciais Aplicações de NIRS na Indústria Farmacêutica Secundária -----	43
3.1 - Recepção / Identificação de Matérias-Primas -----	44
3.2 - Granulação por via húmida -----	46
3.3 - Granulação a seco-----	47
3.4 - Extrusão-----	48
3.5 - Secagem-----	49
3.6 - Mistura -----	51
3.7 - Compressão-----	53
3.8 - Revestimento -----	54
3.9– Produto final / Embalamento -----	55
Capitulo III - Conclusão -----	57
IV - Bibliografia -----	60

Índice de Figuras

Figura n.º 1 Espectrômetro rudimentar	9
Figura n.º 2 Evolução do NIRS ao longo dos anos.....	10
Figura n.º 3 Bandas e posições relativas de picos de absorção em infravermelhos próximos.....	12
Figura n.º 4 Vibrações de alongamento.	13
Figura n.º 5 Vibrações de deformação	14
Figura n.º 6 Aplicação da transformada de Fourier	21
Figura n.º 7 Resultados obtidos para validação de um lote de produção.....	33
Figura n.º 8 Comparação dos dados estimados de NIRS com os resultados obtidos por titulação de Karl-Fisher	35
Figura n.º 9 Influência dos excipientes sobre o teor de água previsto por NIRS comparando com titulação de Karl-Fisher	35
Figura n.º 10 Aparelho experimental	38
Figura n.º 11 Determinação por NIRS da variação da composição.....	39
Figura n.º 12 Comparativo dos valores obtidos por NIRS em tempo-real, com resultados obtidos por titulação do método de referência	41
Figura n.º 13 Diagrama do secador equipado com célula óptica de interface de gás.....	43
Figura n.º 14 Tempo despendido na identificação de materiais na empresa Abiogen ...	45

Prefácio

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) é uma técnica de análise bastante conhecida e utilizada em diversas indústrias, tais como a alimentar, química, petroquímica, agroquímica. É também usada na indústria farmacêutica desde há alguns anos (EMEA, 2003).

A Farmacopeia Americana - United States Pharmacopeia (USP) considera a NIRS um ramo da espectroscopia vibracional, partilhando aplicações e princípios com muitas medições espectroscópicas. As suas aplicações utilizam espectros medidos em comprimento de onda. A interação entre a radiação NIR e a matéria pode fornecer informação qualitativa e quantitativa avaliada a partir da composição química e física de amostras.

A técnica é rápida, simples, não destrutiva e analisa múltiplos componentes em praticamente qualquer matriz, com níveis de exactidão e precisão comparáveis aos métodos de referência primários. Não é necessária qualquer preparação ou manipulação da amostra, nem utilização de reagentes (Foss, 2002).

Na indústria farmacêutica, o método de análise NIRS vem sendo aplicado há mais de 20 anos, estando inicialmente focalizado na análise de matérias-primas, mais recentemente tem sido também aplicado na análise de formulações sólidas e líquidas para controlo de qualidade do produto final, bem como para monitorização de operações de produção. As amostras de material recebido são inspeccionadas por este método, e a identidade e qualidade do mesmo é confirmada, a partir de algoritmos de padrões conhecidos. O método fornece informação quase em tempo real para controlo de processos de produção, como sejam identificação de matérias-primas, sistemas de recuperação de solventes ou secagem da mistura, por intermédio de técnicas de regressão estatística (Reich, 2005).

Para que um processo de análise se possa implementar em processos industriais é necessário assegurar a sua robustez, pelo que um método NIRS deve ser desenvolvido tendo em conta requisitos considerados na produção e controlo, como características ópticas da amostra, sensibilidade e selectividade para o analito (Foss,2002).

Os principais objectivos deste trabalho monográfico consistem:

- Estudo da técnica em análise, espectroscopia de infravermelho próximo;
- As suas aplicações nas diversas fases do processo de produção;
- Caracterizar o potencial da tecnologia em estudo, na análise dos diversos processos de controlo e produção farmacêutica.

A elaboração deste trabalho de revisão bibliográfica foi efectuada através duma pesquisa sobre a temática, em publicações científicas, livros da especialidade e monografias. Os artigos consultados foram pesquisados, na sua maioria, em motores de busca disponibilizados pela Universidade Fernando Pessoa. As palavras-chave utilizadas na realização da pesquisa foram as seguintes: “Espectroscopia de Infravermelho Próximo”, “Indústria Farmacêutica”, “Aplicações NIRS”, “Tecnologias de Análise de Processos PAT”, “Monitorização de Processos”.

Abstract

Near infrared spectroscopy (NIRS) is an analyses technique very well known and used in many industries, like the chemical, petrochemical, biochemical and food industry. It is also being used in pharmaceutical industries in the recent years (EMEA, 2003).

The United States Pharmacopeia (USP) considers NIRS as a branch of vibrational spectroscopy, sharing applications and principles with many spectroscopic measurements. Its applications use spectra measured in wavelength. The interactions between NIR radiation and matter may provide qualitative and quantitative information evaluated from the chemical and physical composition of the samples.

This technique is fast, simple, non destructive and also analyzes multiple components in virtually any matrix, providing levels of precision and accuracy comparable with the primary reference methods. It's not necessary any preparation or manipulation of the sample, and the reagent application is also discarded (Foss, 2002).

In the pharmaceutical industry, NIRS method has been used for more than twenty years, initially focused in the analysis of raw materials, and more recently applied also to solid and liquid drug analysis, in the purpose of final quality control, and as well in the production line processes monitoring. Samples of incoming materials are inspected with this method, and the process of identity and quality of those products is assured, being compared with tables from confirmed acceptable samples. The process produces information almost in real time, using regression analysis, in the processes monitoring applications, as in raw material identification, solvent recovery systems or drying processes (Reich, 2005).

For the application of the processes in industrial environment it is necessary to assure its strength, for that the NIRS must be developed bearing in mind the requirements considered in the production and control, as in the optical features of the sample, sensibility and selectiveness of the analyte (Foss, 2002).

The main objectives of this monograph consist of:

- Study of the analysis technique, near infrared spectroscopy;
- Its applications in various stages of production;
- To characterize the potential of the technology under study, the analysis of the various control processes and pharmaceutical production.

The development of this literature review was conducted through a survey on the topic in scientific publications, specialty books and monographs. The selected papers were searched, mostly in search engines provided by the University. The keywords used in the research were as follows: "Near Infrared Spectroscopy", "Pharmaceutical Industry", "NIR Application", "Process Analytical Technology PAT", "Process Monitoring".

Capítulo I - Introdução

1 - História

Em 1353, João, *o Bom*, rei de França, legislou sobre a necessidade de controlar as preparações farmacêuticas, um primeiro passo com vista às exigências crescentes de controlo de qualidade até aos dias de hoje (Souza e Ferrão, 2006).

Em 1666, Sir Isaac Newton demonstrou que ao atravessar um prisma, a luz solar se pode decompor nas cores do arco-íris (vermelho, laranja, amarelo, verde, anil, azul e violeta) (Simões, 2008). Utilizando o mesmo princípio, no ano de 1800, Sir Frederick William Herschel, cientista inglês, realizou uma experiência com a ajuda de um termómetro, na qual procurou registar a quantidade de calor associada a cada cor que constitui a luz solar, observando um aumento significativo de temperatura, na região acima da luz vermelha. Este dado particular foi inesperado, na medida em que se verificou numa região invisível da radiação, que foi denominada infravermelho (Santos 2009; Pasquini 2003; Almeida, 2009).

Em 1905 quando Coblentz apresentou os resultados da experiência que realizou, na qual construiu um espectrómetro rudimentar a partir de sal de rocha, e com uma termopilha acoplada a um galvanómetro de espelho conseguiu assim produzir os primeiros espectros de compostos orgânicos, embora o rudimentar aparelho apenas obtivesse um espectro por dia. Durante o seu trabalho Coblentz compreendeu que cada composto possuía o seu espectro próprio, sendo este específico e único à sua constituição (Pasquini, 2003; Ciurczak, 2006).

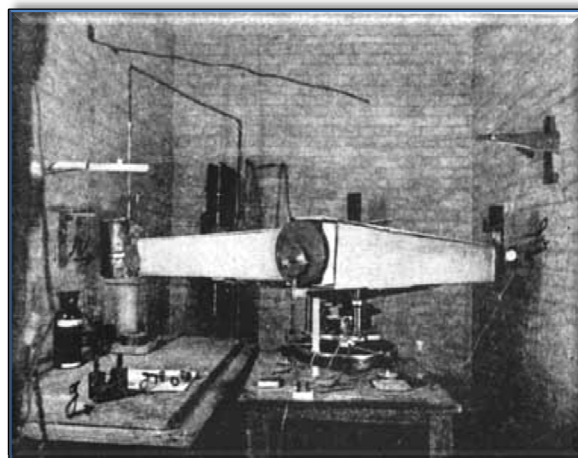


Figura n.º 1 - Espectrómetro rudimentar a partir de sal de rocha. Adaptado de Coblentz, 1905.

Durante a Segunda Guerra Mundial a técnica NIRS foi substancialmente desenvolvida, como técnica de análise (Simões, 2008). Utilizada, por exemplo, no controlo de concentração e grau de pureza do butadieno, utilizado na síntese de borrachas sintéticas, bem como, na produção de espectros de óleos vegetais e de combustíveis. Estes avanços impulsionaram a tecnologia para o desenvolvimento de espectrómetros comercialmente disponíveis (Ciurczak, 2006).

De acordo com Jamrógiewicz (2012), até aos anos 60, NIRS não era uma técnica muito conhecida. A partir dos anos 70, a tecnologia NIRS começou a ser estudada e aprofundada, graças principalmente ao trabalho desenvolvido por Karl Norris no Departamento Americano de Agricultura (USDA), cujo sucesso motivou o interesse de várias indústrias, nomeadamente combustíveis e polímeros, sendo finalmente alargada às farmacêuticas e bioquímicas devido à necessidade de rigorosa regulação destas indústrias (Ciurczak, 2006).

Nos últimos anos NIRS evoluiu ao ponto de se tornar numa técnica indispensável para a investigação científica, bem como para uma extensa lista de aplicações no controlo de qualidade em meio industrial (Jamrógiewicz, 2012).

Na última década foi realizado um grande número de trabalhos de pesquisa neste campo, especialmente na aplicação industrial, levando assim à sua introdução na generalidade dos processos (Bleye 2012).

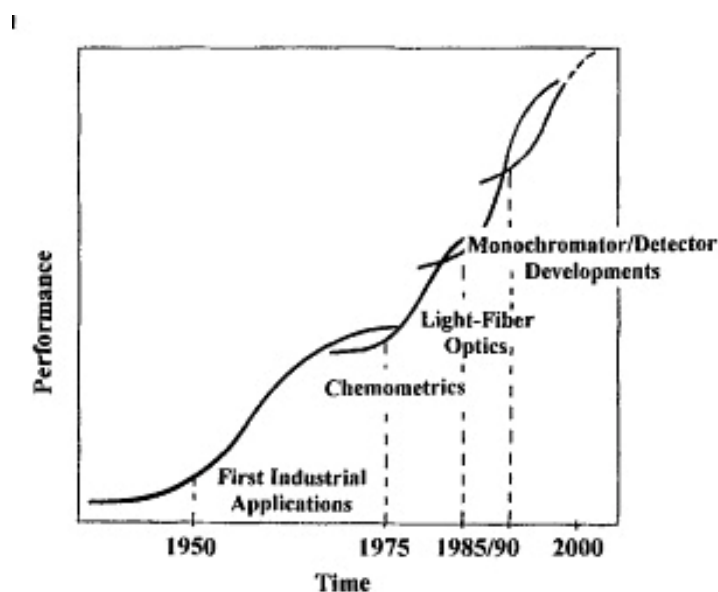


Figura n.º 2 - Evolução do NIRS ao longo dos anos. Adaptado de Siesler *et al.*, 2002.

2 - Princípios básicos teóricos

A região do infravermelho encontra-se entre as gamas do visível e as microondas no espectro electromagnético, dividindo-se em próximos ($4000 - 12500\text{cm}^{-1}$), médios ($400 - 4000\text{cm}^{-1}$) e longínquos ($10 - 400\text{cm}^{-1}$) (Reich, 2005). Verifica-se então, de acordo com a The American Society of Testing and Materials (ASTM), que a absorção da radiação infravermelhos próximos compreende o intervalo entre ($780 - 2526\text{nm}$) (Reich 2005; Siesler *et al.*, 2002).

Os grupos funcionais cuja absorção mais se salienta são respectivamente $-\text{CH}$, $-\text{NH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{SH}$. Estes podem facilitar a determinação de humidade, gorduras, proteínas e hidratos de carbono (Reich 2005; Santos 2009; Almeida, 2009).

A espectroscopia consiste num método analítico, no qual se podem estudar as interacções de radiações electromagnéticas com as moléculas (Alcácer, 2007). À interacção entre dois átomos nas moléculas correspondem diferentes tipos de energias, como a electrónica, rotacional, translacional e vibracional (Coates, 2000).

$$. E_{total} = E_{electronic} + E_{vibrational} + E_{rotational} + E_{translational}$$

Para um composto apresentar um espectro de absorção activo na região do infravermelho, é necessário que a frequência da radiação seja igual à frequência de vibração da molécula, ou seja, igual à diferença entre estados excitado e fundamental, ou que a frequência de vibração produza alteração do momento dipolar. Moléculas como H₂, O₂ ou Cl₂ cujas vibrações causadas pela radiação não alteram o seu momento dipolar, não são activas no infravermelho, pelo contrário, CO₂ e SO₂ são-no (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

No caso da espectroscopia de infravermelhos são os movimentos relativos dos átomos de uma molécula, ou seja, as suas vibrações, o componente analisado, havendo alteração do seu momento dipolar quando ocorre absorção de uma radiação incidente por parte de uma molécula (Alcácer 2007; Siesler *et al.*, 2002).

As moléculas necessitam de ser diatómicas heteronucleadas ou poliatómicas para poderem ser excitadas vibracionalmente e para que se verifique alteração do seu momento dipolar (Almeida, 2009).

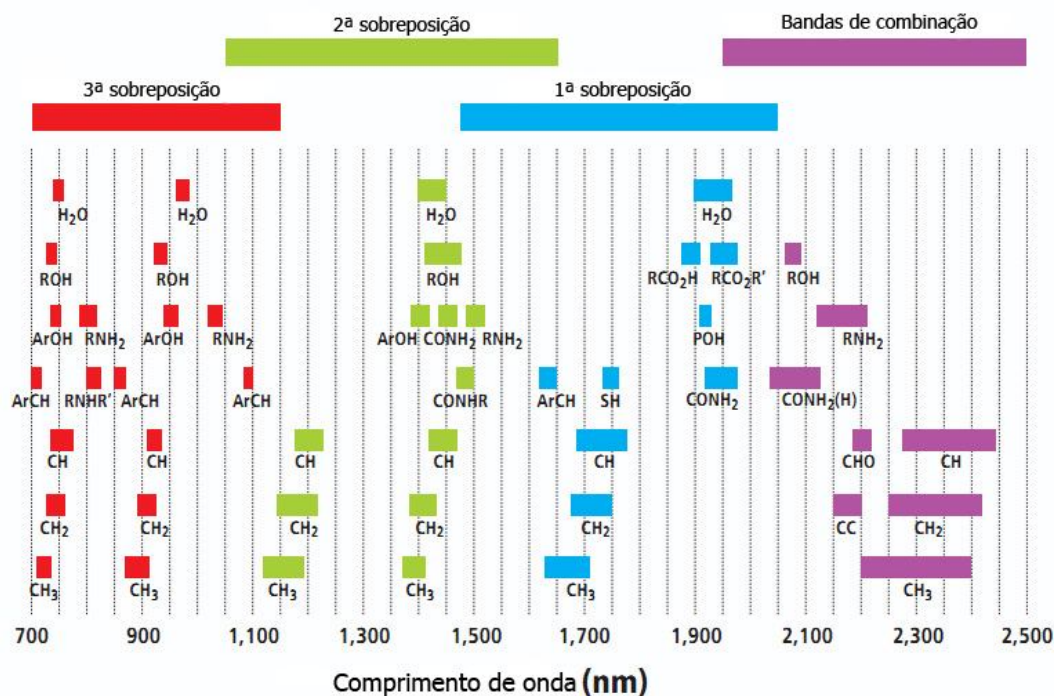


Figura n.º 3 - Bandas e posições relativas de picos de absorção em infravermelhos próximos.

Adaptada de Foss, 2002.

Para ocorrer absorção por parte de uma molécula, é necessário que a radiação incidente na mesma provoque excitação vibracional, de modo que a energia corresponda à diferença de dois estados energéticos vibracionais (Naes *et al.*, 2002). Ao absorver radiação de infravermelhos (IV) vai verificar-se uma transição entre os níveis de energia vibracionais, que mediante a frequência e quantidade da mesma, pode indicar qual o tipo e número de ligações entre átomos e grupos funcionais (Santos, 2009).

A espectroscopia de infravermelho próximo NIRS origina espectros complexos que apresentam sobreposições e bandas de combinações, pelo que não é possível uma interpretação directa dos mesmos, a fim de ser possível determinar uma propriedade da amostra. São necessárias as intensidades medidas em vários comprimentos de onda para construir uma calibração, na medida em que um composto se revela

em diferentes partes do mesmo espectro (Costa, Alves e Menezes, 2001). Para tal, é preciso recorrer a métodos matemáticos e estatísticos, realizando uma calibração multivariada, a partir de vários comprimentos de onda (Almeida, 2009).

As vibrações resultantes do processo NIRS classificam-se em duas categorias, sendo estas as de alongamento (*stretching*), caso se movam sobre o eixo de ligação, podendo ser simétricas ou assimétricas (figura n.º4) e as de deformação angular (*bending*), cujo ângulo de ligação entre os átomos é modificado, podendo apresentar-se como tesoura, baloiço, meneio e torção dependendo do movimento efectuado (figura n.º5) (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008; Araujo, 2007).

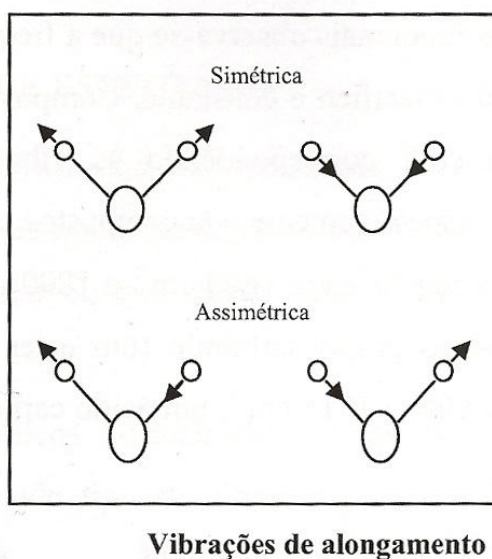


Figura n.º 4 -Vibrações de alongamento. Adaptado de Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008.

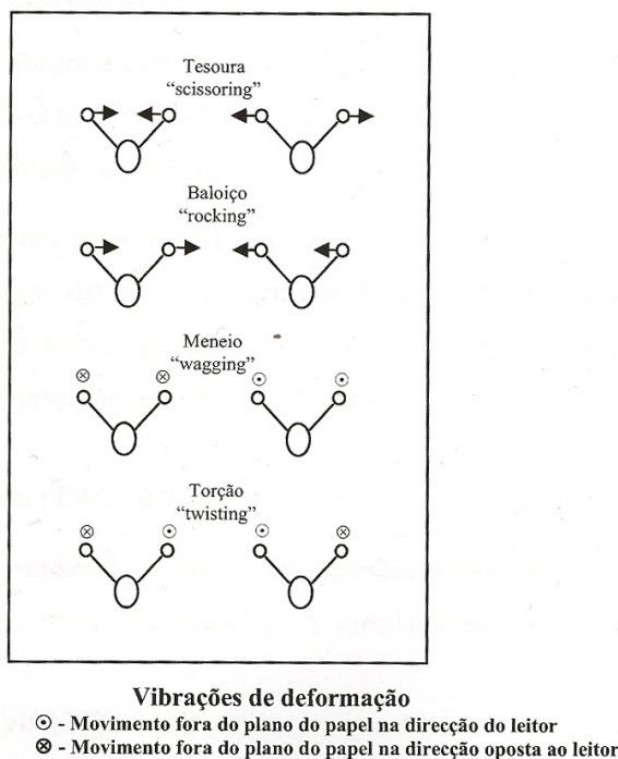


Figura n.º 5 - Vibrações de deformação. Adaptado de Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008.

Podem ainda existir acoplamentos e interacções envolvendo vibrações de alongamento e deformação, na medida em que, caso a intensidade seja reduzida quando comparada com a dos grupos principais, se verificarem a formação de sobretons (*overtones*) e bandas de combinação (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

Os sobretons (*overtones*) possuem valores de frequência que correspondem a múltiplos inteiros dos valores das vibrações fundamentais, que ocorrem na região do infravermelho médio. Tomando como exemplo, um valor ν , de frequência de um dado modo fundamental de vibração, os overtones darão origem a valores aproximados de 2ν , 3ν , e assim sucessivamente (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

Reportando Araujo (2007) podemos afirmar que bandas de combinação são combinações lineares das frequências fundamentais ou múltiplos inteiros destas. Por

exemplo, sejam ν_a e ν_b valores de frequência de modos normais de vibração, podem ocorrer as bandas de combinação ($\nu_a + \nu_b$), ($\nu_a - \nu_b$), ($\nu_a + 2\nu_b$).

Como a frequência é inversamente proporcional ao comprimento de onda λ e diretamente proporcional à energia, verifica-se que as bandas NIR ocorrem em frequências duas ou três vezes superiores à frequência da absorção fundamental correspondente, o que equivale a maior energia e como tal menor viabilidade de ocorrência destas transições. Fruto da menor viabilidade destas transições, verificam-se bandas de absorção de menor intensidade em NIR (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

O modelo do oscilador harmónico linear, entre outros modelos aceites, pode explicar o comportamento vibracional das moléculas, conforme a lei de Hooke e representada pela equação 1.1 (Almeida 2009; Siesler 2002; Bueno 2004).

Eq.n.º1

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{\mu}}$$

onde f representa a constante de força da ligação e μ a massa reduzida.

Eq. n.º2

$$\mu = \frac{mM}{m + M}$$

M e m representam a massa dos átomos envolvidos.

Eq. n.º3

$$E = \frac{1}{2}k(r - r_e)^2 = \frac{1}{2}kx^2$$

Pela equação 1.3 podemos calcular a energia (E) potencial do sistema para o modelo oscilador harmónico linear e para o modelo anarmónico. k representa a constan-

te de força, r a distância internuclear, r_e a distância internuclear de equilíbrio e x o deslocamento dos átomos. No modelo oscilador harmónico linear a distância entre cada nível mantém-se, enquanto no anarmónico esta vai diminuindo, sendo mais realista, pois a ligação pode partir (dissociar-se) caso se estenda por demasia (Almeida, 2009).

O modelo do oscilador anarmónico por seu turno descreve-se pela lei de Morse (eq. 1.4), no qual, caso aumente o número quântico vibracional se podem verificar sobreposições e transições com duas vibrações diferentes (combinações), permitindo transições superiores a um nível (Almeida 2009; Bueno 2004).

Eq. n.º4

$$V = D_e [1 - e^{-a(r-r_e)}]^2$$

3 - Factores que afectam o espectro NIR

De acordo com a literatura, nomeadamente a United States Pharmacopeia (USP) (ref) certos factores podem afectar os espectros, nomeadamente:

- **Temperatura da amostra**, para amostras líquidas ou soluções aquosas, bem como sólidos que contenham solventes como a água, as variações de temperatura podem resultar em mudanças significativas nos respectivos espectros;
- **Solventes e Humidade**, na medida em que as ligações de hidrogénio que se limitam ao princípio activo ou aos excipientes, podem alterar o espectro;
- **Espessura da amostra** é um factor que deve ser controlado, quer no modo de transmitância usando um comprimento óptico fixo, bem como no modo de reflectância, onde se deve controlar a profundidade de penetração da luz, para que não altere o espectro se a espessura da amostra aumentar;

- **Propriedades Ópticas da Amostra**, no caso de sólidos, a superfície e espalhamento de massa da amostra devem ser tidas em conta aquando da calibração, pois a morfologia da superfície e o índice de refração afectam as propriedades de dispersão de materiais sólidos. Nos pós, o tamanho das partículas e a sua densidade influenciam a dispersão e consequentemente o espectro obtido;
- **Polimorfismo**, as variações da estrutura cristalina de amostras com a mesma composição química influenciam o espectro obtido. Diferentes polimorfos ou formas sólidas amorfas podem ser distinguidos pelos espectros obtidos, bem como diferentes estados de hidratação cristalina ou estados de solvatação do mesmo material podem resultar em espectros próprios;
- **Idade da amostra**, pode manifestar alterações físicas, químicas e ópticas, pelo que se deve dar atenção às amostras e padrões utilizados, pois estes podem não ser adequados a uma correcta análise espectral.

4 - Vantagens da utilização de NIRS

Embora complexa, a espectroscopia de infravermelho próximo apresenta as seguintes vantagens (Siesler, 2002):

- Os espectros NIRS podem ser recolhidos sem preparação da amostra;
- O método não é destrutivo nem invasivo quer para sólidos quer para líquidos;
- Rápido na obtenção de espectros, cálculos e apresentação de resultados;
- Não necessita usar reagentes, nem produz resíduos, ou seja, não poluente;
- Utilização ao longo de todo o processo produtivo, desde a recepção de matérias-primas até ao produto final;

-
- Permite análises remotas, importantes em casos de materiais tóxicos ou perigosos;
 - Um mesmo analisador pode monitorizar produtos de diferentes linhas do processo, diminuindo os custos de controlo de qualidade;
 - A robustez dos analisadores permite análises em ambientes hostis;
 - A informação contida no espectro NIRS pode detectar alterações ou impurezas no produto, não detectáveis por métodos analíticos convencionais;
 - Manutenção reduzida, apenas a lâmpada necessita de ser substituída periodicamente.

5 - Desvantagens da utilização de NIRS

De acordo com Blanco e Villarroya (2002) as principais desvantagens da espectroscopia de infravermelho próximo são as seguintes:

- Os espectros obtidos por NIRS são pouco selectivos, pelo que têm de ser usadas técnicas quimiométricas adequadas aos dados do modelo de onde se deseja extrair as informações;
- Não existem modelos precisos que relacionem a interacção entre a luz infravermelha e a matéria, pelo que a calibração é muitas vezes empírica;
- A construção de modelos de calibração robustos e precisos é por vezes difícil, implicando a utilização de um número razoavelmente grande de amostras para que se possam abranger todas as variações das propriedades químicas e/ou físicas;
- A necessidade de incorporar as variabilidades químicas e físicas das amostras implica a utilização de modelos de calibração complexos, consoante os

tipos de amostra existente e mais que um modelo por cada propriedade em análise;

- Como a espectroscopia NIRS é um método algo relativo, a construção de modelos que a usem requer o conhecimento prévio da propriedade em análise, que deve ser determinada por um método de referência;
- A construção de modelos NIRS implica um investimento substancial, embora este possa ser amortizado a partir do equipamento principal para os secundários;

6 - NIRS com Transformada de Fourier (FT-NIRS)

Quando queremos obter um espectro NIRS é imprescindível a utilização de um espectrofotómetro, equipamento que é constituído por uma fonte de infravermelhos, um conjunto de lentes, um local para colocar as amostras e um detector. Na origem da luz podemos ter lâmpadas de halogéneo, quartzo ou LED. Na detecção os exemplares de silício lidam com as ondas de baixo comprimento, enquanto os detectores de sulfureto de chumbo (PbS) e índio-gálio-arsénio (InGaAs) são vocacionados para os comprimentos de onda maiores (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

Os equipamentos baseados na Transformada de Fourier começaram a aparecer na década de 70 do século XX (Borin, 2003). O espectrofotómetro com Transformada de Fourier têm como resultado do processo de análise um interferograma, o qual contém informação sobre todas as frequências do espectro IV. A operação matemática da transformada de Fourier é depois aplicada, quer por acção de um microprocessador acoplado ao espectrofotómetro, quer por um computador associado externamente ao aparelho, distribuindo assim a energia absorvida pela amostra por cada comprimento de onda, apresentado assim os valores de cada frequência, resultando numa compreensão e leitura dos resultados simplificada (Almeida, 2009).

Quando a radiação deixa a fonte é imediatamente encaminhada para um interferómetro de Michelson, onde se dá a codificação espectral, sendo esta peça composta por um repartidor de feixe (*beam splitter*) e dois espelhos, um deles móvel e outro fixo. Neste acessório divide-se e combina-se a radiação, para assim produzir uma interferência dependente do comprimento de onda (Simões, 2008). A radiação que sai do interferómetro é direccionada para o detector, passando antes pela amostra. O detector responde electricamente às radiações que recebe depois de estas passarem pela amostra, gerando assim o interferograma, contendo as informações relativas às frequências e características do espectro (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

Os detectores mais usados neste tipo de aparelhos são os de sulfato de triglicerina deuterado (DTGS) e o detector de tulereto de mercúrio e cádmio (MCT) (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

O tratamento matemático da transformada de Fourier é aplicado ao interferograma, sendo este convertido numa curva de energia, que facilita a leitura dos resultados (Araujo, 2007). Na figura número 6 podemos visualizar um interferograma, e posteriormente a curva de energia que resulta depois de aplicada a transformada de Fourier (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

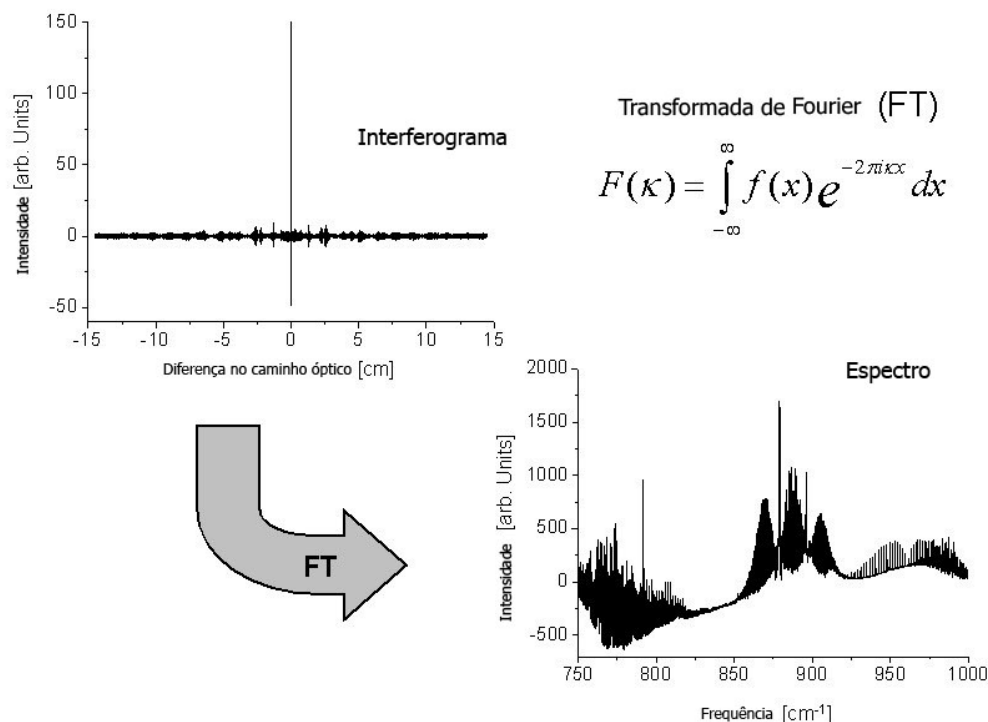


Figura n.º 6 - Aplicação da transformada de Fourier. Adaptado de Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008.

Para a análise de Fourier, decompõe-se a intensidade de energia luminosa do interferograma (y) na soma de funções senos e co-senos da frequência da radiação luminosa (x) e do termo de velocidade de movimentação dos espelhos (n) (Araujo, 2007).

Eq. nº7

$$y = a_0 \text{sen}(0\omega x) + b_0 \text{cos}(0\omega x) + a_1 \text{sen}(1\omega x) + b_1 \text{cos}(1\omega x) + \dots$$

$$y = \sum_{n=0}^{\infty} [a_n \text{sen}(n\omega x) + b_n \text{cos}(n\omega x)]$$

Onde: $\omega = \frac{2\pi}{x_2 - x_1} e x_1 - x_2$ é o intervalo do eixo das abscissas

O facto de todas as frequências serem analisadas simultaneamente reduz o tempo de análise além de diminuir a razão sinal/ruído. Adicionalmente, a integração com computadores e a maior resolução em toda a gama espectral são das principais vantagens da utilização da transformada de Fourier (Borin, 2003). Na indústria farmacêutica, um benefício que aumenta a produtividade é o facto de este tipo de aparelhos conseguirem registar espectros de amostras em movimento, possibilitando assim a sua integração *on-line* e *in-line* (Almeida, 2009; Araujo, 2007).

Importante ainda na definição do equipamento a utilizar é a aplicação que o mesmo venha a ter, visto que alguns espectrofotómetros estão adaptados a ambientes tipicamente hostis, tais como a introdução em linhas de montagem, locais onde as variações de temperatura podem ocorrer, em conjunto com vibrações e outro tipo de interferências externas. No outro extremo estão equipamentos tradicionais, mais vocacionados para a utilização laboratorial, sendo necessárias temperaturas controladas e ausência completa de vibrações (Silva, Rodrigues e Eusébio, 2008).

7 - Tipos de leitura óptica/amostragem

Os espectrofotómetros NIRS têm diferentes opções de leitura, quer seja por transmitância, absorvância e transfectância (Santos, 2009).

No modo de transmitância, o princípio de funcionamento baseia-se na absorção da radiação que é aplicada na amostra, e a posterior diminuição do sinal que eventualmente chega ao detector numa determinada frequência. Analisando a diferença entre a energia emitida e aquela que chega ao sensor podemos assim conseguir uma informação precisa sobre as frequências que a amostra mais absorveu. A transmitância pode ser definida pela equação n.º5, onde A representa a transmitância, I a intensidade transmitida após absorção e L_0 a intensidade da luz incidente (Almeida, 2009).

Eq. n.º5

$$T = \frac{I}{L_0} = 10^{-A}$$

Na reflectância difusa, mais conhecida por DRIFTS (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectrometry), quando a radiação incide sobre a amostra parte é absorvida pelas ligações vibracionais, sendo a restante reflectida. Analisando a parte rejeitada é possível o cálculo da parte que foi absorvida, logo o espectro IV correspondente (Araujo, 2007).

A reflectância R é traduzida pelo quociente entre a intensidade da luz reflectida I_r e a intensidade da luz incidente I_0 equação n.º6 (Naes *et al.*, 2002).

Eq. n.º6

$$R = \frac{I^R}{I_0}$$

Os espectros NIRS obtidos a partir dos diferentes tipos de leitura apresentam resultados medidos em absorvância A . Os valores de absorvância referentes à transmitância são definidos por $A = \log\left(\frac{1}{T}\right)$, enquanto aqueles alusivos à reflectância por $A = \log\left(\frac{1}{R}\right)$ (Naes *et al.*, 2002).

8 - Quimiometria

É considerada uma disciplina da Química, e engloba metodologias de análise estatística, matemática e computacional com o intuito de seleccionar e otimizar procedimentos (Simões 2008; Borin 2003). De modo a que se possa desenvolver e interpretar o espectro NIRS é fundamental reunir amostras representativas, que reproduzam os parâmetros físico-químicos da amostra que se pretende analisar. Tomando como partida o objectivo da análise a efectuar, é necessária uma criterio-

sa escolha das amostras, pré-processamentos e algoritmos para que se possa desenvolver e validar o método (Catita, 2005).

Os métodos NIRS podem progredir conforme seja o objectivo de identificar, qualificar ou quantificar propriedades das amostras (Siesler, 2002).

De acordo com o sistema de dados a ser estudado, para obtermos uma calibração multivariada, temos de ter em conta as especificidades e características do mesmo, para que a escolha recaia no método que melhor se ajuste (Simões, 2008).

De acordo com Simões (2008) e Cruz e Blanco (2011) os métodos de calibração multivariada mais utilizados são os seguintes:

- MLR - Regressão Linear Múltipla
- PCA - Análise de Componentes Principais
- PLSR – Regressão de Mínimos Quadrados Parciais

MLR - Regressão Linear Múltipla

Considera-se como uma técnica convencional de calibração inversa, cuja selecção de dados é pouco rigorosa, com um pequeno número de variáveis e que, por vezes, origina erros ou resultados pouco precisos (Araujo, 2007).

PCA - Análise de Componentes Principais

É um método habitualmente utilizado na identificação de grupos distintos, bem como na escolha de amostras para modelos de calibração, baseando-se na redução dos dados experimentais, na medida em que determina os componentes principais da amostra utilizando um menor número de variáveis (Simões, 2008).

Os compostos principais são obtidos por ordem decrescente da quantidade de informação estatística que possuem, associando por ordem decrescente a quantida-

de de informação estatística. Como tal, o componente principal considera-se aquele que possua um valor próprio maior (Almeida, 2009).

Este modelo depois de aplicado consegue correlacionar as variáveis novas com as originais, obtendo combinações lineares (Naes *et al.*, 2002).

Com o aumento do número de componentes principais, diminui também o número de resíduos associados, na medida em que a quantidade de componentes principais vai aumentar a informação guardada/explicada (Otto, 1999).

PLSR – Regressão de Mínimos Quadrados Parciais

É um processo de calibração inversa no qual é possível correlacionar o componente pretendido com uma variável independente, de modo a obter uma relação linear (Catita, 2005). O método é usado principalmente em determinações quantitativas, necessitando de uma análise de elevado número de amostras para estabelecer uma relação entre a informação retirada do espectro e as concentrações obtidas experimentalmente. Difere do PCA pelo facto de este último não contabilizar concentrações da matriz (Almeida, 2009).

9 - Métodos de Qualificação e Identificação

Neste tipo de abordagem à análise dos espectros de infravermelho, o objectivo é avaliar se a amostra em estudo está conforme os requisitos pré-estabelecidos, isto é, se a sua qualidade está dentro dos parâmetros necessários à correcta produção de um certo produto (Reich, 2005). Para isso é necessário introduzir no analisador amostras de qualidade reconhecida, de maneira a que os espectros desta possam ser comparados a outros provenientes de produções futuras. Se o espectro for igual, ou as suas características se encontrarem dentro dos valores permitidos, a amostra tem assim a sua qualidade reconhecida (Foss, 2002).

Nesta análise é ainda possível verificar, no caso de a amostra não se encontrar conforme as especificações, qual o componente que não se apresenta correcto no produto, permitindo assim uma maior celeridade na identificação e correcção do problema (Foss, 2002).

É essencial a produção de uma biblioteca espectral, necessária à comparação da amostra em causa com aquelas de qualidade anteriormente reconhecida. Para isso é fundamental recolher espectros de vários lotes, para serem contidas na biblioteca todas as fontes de variabilidade associadas, de modo a que pequenas alterações no processo de fabrico e que não modifiquem significativamente a qualidade do produto final possam ser reconhecidas (Cruz e Blanco, 2011).

Geralmente, uma biblioteca aceitável pode ser criada retirando dois espectros de um produto, a partir de dois produtos de cada lote, num mínimo de três lotes diferentes. Isto implica que cada produto está representado na biblioteca num mínimo de 12 espectros diferentes (Foss, 2002). Se os parâmetros de produção envolvem um nível de reprodutibilidade baixo, então os números da biblioteca poderão facilmente aumentar (Cruz e Blanco, 2011).

Na identificação de substâncias são utilizados métodos que correlacionem espectros NIRS de substâncias desconhecidas com as referências guardadas na biblioteca, num determinado comprimento de onda. É calculado um valor de correlação e quanto mais o resultado obtido se aproxime de 1, mais parecida é a substância com a referência. Numa abordagem mais rigorosa a comparação dos espectros e da variação permitida para cada substância do produto são analisados (Foss, 2002).

É importante a constante validação dos resultados, essencialmente através de controlos positivos e negativos. No caso do controlo positivo, as amostras da linha de produção são comparadas com os espectros das matérias-primas, garantindo assim que as mesmas se encontram correctamente identificadas no produto final (Cruz e Blanco, 2011). Para o controlo negativo, amostras com qualidade fora dos valores

permitidos são introduzidas, sendo assim possível aferir se as mesmas são assinadas negativamente pelo processo de avaliação (Foss, 2002).

De forma a poder ser libertado um lote de medicamentos para consumo geral, a certeza da sua qualidade e eficácia são essenciais. Esta certeza apenas é possível quando existe confiança nos resultados que o método de calibração providencia (Bleye *et al.*, 2012).

10 - Método de Quantificação

Reportando Cruz e Blanco (2011), verificam-se nos espectros obtidos por NIRS amplas sobreposições das suas bandas, que não se podem atribuir a um só componente da amostra. Como tal, sempre que utilizamos técnicas NIRS para determinações quantitativas, independentemente da propriedade em análise, física ou química a ser determinada, deve fazer-se uma calibração usando um procedimento multivariado.

A calibração multivariada é uma área da quimiometria que se aplica na determinação quantitativa de uma propriedade da amostra pelos seguintes passos:

- Selecção de amostras representativas;
- Obtenção dos sinais de análise e respectivos valores de referência;
- Tratamento matemático dos sinais obtidos;
- Selecção do modelo que relaciona as propriedades a serem determinadas com os seus respectivos sinais;
- Validação do modelo.

Após conclusão destes passos podemos aplicar a espectroscopia de infravermelho em determinações quantitativas, tais como:

-
- Determinação do princípio activo. É especialmente importante na indústria farmacêutica a rapidez da determinação da concentração da substância activa, para um controlo de qualidade eficiente (Farrell, Higgins e Kalivas, 2011);
 - Ensaios de dureza e friabilidade;
 - Teor de Humidade. Elevada simplicidade e economia de tempo e reagentes, quando comparada com métodos de referência;
 - Ensaios de granulometria;
 - Avaliação de perfis de dissolução;
 - Avaliação da pureza de solventes;
 - Monitorização dos processos de secagem de pós. Neste, o teor de humidade vai-se medindo em tempo real, evitando a recolha de amostras e subsequente análise em laboratório (Catita, 2005).

11 - Processos de medição em tempo real

Na produção farmacêutica é sempre necessário um controlo apertado dos processos de fabrico, pelo que as tecnologias de análise de processo (PAT) contribuem para medições em tempo real, distinguindo-se pelo modo como vão interagir na medição efectuada (FDA, 2004):

- *At-line*: A amostra é removida, isolada da linha de produção, e analisada na proximidade da mesma.
- *On-line*: As análises são realizadas desviando a amostra do processo de produção, podendo mais tarde ser devolvidas ao mesmo.

- *In-line*: As medições são realizadas com o produto na linha de produção, sem paragem na mesma e sem retirar a amostra, podendo ser evasivas ou não.
- Os processos PAT, em tecnologia farmacêutica, carecem do NIRS para implementação *in-line* e *on-line* nas mais diversas fases do processo de fabrico (Jamrógiewicz 2012).

12 - Tipos de Sondas (para medição *in-line* e *on-line*)

Recentemente assistiu-se ao aparecimento das sondas de fibra óptica para análise remota, que, ligadas aos aparelhos de espectroscopia NIRS, permitem a recolha de espectros dentro da linha de produção, ou dentro dos contentores de matérias-primas que chegam às unidades de produção das indústrias farmacêuticas. As técnicas de fabrico das fibras ópticas utilizadas nas sondas têm permitido um aumento da flexibilidade, e da robustez das mesmas, conduzindo a uma aplicação generalizada destes sistemas (McCarthy e Lowry, 2008).

A recolha de espectros através de sondas pode ser efectuada de diferentes formas, reflectância, absorvância, e até o híbrido das duas, a tranflectância. Para a alteração da forma de recolha apenas é preciso alterar a ponta da sonda, sendo as fibras ópticas que conduzem a luz do e para o espectrofotómetro as mesmas para todos os casos. Assim estão acessíveis as recolhas de espectros em líquidos, suspensões, pastas e sólidos, sendo igual neste aspecto à utilização habitual do espectrofotómetro, variando apenas na facilidade de recolha da informação no seu local, não sendo necessário deslocar o produto para o aparelho (FOSS NIR Systems, 2011).

O comprimento das fibras ópticas pode ir desde 1 até 100 metros, permitindo a colocação de sondas remotamente e posicionando o espectrofotómetro em ambientes menos hostis, permitindo análises *on-line* e *in-line* (FOSS NIRSystems, 2002).

Mais recentemente surgiu uma gama de aparelhos completamente portáteis, que integram todos os constituintes de um espectrofotómetro NIRS, permitindo uma simplicidade de utilização e uma rápida identificação de materiais (Thermo Fisher Scientific, 2010).

Capítulo II - Aplicações

1. Aplicações da técnica NIRS na Indústria Farmacêutica

Tendo em conta os apertados requisitos da indústria farmacêutica, dado a utilização final dos seus produtos e o impacto que estes podem representar na vida dos consumidores, torna-se necessário um grande número de análises durante as diferentes fases do processo de fabrico (Blanco e Villarroya, 2002).

A utilização da espectroscopia NIRS tem sido adoptada progressivamente por esta indústria, nas suas diferentes etapas, desde a síntese de substâncias activas e excipientes, controlo de materiais e matérias-primas, verificação de processos de fabrico e análise do medicamento final. Esta técnica tem vindo gradualmente a substituir outros processos analíticos, adicionando novos atributos a todo o processo de controlo e garantia de qualidade (Catita, 2005).

A FDA (Food and Drug Administration) desenvolveu um guia para a indústria farmacêutica, em que descreve um quadro regulamentar das tecnologias de análise de processo (PAT), o qual encoraja o desenvolvimento e implementação de tecnologias farmacêuticas inovadoras, na produção e garantia de qualidade, antecipando procedimentos técnicos e regulamentares (FDA, 2004). A base das tecnologias PAT é o emprego de uma plataforma de validação, garantia e controlo de qualidade contínuos durante todo o processo de fabrico (Catita, 2005). A Farmacopeia Europeia reviu em 2011 o capítulo que tinha sobre o NIRS, também com o intuito de introduzir o conceito PAT nas suas directrizes (Bleye *et al.*, 2012).

As tecnologias PAT são formadas principalmente por duas componentes, em primeiro, um conjunto de ferramentas e princípios que apoiam a inovação e, em segundo, uma estratégia para regulamentar e adaptar a implementação de inovações. A agência FDA possui um conjunto de equipas que podem ajudar nas boas práticas de produção, inspeccionando e certificando novos processos (Bueno, 2004).

Actualmente, as soluções disponíveis comercialmente permitem que as matérias-primas possam ser analisadas quando recebidas em armazém, sem a necessidade de transferir todas as amostras para laboratório. O método NIRS possibilita a construção de bibliotecas espectrais que permitem uma análise qualitativa à chegada dos materiais, inclusive através da própria embalagem de protecção dos mesmos (Blanco e Villarroya, 2002).

O facto de NIRS permitir determinar a composição dos produtos farmacêuticos nas fases intermediárias do processo é uma mais-valia importante, na medida em que pode acompanhar o desenrolar das operações e não apenas o produto final, pelo que resulta como forte aliado à implementação do PAT (Farrell, Higgins e Kalivas, 2011; Luypaert, Massart e Heyden, 2006).

Os processos podem ser controlados com elevada fiabilidade, podendo o princípio activo ser determinado com precisão, independentemente das diferentes formas físicas do material, como grânulos ou comprimidos (Farrell, Higgins e Kalivas, 2011). É possível analisar produtos dentro de embalagens necessárias para a sua libertação, como sejam *blisters* para comprimidos ou frascos herméticos para injectáveis (Blanco e Villarroya, 2002).

2. Potenciais Aplicações de NIRS na Indústria Farmacêutica Primária

Consideram-se como indústria farmacêutica primária os locais onde são sintetizados/produzidos as substâncias activas e os excipientes, antes de serem processados em formas farmacêuticas finais.

Na produção de princípios activos, o NIRS pode desempenhar um papel importante, pelo que se pode analisar e relacionar o seu impacto na recepção de matérias-primas com a produtividade e garantia de qualidade do produto final, em âmbitos como o controlo e vulnerabilidade do processo ou tempo dos ciclos de produção (Rosa *et al.*, 2008).

Na indústria farmacêutica primária podemos dividir as aplicações de NIRS em dois grupos (Catita, 2008):

- 2.1 - Caso a aplicação tecnológica utilize sistemas biológicos: como organismos vivos ou seus derivados para fabricar ou modificar produtos, bem como processos para utilização específica, como, por exemplo, síntese de substâncias activas através da fermentação.
- 2.2 - Caso a produção de princípios activos e excipientes tenha por base processos químicos industriais.

2.1.1 - Fermentação

A espectroscopia NIRS pode ser usada em determinações de várias propriedades na síntese de substância activa em processos de bio-engenharia, como sistemas de fermentação celular, bem como, em culturas celulares por micro-organismos, para produção de substâncias activas e proteínas (Rodrigues *et al.*, 2008).

Os processos de fermentação são normalmente controlados através dos valores de carbono e substratos de azoto presentes, pelos metabolitos originados pelos ingredientes dos princípios activos, ou também, pelos precursores, indutores e promoto-

res do processo. Técnicas convencionais *off-line* demoram entre 30 minutos e 4 horas a analisar estes parâmetros, pelo que se torna necessário substituir estas técnicas por outras que possam fazer análises *on-line* e preferencialmente multiparamétricas (Lopes, Alves e Meneses, 2005).

De acordo com o estudo de Rodrigues *et al.*, (2008) num processo em escala industrial para produção de ácido clavulânico a partir de *Streptomyces clavuligerus*, desenvolveu-se o uso da espectroscopia de infravermelho como técnica multiparamétrica na monitorização e supervisão de biorreactores, de diferentes escalas e desenhos ligeiramente distintos, no processo de fermentação.

O método NIRS foi desenvolvido a partir de uma sonda de transflecção esterilizada a vapor, imersa num meio de cultivo de fermentação, para monitorizar os analitos-chave do bioprocessamento em tempo real, sob as condições reais industriais, tais como elevada temperatura, humidade e vibrações.

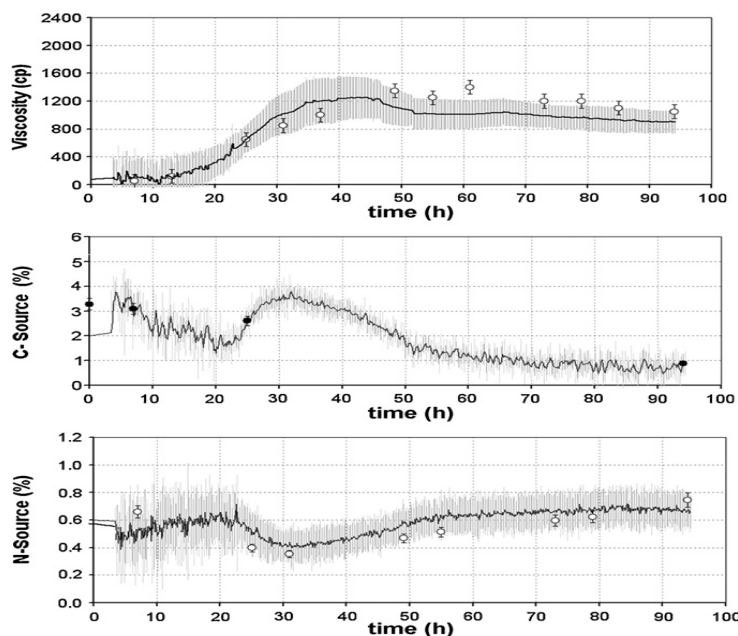


Figura n.º 7 - Resultados obtidos para validação de um lote de produção, no qual as linhas representam as previsões extrapoladas do método, figurando os círculos como valores de referencia.

Adaptada de Rodrigues *et al.*, (2008).

Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios no controlo simultâneo de processos de fermentação, transmitindo análises multiparamétricas dos meios com elevada precisão, demonstrando ser uma alternativa credível a métodos com análise de amostras *off-line* (Rodrigues *et al.*, 2008).

2.1.2 - Liofilização

Um atributo crítico em liofilizados é a quantidade de água presente, que é determinada normalmente por titulação de Karl-Fisher. Esta, no entanto, é demorada, destrutiva e apenas aplicada a uma parte do lote de produção, pelo que se pode considerar a espectroscopia vibracional como modelo alternativo, dados os seus atributos de rapidez, não destruição da amostra e pela possibilidade de serem aplicados *in-line* num liofilizador (Grohganz *et al.*, 2010).

O estudo de Grohganz *et al.*, (2010) analisou aspectos que pudessem validar um método NIRS para quantificação do teor de água, procurando investigar qual a influência de biomacromoléculas sobre o modelo e averiguar se este, sendo baseado em dois excipientes, manitol e sacarose, pode ser utilizado para antever amostras com um outro composto activo ou excipiente.

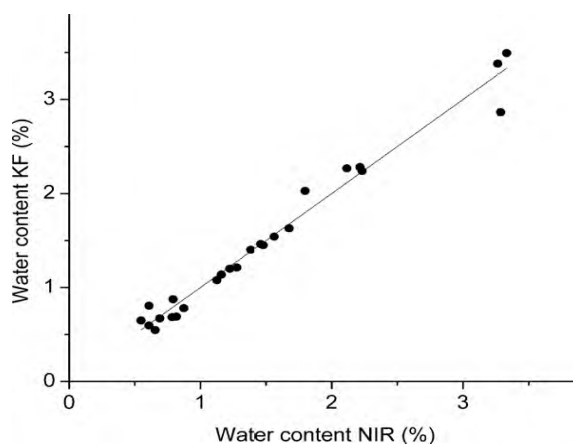


Figura n.º 8 - Comparação dos dados estimados de NIRS com os resultados obtidos por titulação de Karl-Fisher para amostras com base em manitol e sacarose. Adaptada de Grohgan et al., 2010.

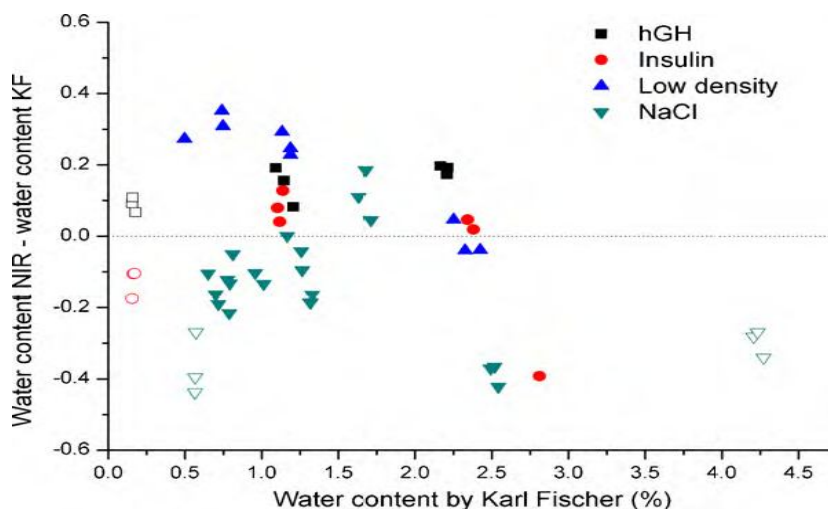


Figura n.º 9 - Influência dos excipientes sobre o teor de água previsto por NIRS comparando com titulação de Karl-Fisher. Adaptada de Grohgan et al, 2010.

O estudo demonstrou uma boa correlação entre os resultados obtidos pela análise multivariada e a titulação de Karl-Fisher para determinação do teor de água nas amostras de liofilizado. Permitiu evidenciar que os métodos NIRS podem prever o

conteúdo de água em amostras com misturas de manitol e sacarose, e que modelos PLS, baseados em espectros NIRS, podem ser estabelecidos para prever o teor de água em amostras desconhecidas, pois demonstraram ser robustos quando se alterara as composições das amostras (Grohgan *et al.*, 2010).

2.2 - Caso a produção de princípios activos e excipientes tenha por base processos químicos industriais.

2.2.1 - Análise de matérias-primas (identificação e qualificação)

É na identificação e qualificação de matérias-primas que as aplicações NIRS mais são usadas pela indústria farmacêutica (Rosa *et al.*, 2008).

De acordo com Wu *et al.*, (2007), numa análise qualitativa a uma preparação da medicina chinesa de Óleo Honghua, os espectros obtidos por NIRS tratados através de um processamento quimiométrico, demonstraram conseguir caracterizar os principais constituintes de amostras de nove fabricantes diferentes. Quando comparados com métodos padrão, no caso cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), demonstrou ser mais rápida, económica, não poluente e ecológica, podendo simultaneamente, caracterizar qualitativamente e quantitativamente a preparação.

Numa referência ao artigo Thermo Fisher Scientific (2007) de um laboratório italiano, Abiogen Pharma S.p.A, cuja análise de matéria-prima é feita individualmente à chegada ao armazém, esta demonstrou ser demorada e onerosa usando os métodos de identificação presentes na farmacopeia, como espectroscopia UV e cromatografia gasosa. Tendo em conta o crescimento da empresa e a necessidade crescente de análise individual das matérias-primas recém-chegadas, pela necessidade de cumprir as directrizes das GMP (Good Manufacturing Practices), documentando todas as fases do processo, a empresa verificou que lhe seria imputada a

necessidade de contratar mais pessoal. Para poder lidar com o aumento de serviço, seria forçado à empresa uma maior organização e planeamento, bem como a deslocação de pessoas do laboratório para outras áreas, aumentando a sua carga de trabalho. Consequentemente o custo financeiro teria aumentado.

Partindo dos pressupostos anteriores e, tendo em conta as directrizes mais recentes de identificação de matérias-primas, aconselhadas pela European Pharmacopoeia (EP), USP e EMEA que consideram as análises feitas por NIR úteis na identificação de matérias-primas, a empresa optou pela escolha da análise NIRS, com o objectivo de não perder tempo e dinheiro, aumentando assim a produtividade (Thermo Fisher Scientific, 2007).

2.2.2 - Cristalização

O processo de cristalização é amplamente usado pela indústria farmacêutica para separação e purificação de compostos. As propriedades do produto final, tais como tamanho e distribuição dos cristais, bem como a sua morfologia são condicionados por este processo (Kadam *et al.*, 2010).

A monitorização *in-line* de processos farmacêuticos tem sido uma ferramenta importante para implementação da tecnologia nos processos analíticos (PAT). No estudo desenvolvido por Wang *et al.*, (2011) foi utilizada espectroscopia NIRS, como método de monitorização em linha (*in-line*), do processo de arrefecimento e cristalização do acetaminofeno ou paracetamol. Os resultados do estudo demonstraram ser coerentes com técnicas alternativas, bem como o potencial de utilização de tecnologias PAT em processos farmacêuticos.

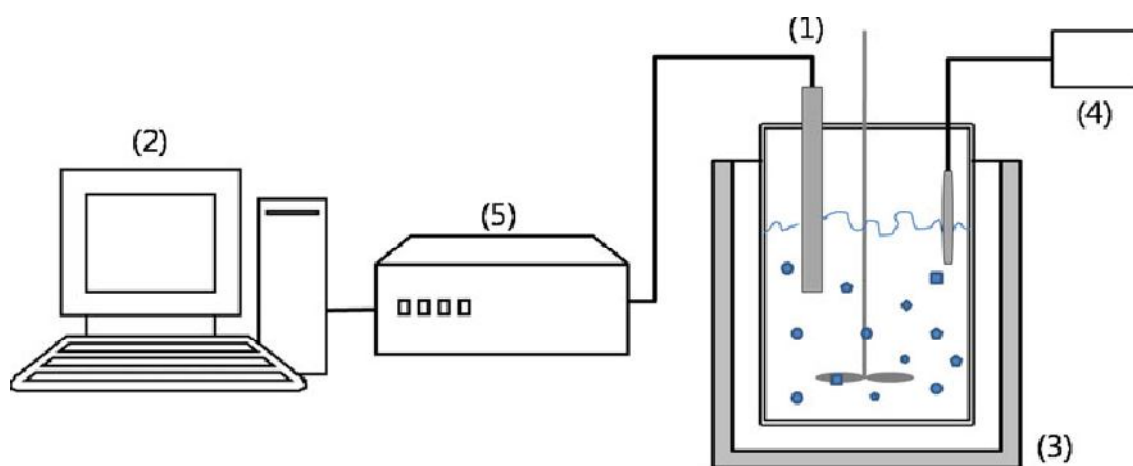


Figura n.º 10 - Aparelho experimental. (1) Sonda de fibra óptica NIR; (2) Computador; (3) Banho do reactor de cristalização; (4) Termómetro; (5) Detector NIR. Adaptado Wang *et al.*, 2011.

O equipamento utilizado neste estudo foi um FT-NIRS equipado com uma fonte de tungsténio-halogéneo e um detector InGaAs para monitorização *in-line*. Os espectros foram obtidos em tempo real, durante o processo de cristalização, a partir de uma sonda de fibra óptica de reflectância difusa (Wang *et al.*, 2011).

Num outro trabalho desenvolvido por Févotte *et al.*, (2003) a espectroscopia NIRS foi usada para investigar características das transições polimórficas observadas durante o processo de cristalização e filtração de um princípio activo usado contra a hipertensão arterial, produzido pela Sanofi-Synthelabo. Considerando as grandes dificuldades de uso de sensores *on-line* para o acompanhamento e controlo dos reactores de cristalização e tendo em conta as auspiciosas tecnologias de infravermelho próximo, experimentaram o uso de NIRS acoplado a sondas de fibra óptica no controlo e optimização da reacção. O NIRS foi usado para monitorizar quantitativamente transições polimórficas na suspensão, entre as quais a dependência da temperatura na transição cinética, o tamanho dos cristais obtidos, bem como o efeito da qualidade do solvente utilizado.

O NIRS demonstrou que pode fornecer informações muito valiosas na cinética de transições polimórficas, particularmente no controlo da quantidade de água no solvente, pois verificou-se que esta é um factor importante para a taxa de transição polimórfica, sendo o seu controlo essencial para a composição final de substâncias activas (Févote *et al.*, 2003).

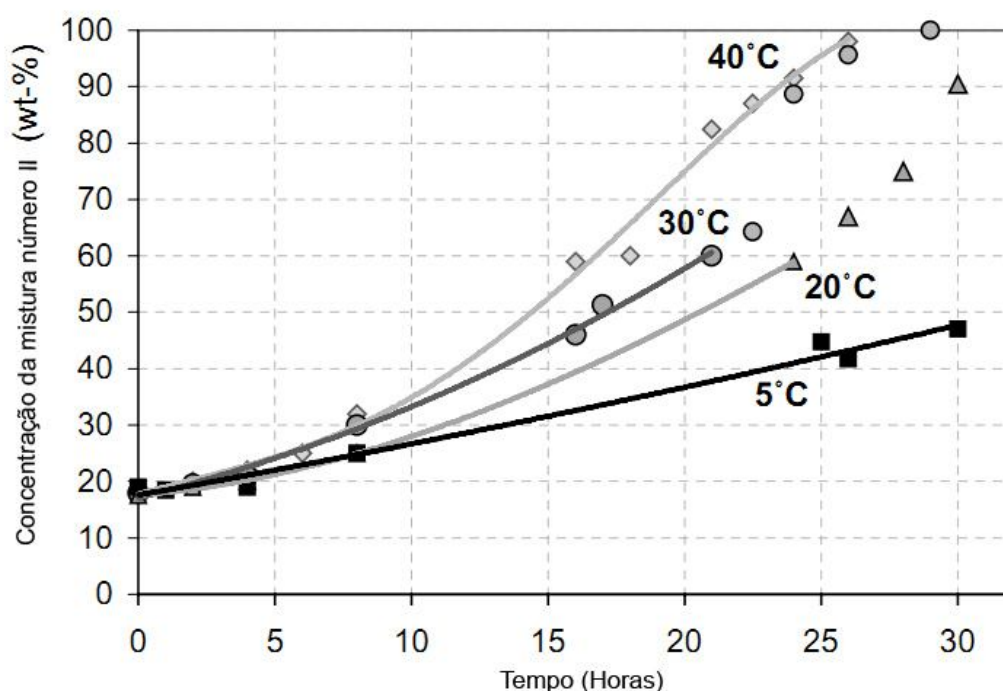


Figura n.º 11 - Determinação por NIRS da variação da composição na transição da forma I para a forma II ao longo do tempo, em função da temperatura. Adaptado de Févotte, *et al.*, 2004.

2.2.3 - Aplicações do NIRS na recuperação de solventes

Segundo Sistare, Berry e Mojina (2004) o NIRS é uma ferramenta importante englobada na *Green Chemistry*, que considera alguns princípios a adoptar pelas indústrias de produção farmacêutica americanas, para prevenção da poluição. São considerados doze princípios a ter em conta, destacando-se o primeiro, sexto e décimo primeiro, que dizem respectivamente ser melhor prevenir o desperdício que tratá-lo ou limpá-lo após este ter sido formado, a redução de energia deve ser considerada de modo a reduzir o impacto económico e ambiental, por último, a metodologia analítica deve ser desenvolvida de modo a poder monitorizar e controlar a produção de resíduos perigosos em tempo real. O estudo foi efectuado com o objectivo de avaliar os benefícios da aplicação de NIRS em operações de recuperação de solventes, numa fábrica de produção de substâncias activas da Pfizer em Groton, Connecticut.

O estudo de Sistare, Berry e Mojina (2004) considera a importância de tecnologias PAT como uma ferramenta na eficiente recuperação de solventes. Qualquer solvente não recuperado representa uma despesa considerável, quer a nível financeiro quer a nível ambiental. De acordo com Sistare, Berry e Mojina (2004) um processo típico pode consumir 4000 litros de solvente por cada lote produzido, representando milhões de litros de solvente em cada ano que têm de ser eliminados, geralmente queimados. Este local de produção, utilizando novas técnicas, tem vindo a recuperar cerca de 60% dos solventes usados, comparando com anos anteriores, ficando mesmo em certos processos perto dos 80%. Com o uso destas boas práticas foi possível recuperar e reutilizar cerca de 9 milhões de litros de solventes num só ano, algo que se reflectiu no consumo de energia, ao mesmo tempo que se procurou melhorar o tempo por litro recuperado. Aplicações *on-line* de NIRS e GC (Cromatografia Gasosa) permitiram otimizar as operações de recuperação de solventes, eliminando 99% das suas falhas, evitando processos de recuperação múltiplos e gerando menos resíduos.

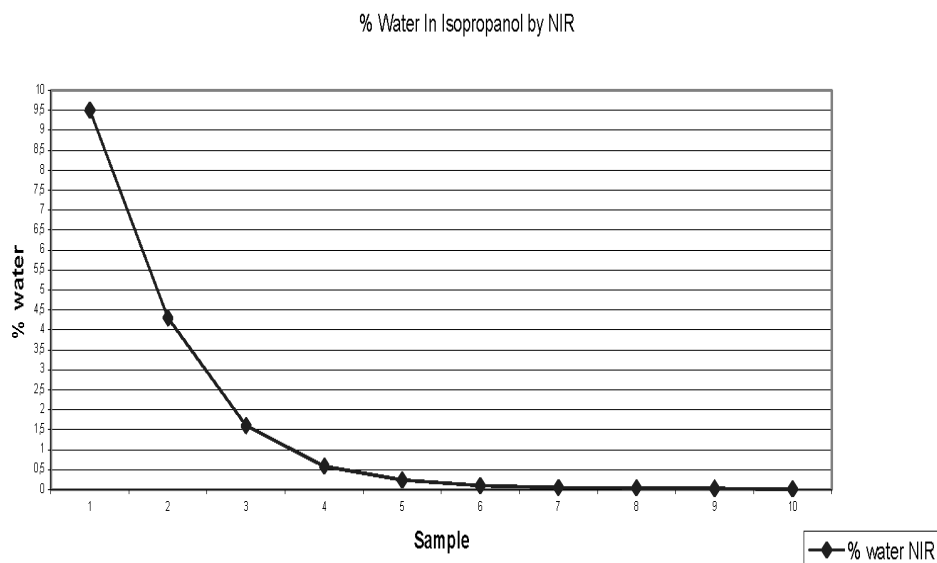


Figura n.º 12- Valores obtidos por NIRS em tempo-real da percentagem de água em isopropanol.

Adaptada de Sistare, Berry e Mojina 2004.

2.2.4 - Aplicações NIRS em processos de secagem

O estudo de Parris *et al.*, (2005) foi realizado numa fábrica de produção de substâncias activas da GlaxoSmithKline (GSK) com o intuito de descrever a aplicação de NIRS na monitorização dos processos de secagem, após isolamento e lavagem da solução. Este estudo abordou o impacto de tecnologias PAT na monitorização *on-line* de processos de produção farmacêutica.

No processo de secagem a substância activa pode ser colocada em diferentes tipos de secadores, sendo os principais sistemas com agitadores ou em tabuleiros, seguidamente selado, aplicado vácuo, elevada a temperatura e introduzido um fluxo de azoto seco. O ponto final da secagem é calculado com base na recolha de amostras ao longo do período de secagem, por intermédio de um operador e calculado por técnicas convencionais *off-line*, tais como HPLC (Parris *et al.*, 2005).

As aplicações NIRS *on-line* têm a grande vantagem de acelerar todo o processo de secagem, na medida em que evitam as múltiplas análises efectuadas ao longo do processo de secagem, como a abertura do secador que naturalmente obriga o sistema a voltar à pressão atmosférica e temperatura ambiente. Outra desvantagem, quando são utilizados processos de secagem, sem monitorização *on-line* ou *in-line*, advém da possibilidade de o excesso de tempo de secagem que pode resultar na fractura de cristais e levar a que as partículas obtidas possuam um tamanho menor que o desejado, ou mesmo, com alterações da sua forma polimórfica, provocadas pela agitação após a evaporação do solvente (Parris *et al.*, 2005).

Sendo possível calcular o ponto final da secagem a partir de tecnologias PAT, pode ser reduzido o tempo e ciclo de secagem, eliminam-se os problemas do excesso de tempo da secagem, poupa-se na energia consumida e nas amostras retiradas, podendo melhorar a qualidade da substância activa produzida (Beer, 2011).

Reportando Parris *et al.*, (2005) a empresa GSK procurou analisar o processo de secagem de substâncias activas através da análise da composição dos gases do vapor que são retirados do secador, com diversas vantagens no controlo da fase sólida, como a universalidade da aplicação da técnica a diferentes tipos de secadores, evitando o contacto directo da sonda com a substância activa, uma vez que este pode sujar ou revestir a sonda, causando falsos resultados ou bloqueando a visualização de outro material. Outra vantagem de monitorizar a fase de vapor resulta do facto de o solvente estar presente numa matriz de azoto, invisível para o infravermelho próximo.

A figura n.º13 mostra o esquema de análise utilizado, no qual o conjunto substância activa e solventes são colocados numa bandeja e introduzidos no secador. O sistema é então aquecido, aplicado vácuo, fazendo passar um fluxo de azoto seco através do secador. O secador possui um filtro à saída e na interface óptica do gás, podendo este estar ou não em funcionamento.



Figura n.º 13 - Diagrama do secador de bandeja equipado com célula óptica de interface de gás.

Adaptada de Parris *et al.*, 2005.

Os resultados obtidos neste estudo provaram que correlacionando os valores obtidos por NIRS com os obtidos por técnicas *off-line* foi possível determinar o ponto final da secagem com elevado grau de certeza o que demonstra um potencial importante desta tecnologia noutros processos.

3– Potenciais Aplicações de NIRS na Indústria Farmacêutica Secundária

No âmbito da indústria farmacêutica, classificamos os locais de produção secundários como aqueles onde se transformam os princípios activos em formas farmacêuticas, depois de devidamente processados, para serem usados como medicamentos. As fábricas recebem os compostos produzidos nas unidades farmacêuticas primárias, estando assim encarregues de todo o processamento dos ingredientes básicos até ao seu embalamento, na forma farmacêutica final (Ciavotta, Meloni e Pranzo, 2009).

3.1 - Recepção / Identificação de Matérias-Primas

Na recepção das matérias-primas encontra-se uma boa oportunidade para a aplicação da espectroscopia de infravermelhos na indústria farmacêutica. Como o processo farmacêutico moderno está fortemente alicerçado na qualidade do produto inicial, é necessário, aquando da chegada das mercadorias às instalações fabris, verificar a qualidade dos materiais, de modo a não comprometer todo o futuro da operação de fabrico (Reich, 2005). É neste passo inicial de produção que NIRS exhibe algumas das suas melhores qualidades.

Na rapidez do processo, certamente, o NIRS encontra a sua força mais amplamente reconhecida, poupando tempo às indústrias farmacêuticas. Uma boa demonstração do contributo de NIRS é a optimização representada no gráfico (Figura n.º14), onde podemos analisar que a partir de 2002, o ano de adopção do sistema NIRS na empresa ABIOPEN S.p.A, o número de entregas bem-sucedidas duplicou, com o mesmo número de efectivos na área de recepção, atestando assim a rapidez do método (Thermo Fisher Scientific, 2007).

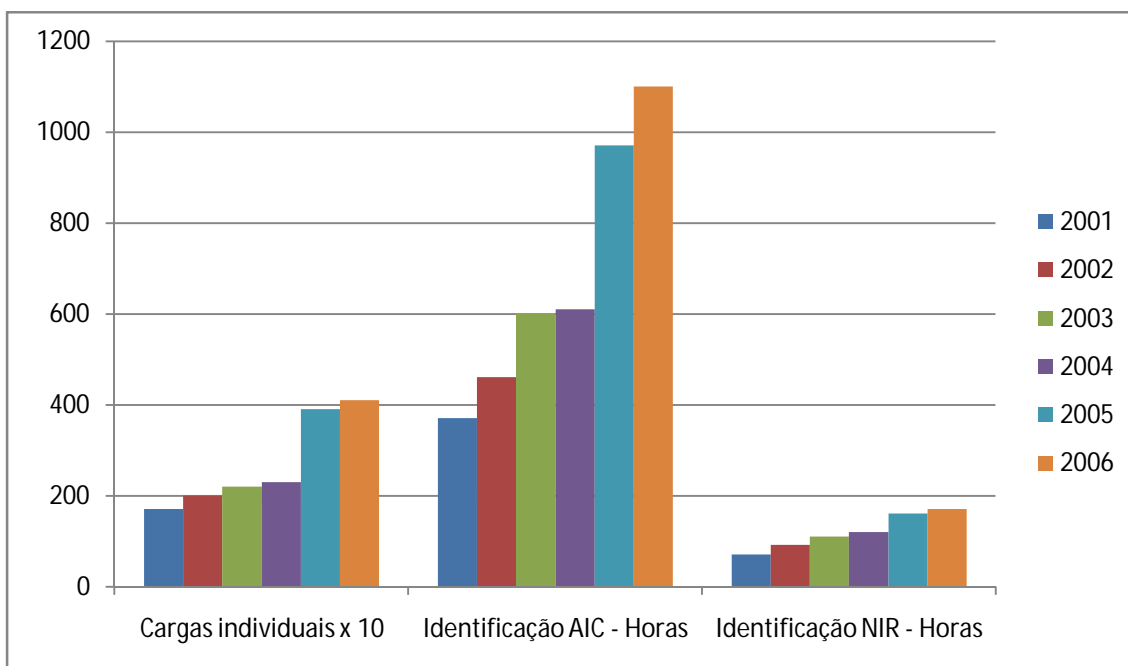


Figura n.º 14 - Tempo despendido na identificação de materiais na empresa Abiogen. Adaptado de Thermo Fisher Scientific, 2007.

De acordo com Catita (2008) e Thermo Fisher Scientific (2007) a deslocação do aparelho ao local da entrega facilita o rápido inventário do material, o que, aliado à facilidade de utilização, permite o direccionamento de mão-de-obra não especializada para o processo.

Outra vantagem reside no facto de a sonda NIRS não estar em contacto com a amostra, permitindo que esta se encontre limpa e disponível para recolher um espectro noutra amostra, logo de seguida, não havendo assim contaminação cruzada (Catita 2008).

3.2 - Granulação por via húmida

A técnica de granulação mais utilizada é a de via húmida, utilizando água ou um solvente apropriado, para garantir a criação de pequenos aglomerados que contêm a mistura correcta, quer do princípio activo, quer dos excipientes que compõem a forma final (Hartung *et al.*, 2011). A granulação visa também uniformizar o tamanho das diferentes partículas, para assim ser mais fácil a sua mistura, e a compressão aquando da formação do comprimido (Alcanà *et al.*, 2009; Daugherty e Chu, 2007; Hartung *et al.*, 2011; Muteki *et al.*, 2011).

Tradicionalmente eram usados métodos visuais e manuais, que implicavam a recolha, e conseqüente inutilização, de grandes quantidades de amostra, bem como de pessoal especializado, ocupando longos períodos de tempo (Alcanà *et al.*, 2009). O processo era baseado muitas vezes na experiência do operador para produzir resultados consistentes (Corredor, Wan e McGeorge, 2012).

A especificidade deste processo implica a dificuldade na reprodução dos resultados, tornando assim importante a introdução de um método como o NIRS para o controlo *in-line* dos lotes de produção. A análise deste processo é um passo essencial, na medida em que um lote de produção fora dos parâmetros pode causar a perda de grandes quantidades de substâncias activas, causando perdas económicas consideráveis, bem como a incapacidade de alcançar resultados previamente estabelecidos (Alcanà *et al.*, 2009).

Esta técnica permite a extracção de informação qualitativa sobre as propriedades físicas e químicas das preparações farmacêuticas, pelo que a introdução de métodos não invasivos de monitorização *on-line*, podem permitir a correcção do processo, a diminuição do tempo de cada etapa e o conseqüente aumento da qualidade do produto final (Alcanà *et al.*, 2009). Os principais problemas que surgem durante este tipo de granulação e que requerem a análise por NIRS são essencialmente a uniformidade dos componentes, quer seja a quantidade de substância activa, quer os restantes excipientes presentes, a avaliação da humidade da mistura, e o tama-

nho dos granulados obtidos, estando estes parâmetros ligados à qualidade do produto e ao desempenho do mesmo em utilização real (Catita, 2008; Corredor, Wan e McGeorge, 2012).

Estes indicadores de qualidade são afectados directamente por parâmetros no processo de granulação, tais como o fluxo de líquido adicionado, a velocidade do propulsor e o ponto final do processo. A capacidade de monitorizá-los com o NIRS providencia um extenso conhecimento que leva a um processo de fabrico mais robusto, e por sua vez a uma superior qualidade do produto final (Corredor, Wan e McGeorge, 2012). Normalmente, de forma a assegurar a correcta colheita de espectros, é necessária a introdução de várias sondas no local da mistura, de forma a recolher uma amostra mais representativa de todo o lote (Reich, 2005).

De acordo com Corredor, Wan e McGeorge (2012), NIRS tem tido dificuldade em impor-se nos processos de granulação por via húmida, e os trabalhos mais recentes indicam que outras técnicas se mostram mais adequadas à avaliação do crescimento dos grânulos e à sua consolidação, tais como FBRM (Focused Beam Reflectance Measurement).

3.3 - Granulação a seco

O método de granulação por via seca é uma alternativa à sua congénere húmida, sendo o processo realizado, neste caso, quando a mistura passa entre dois rolos metálicos que rodam na direcção um do outro, formando uma fita de material compactado (Daugherty e Chu, 2007; Lim *et al.*, 2011).

De acordo com Herting e Kleinebudde (2007) este método tem vindo a ganhar popularidade nos últimos anos, não sendo actualmente específico apenas para componentes sensíveis à humidade e aos solventes, embora, para estes a granulação a seco seja uma técnica indispensável. É um processo contínuo, permanentemente em acção, correspondendo melhor à filosofia de linha de montagem, aplica-

da na indústria farmacêutica (Lim *et al.*, 2011). Também não utiliza solventes ou calor, além de implicar a utilização de menos maquinaria, sendo portanto um processo economicamente mais viável (Daugherity e Chu, 2007).

O NIRS analisa algumas variáveis deste método, como a uniformidade dos componentes, quantidade da substância activa e força tênsil da fita (Catita, 2008). A medição da análise da força tênsil da fita é um parâmetro importante porque diversas afinações da máquina podem alterar a sua composição, entre as quais, a velocidade de entrada de produto, o tipo de rolo e as suas dimensões, o espaço entre os rolos e a força aplicada nos rolos (Farber *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2011).

O NIRS permite a monitorização em tempo real, passando a ser possível verificar o impacto que cada parâmetro terá no processo (Lim *et al.*, 2011). O resultado desta operação é importante, na medida em que a compactação dos comprimidos pode ser fortemente condicionada por este processo, visto que a correcta aglomeração dos componentes será essencial para a integridade estrutural dos mesmos (Daugherity e Chu, 2007).

3.4 - Extrusão

Em alternativa aos processos de granulação temos os métodos de extrusão. Nestes processos a substância activa e os excipientes são aquecidos, sendo depois passados através dum molde com um formato que permita a mistura uniforme dos componentes (Crowley *et al.*, 2007).

Este processo é utilizado na indústria há várias décadas, nomeadamente na indústria dos plásticos (Muehlenfeld e Thommes 2011). A especificidade da indústria farmacêutica fez com que apenas recentemente fosse possível utilizar a extrusão em medicamentos. (Saerens *et al.*, 2012; Crowley *et al.*, 2007).

As principais vantagens deste método são a sua capacidade para conseguir uma produção constante, estando de acordo com a necessidade da indústria farmacêuti-

ca de abandonar a produção por lotes, isto em nome da eficiência e da regularidade dos resultados (Saerens *et al.*, 2012). Outra importante característica do método é o facto de não serem necessários solventes para conseguir uma mistura uniforme, uma característica fundamental em determinados produtos (Repka *et al.*, 2007).

Num estudo de Saerens *et al.* (2012) foi estudada a aplicação *in-line* do NIRS em processos de extrusão na produção de medicamentos, sendo introduzida uma sonda com fibras ópticas no aparelho, com vista a determinar o conteúdo das substâncias activas e a interacção entre os polímeros e estas.

No final do estudo foi possível verificar que o método NIRS era mais adequado que os métodos de referência na análise das ligações de hidrogénio na formulação. Ainda foi possível concluir que, devido à sua rapidez, o NIRS foi o único modelo capaz de conseguir análises em certos pontos do processo, visto que o tempo de preparação dos métodos de referência era superior ao tempo que a preparação levava a estabilizar (Saerens *et al.*, 2012).

Em conclusão, Saerens *et al.* (2012) afirmam que com a espectroscopia de NIRS foi possível detectar variações nas concentrações do produto, com um método de PLS a ser desenvolvido para uma monitorização constante, sendo a margem de erro de 1,54%. É ainda possível verificar as interacções dos diferentes componentes durante a mistura, bem como a consistência da mesma, tudo isto em tempo real com a aplicação *on-line*.

3.5 - Secagem

O processo de fabrico de medicamentos inclui vários passos, entre os quais se encontra o processo de secagem, presente na produção de muitas formas farmacêuticas. Este é normalmente utilizado para assegurar a correcta remoção de toda a humidade, utilizando para isso vários métodos, tais como a monitorização da temperatura, que é um método indirecto, e a análise *off-line* da humidade das amostras

recolhidas. No caso da monitorização da temperatura, por ser um método indirecto, a sua interpretação pode não ser a mais correcta, bem como, no caso da análise da humidade, por ser um método muito demorado, demonstram ser pouco eficazes (Reich, 2005). Os processos de análise *off-line* implicam ainda a paragem do processo, e muitas vezes a utilização de dispendiosos reagentes (Matteset *et al.*, 2004). De acordo com a revisão bibliográfica de Reich (2005), no processo de secagem os métodos mais utilizados são a secagem em leito fluidizado e a colocação de tabuleiros em fornos de aquecimento. Para produtos sensíveis às altas temperaturas a técnica de liofilização é considerada segura.

A água pode afectar negativamente a qualidade do produto final e importantes factores de qualidade, tais como a estabilidade e a compressibilidade (Corredor, Wan e McGeorge, 2012). Estes são afectados pela quantidade de humidade presente, pelo que a secagem assume extrema importância no processo de fabrico de medicamentos sólidos (Peinado *et al.*, 2010). É também um processo no qual o ponto final necessita de ser controlado com a máxima precisão, visto que a secagem excessiva leva a que possam ser criadas partículas demasiado finas, podendo criar assim mudanças nas dosagens do produto como reportou Peinado *et al.* (2010), além de desperdiçar energia aumentando os custos de produção (Mattes *et al.*, 2004).

Uma secagem incorrecta, por outro lado, pode levar a que a fluidez seja afectada, sendo assim provável o aparecimento de problemas no resto do processo (Mattes *et al.*, 2005).

Segundo Blanco *et al.*, (1998) e Corredor, Wan e McGeorge, (2012) NIRS apresenta grande utilidade neste processo, visto que as vibrações O-H da água exibem uma grande absorção na região entre os 1400nm e os 1900nm do infravermelho próximo, permitindo assim a utilização de sondas NIRS com fibras ópticas para uma monitorização *on-line* e constante de todo o processo (Reich, 2005; Peinado *et al.*, 2010). Também na contabilização da quantidade remanescente de solventes o

NIRS conhece iguais utilizações, com um processo em tudo semelhante àquele utilizado para a água (Reich, 2005).

Reportando um estudo de White (1994), ficou demonstrado que em amostras que continham menos de 6% de humidade, a utilização de NIRS apresentou um erro de 1% em relação aos resultados obtidos pelo método de referência - Karl Fischer. Foi ainda possível verificar que a alteração da composição do produto não afectou a previsão da humidade na mistura, revelando assim a robustez do modelo de calibração deste método analítico.

3.6 - Mistura

Na produção de medicamentos com dosagens sólidas a mistura dos produtos é um passo essencial, visto que é neste passo que se assegura a correcta dosagem de todos os constituintes do medicamento (Porter 2008; Moes *et al.*, 2008). Este processo foi tornado ainda mais importante nos tempos modernos, visto que substâncias activas mais fortes, normalmente equivalendo a menos de 1% do total da mistura, são constituintes dos novos medicamentos (Moes *et al.*, 2008). A validação deste processo é essencial de modo a definir se as boas condições estão reunidas para passar às próximas fases de produção, visto que, quer o excesso de tempo de mistura, quer a mistura incompleta podem alterar o resultado final (Porter, 2008).

Os métodos de mistura são variados, sendo os métodos de difusão e de convecção os mais utilizados. Dependendo das propriedades da mistura, como a fácil fluidez da mesma, ou se ainda conservam grânulos, os métodos podem também ser alterados para fazer face às necessidades específicas de cada formulação (Bozzone, 2001).

Desde do início da introdução do NIRS na análise do processo da mistura tem havido uma contínua discussão acerca dos benefícios quer de uma análise qualitativa quer de uma quantitativa (Corredor, Wane McGeorge, 2012). Diversas pesqui-

sas sobre a utilização de NIRS na determinação da uniformidade de teor levaram a que as análises *off-line* passassem para segundo plano, podendo ser efectuadas medições *in-line* (Moes *et al.*, 2008). O uso neste processo revela extrema utilidade, pois permite que seja efectuada uma análise permanente e constante durante o decurso da operação, podendo todos os lotes ser examinados, evitando assim problemas antes mesmo que eles ocorram, sendo deste modo possível conhecer ao mesmo tempo o impacto que cada variável terá no processo final (Porter, 2008). O ponto de detecção da amostra, utilizando NIRS numa situação normal de medição *on-line*, varia entre 1 e 100 miligramas, dependendo do diâmetro da parte óptica e as propriedades do pó (Corredor, Wan e McGeorge, 2012).

Actualmente a monitorização dos processos de mistura está firmemente implantada, apesar de ainda serem escassas as publicações que se centrem na aplicação prática dos dados recolhidos (Corredor, Wan e McGeorge, 2012), sendo uma das quais o estudo realizado por Sulub, Konigsberger e Cheney (2011) onde foi demonstrada a precisão do método NIRS, na determinação da uniformidade da mistura durante um espaço de três anos. Ficou demonstrada a robustez do método depois de ter sido validado em misturas com diferentes quantidades de água. A correcta implementação do método de NIRS ficou comprovada por subsequente análise da uniformidade de teor e a uniformidade de mistura por métodos alternativos, como o HPLC.

Aparelhos de mistura contínua demonstraram a extrema necessidade de uma monitorização *on-line*, visto que os parâmetros do misturador podem ser alterados a partir dos dados recolhidos pelas sondas NIRS (Corredor, Wan e McGeorge, 2012). No trabalho de Vanarase *et al.* (2010) ficou demonstrada a eficácia desta aplicação, tendo os investigadores conseguido alcançar um elevado grau de homogeneidade com a misturadora contínua e a avaliação do processo com o NIRS e monitorização *on-line*.

Para além de melhorar a qualidade com a análise frequente e contínua, o NIRS permite uma velocidade mais rápida do processo, evitando desperdícios de tempo e dinheiro (Bozzone, 2001).

3.7 - Compressão

A compressão dos pós para a formação de comprimidos é um dos métodos finais da produção de medicamentos. Estudos recentes revelam que 80% dos medicamentos administrados oralmente, consumidos mundialmente, são comprimidos (IMS Midas Database, 2005). Na indústria farmacêutica os comprimidos são muitas vezes fabricados em prensas rotativas, frequentemente com capacidades de um milhão de comprimidos por hora. Nestas máquinas, uma dose individual entra num molde, sendo depois comprimida por um pistão superior e outro inferior, com força cuidadosamente controlada, tomando assim a forma sólida do comprimido (Kremer, 2006).

A espectroscopia por infravermelhos próximos é utilizada na produção de comprimidos há algum tempo, mas sempre numa utilização *off-line*, sendo portanto desejável que se possa introduzir uma aplicação *in-line*, para se aumentar o número de amostras analisadas, visto que a velocidade do processo exige que o método de análise seja também bastante rápido, como é o caso do NIRS (Beer, 2011). Ainda assim apenas uma pequena percentagem do produto é analisada, embora seja esperado um provável aumento a curto prazo (Reich, 2005). O volume de dados para uma análise completa ainda é inoportável, pelo que a análise de uma amostra mais significativa será o destino mais provável desta tecnologia (Ellis, 2005).

Visto que a determinação por NIRS pode reconhecer as diferenças nas propriedades físicas e químicas das partículas, esta pode ser utilizada ao longo de todo o processo de compressão, verificando assim parâmetros como o conteúdo de substância activa, uniformidade da mistura e a dureza do comprimido, parâmetro utilizado para avaliar também a sua resistência (Reich, 2005; Ellis, 2005).

Um estudo de Boiret, Meunier e Ginot (2010) avaliou a capacidade da utilização de métodos baseados em NIRS para determinar a concentração de Tianeptina 12,5mg em comprimidos revestidos, medicamento utilizado como antidepressivo. Os resultados obtidos determinaram uma margem de erro de apenas 2%, o que demonstrou a capacidade do método.

O próximo desafio da indústria será o de relacionar a maneira como os dados estatísticos recolhidos afectam a qualidade e a eficácia do produto (Corredor, Wan e McGeorge, 2012).

3.8 - Revestimento

A aplicação de uma cobertura em comprimidos é um passo normalmente aplicado a dosagens sólidas de medicamentos, quer seja para melhorar o sabor, a facilidade do produto ser engolido pelo paciente, a sua friabilidade, ou para controlar a sua dissolução no sistema digestivo (Reich 2005; Min-Jeong *et al.*, 2010; Moes *et al.*, 2008).

Neste processo é importante controlar o desenvolvimento da aplicação do revestimento, pois uma cobertura demasiado fina não terá os níveis de protecção adequados e o efeito do medicamento pode ser despoletado demasiado cedo, enquanto uma cobertura demasiado espessa pode conduzir a uma desagregação demasiado tardia, não permitindo a total absorção da substância activa (Lee *et al.*, 2010).

Utilizando os métodos convencionais, o fim da aplicação da camada é determinado por análises a amostras retiradas da linha de produção, pela pesagem do lote, e a sua ideal uniformidade e espessura pode ser determinada por processos destrutivos *off-line*. Estas determinações conduzem a um consumo excessivo de tempo, e a uma amostra representativa do lote de produção por vezes demasiado pequena, levando a uma incorrecta análise dos parâmetros de qualidade em avaliação (Reich, 2005).

O NIRS possui qualidades que permitem um rápido e fiável exame, *on-line* e *at-line* de uma maior percentagem do lote, conseguindo ao mesmo tempo a vantagem de ser um método não destrutivo (Reich 2005; Andersson *et al.*, 2000). Deste modo pode indicar facilmente o fim do processo, e permite recolher informações quantitativas e qualitativas acerca da espessura das coberturas, pelo que pode ser uma ferramenta útil para a medição deste parâmetro (Andersson *et al.*, 2000).

Reportando Jamrógiewicz (2012), um aspecto a ter em conta aquando da aplicação do revestimento é a absorvância NIRS dos componente do núcleo diminuir, na medida em que a radiação ao chegar ao núcleo vai ser menor, a radiação reflectida na cobertura será mais elevada.

A aplicação do NIRS na previsão das taxas de dissolução das substâncias activas foi já estudada, mas ainda é um capítulo onde o método encontra sérios desafios, essencialmente devido à dificuldade de realizar uma biblioteca de amostras que represente todas as variáveis e devido ao facto de a dissolução se efectuar em meio aquoso (Reich, 2005).

3.9– Produto final / Embalamento

O último passo antes de os medicamentos serem libertados para a venda ao público é o processo de embalamento. Neste passo é essencial verificar a correcta identidade dos produtos a serem embalados, de forma a garantir que o paciente está a receber o produto certo e a dosagem correcta (Reich, 2005).

Apenas a análise de uma pequena parte da produção é requerida pelas autoridades europeias, permitindo que produtos fora dos limites definidos, provocados por problemas temporários, possam passar nos testes, causando eventualmente problemas de saúde bem como recolhas dispendiosas, acompanhadas inevitavelmente por uma reputação negativa do fabricante (Herkert, Prinz e Kovar, 2000).

Com os sistemas NIRS é possível recolher informação de todos os produtos quando se procede ao seu embalamento com uma aplicação *in-line*. Num estudo efectuado por Aldridge *et al.*, (1994) procurou-se definir a robustez do método NIRS na determinação dos compostos presentes em amostras representativas de três formulações diferentes, sendo uma constituída por substância activa e duas por placebos. Como resultado, cada produto que estava fora dos parâmetros foi rejeitado, ao mesmo tempo que conseguia acompanhar uma cadência de 12000 comprimidos por minuto. Destacou-se o facto de os espectros poderem ser recolhidos através da embalagem, não violando a integridade do embalamento do produto (Aldridge *et al.*, 1994).

Num estudo de Blanco e Alcalá (2006), foi analisada a possibilidade de utilização de NIRS na quantificação e validação de um produto final, no caso, um granulado destinado ao alívio dos sintomas gripais, embalado em sacos de dose única. Pelo facto de ser uma análise de uma formulação com múltiplas substâncias activas, torna a análise substancialmente mais complexa, na medida em que alguns dos compostos se podem encontrar com concentrações próximas dos limites de detecção da técnica.

Trinta amostras retiradas de lotes diferentes foram analisadas, um método NIRS foi desenvolvido e confirmado pelos métodos de referência, de modo a que os cinco constituintes da preparação fossem identificados nas suas proporções. Foi possível uma análise rápida e precisa, practicamente sem preparação da amostra. O método mostrou ser mais vantajoso que os métodos convencionais, no caso HPLC, dado os procedimentos analíticos serem simplificados. O único pré-tratamento necessário para a amostra foi a homogeneidade das partículas, sem necessidade de reagentes, sem resíduos, poupando tempo e custos (Blanco e Alcalá 2006).

É importante referir que vários factores são passíveis de ser analisados pelo método NIRS, entre os quais dureza, tamanho das partículas, força da compactação, taxas de dissolução e conteúdo de água (Jamrógiewicz 2012).

Nas taxas de dissolução o NIRS conhece algumas limitações, sendo uma delas a dificuldade de obter uma amostra que contenha a variabilidade necessária para o desenvolvimento de uma biblioteca espectral robusta (Reich, 2005). Outro factor limitador do método é a sua fraca sensibilidade, que implica sérias dificuldades em amostras com baixas concentrações. Apesar disso, o NIRS pode ser utilizado qualitativamente recorrendo a calibrações multivariadas, tais como PLS (Wang, Decheng e Higgins 2006). Num estudo de Kuny *et al.* (2003) foi analisada a possibilidade de substituir demorados processos de laboratório por NIRS para testes de diluição. Neste estudo foi concluído que a melhor calibração seria a percentagem da diluição da substância activa passado 20 minutos. Em conclusão os investigadores reconhecem que, pelo menos em casos de produtos de dissolução imediata, o NIRS apresenta resultados em linha com aqueles verificados pelo método de referência, sendo assim uma opção válida.

Capítulo III - Conclusão

As aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) em ciências farmacêuticas foram a base deste estudo de pesquisa bibliográfica.

NIRS revelou ser um método com enorme potencialidade para ser aplicado nas diversas áreas da indústria farmacêutica, na medida em que é rápido, não poluente e não requer preparação da amostra, podendo intervir desde a recepção dos materiais, onde já apresenta grande aceitação dos fabricantes, aos diversos processos da indústria farmacêutica primária e secundária, mesmo os mais hostis.

Apesar de a sua aceitação não abranger a totalidade dos intervenientes no processo de fabrico e controlo de qualidade, está descrito pelos principais reguladores desta indústria, tais como a USP, EP, FDA e EMEA para a implementação, desenvolvimento e legitimação de processos que utilizem NIRS. Pode ser considerada uma ferramenta importante para se utilizar como alternativa aos métodos convencionais, integrada nas tecnologias de análise de processo (PAT), encorajando o desen-

volvimento e implementação de novas tecnologias na produção, ao mesmo tempo, assegurando uma plataforma de validação, garantia e controlo de qualidade contínuos ao longo de todo o processo de fabrico.

No âmbito das tecnologias PAT são importantes métodos como NIRS, para maior eficiência dos processos de fabrico, dada a potencialidade da utilização *on-line* e *in-line* cujas análises permitem acompanhar as fases intermédias da produção e não apenas o produto final. O desenvolvimento desta tecnologia permite controlar os processos com elevada fiabilidade, independentemente das formas físicas do material e revestimentos do mesmo.

Um dos aspectos importantes para aplicação de NIRS é o desenvolvimento de um modelo quimiométrico adequado ao modelo do qual se deseja extrair informações. É essencial a produção de uma biblioteca espectral para poder comparar a amostra a analisar com outras de qualidade reconhecida. Requer uma diversidade de espectros anteriormente conhecidos o que implica um largo número de amostras anteriormente recolhidas, sendo esta uma condicionante para a robustez da análise.

Ao longo da pesquisa efectuada, aplicações válidas de NIRS na indústria farmacêutica foram descritas em dois grupos, primária e secundária. Na indústria farmacêutica primária, produtora de princípios activos, foram referidos estudos que descrevem a utilização de NIRS em processos cuja tecnologia utiliza sistemas biológicos, como em processos de fermentação e liofilização, e processos cuja produção de princípios activos e excipientes tenha por base processos químicos industriais, desde análise de matérias-primas (identificação e qualificação), processos de cristalização, recuperação de solventes e secagem.

A indústria farmacêutica secundária, aquela que transforma as substâncias activas em formas farmacêuticas finais, evidencia potenciais utilizações de NIRS em diversos processos. O estudo relatou alguns processos da produção em que a utilização de NIRS se encontra em estudo ou já possui utilização prática, tais como, recepção e identificação de matérias-primas, granulação por via húmida e a seco,

extrusão, secagem, mistura, compressão, revestimento, embalagem e análise do produto final.

Tendo em conta o aprofundamento do conhecimento do método NIRS, bem como o desenvolvimento contínuo de equipamentos relacionados, permitem uma cada vez maior compreensão, controlo e robustez do sistema farmacêutico ao mesmo tempo que vai diminuir os custos associados a todo o processo de fabrico.

É de prever que NIRS continue a desempenhar um papel importante na tecnologia farmacêutica, na medida em que o crescente número de estudos demonstra elevado interesse pela técnica. O aumento das relações entre as diversas áreas multidisciplinares envolvidas poderá levar a que o método se implemente no sentido de uma análise contínua com uma monitorização em tempo real de todo o processo.

IV - Bibliografia

- 1) Alcácer, L. (2007). *Textos de apoio a Química-Física. Determinação da Estrutura Molecular. Métodos Espectroscópios*. AEIST.
- 2) Alcanà, M. *et al.* (2009). On-Line Monitoring of A Granulation Process By NIR Spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 99, N.º 1, Janeiro 2010.
- 3) Aldridge, P. *et al.* (1994). Identification of Tablet Formulation Inside Blisters Packages by Near-Infrared Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* Volume 48, Número 10, 1994.
- 4) Almeida, F. (2009). *Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril*. Tese de Doutoramento, Instituto Superior Técnico.
- 5) Andersson, M. *et al.* (2000). Quantitative Analysis of Film Coating in a Fluidized Bed Process by In-Line NIR Spectrometry and Multivariate Batch Calibration. *Anal. Chem.* 2000, 72, pp. 2099-2108.
- 6) Araujo, A. (2007). *Monitoramento de processos em tempo real via espectrofotometria no infravermelho próximo*. Tese de Doutoramento, Universidade Tiradentes – UNIT.

-
- 7) Beer, T. (2011). Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production processes. *International Journal of Pharmaceutics* N° 417 (2011), pp. 32 - 47.
 - 8) Blanco, M. *et al.* (1998). Near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical industry. *Analyst*, August 1998, Vol. 123 pp. 135 - 150.
 - 9) Blanco, M., Villarroya, I. (2002). NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *Trends in analytical chemistry*, vol. 21, no. 4, 2002.
 - 10) Bleye, C. *et al.* (2012). *Critical review of near-infrared spectroscopic methods validations in pharmaceutical applications.* (2012)
 - 11) Boiret, M., Meunier, L. e Ginot Y. (2010) Tablet potency of Tianeptine in coated tablets by near infrared spectroscopy: Model optimisation, calibration transfer and confidence intervals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º54 (2011) pp.510–516
 - 12) Borin, A. (2003). *Aplicação de Quimiometria e Espectroscopia no Infravermelho no controle de qualidade de Lubrificantes.* Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas.
 - 13) Bozzone, S. (2001). *Solid Oral Dosage Forms Powder Blending*, IKEV Meeting May 31, 2001.
 - 14) Bozzone, S. (2001). *Solid Oral Dosage Forms, Blend Uniformity: Principles and Examples*, Turkish Pharmaceutical Society Meeting June 1, 2001.

-
- 15) Bueno, B. (2004). *Caracterização de Petróleo por Espectroscopia no Infravermelho Próximo*. Tese de Mestrado, Universidade estadual de Campinas.
- 16) Catita, J. (2005). Aplicações da Espectroscopia de Infravermelho Próximo na Indústria Farmacêutica. *ROF-Revista Ordem dos Farmacêuticos*, N.º 65 (2005) p.70.
- 17) Catita, J. (2008). *FTIR/NIR Basics and Applications*. Lisboa, 2008.
- 18) Ciavotta, M., Meloni, C. e Pranzo, M. (2009). Scheduling Dispensing and Counting in Secondary Pharmaceutical Manufacturing. *AIChE Journal*. Vol. 55, N.º 5, pp. 1161 – 1170.
- 19) Ciurczak, E. (2006). Near-infrared Spectroscopy, *Modern Instrumental Analysis*. Volume 47, pp. 157 - 170.
- 20) Coates, J. (2000). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In Meyers, R., (Ed.). *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester John Wiley & Sons Ltd.
- 21) Corredor, C., Wan, B. e McGeorge, G. (2012). Pharmaceutical Analysis and NIR. *European pharmaceutical review*. Volume 17 N.º1 (2012), pp. 7-10.
- 22) Costa, P., Alves, T. e Menezes, J. (2001). Monitorização de Processos Biológicos: Monitorização at-line de Bioprocessos Industriais com FT-NIR. *Boletim Biotechnol. (Soc. Port. Bioquímica)* N.º69, pp. 11-16.

-
- 23) Cruz J. e Blanco, M. (2011). Content uniformity studies in tablets by NIR-CI. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 56 (2011), pp. 408 - 412.
- 24) Daugherity, P. e Chu, J. (2007). Investigation of Serrated Roll Surface Differences on Ribbon Thickness During Roller Compaction. *Pharmaceutical Development and Technology*, N.º12 (2007), pp. 603 - 608.
- 25) Ellis, S. (2005). Post tableting NIR Analysis: A look at PAT Applicability to the output of solid dosage forms. *Spectroscopy*, January 2005.
- 26) European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA) (2003). *Note for guidance on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations*. London, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- 27) Farber, L. *et al.* (2007). Unified compaction curve model for tensile strength of tablets made by roller compaction and direct compression. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 346 (2008), pp. 17-24.
- 28) Farrell, A., Higgins, K. e Kalivas, J. (2011). Updating a near-infrared multivariate calibration model formed with lab-prepared pharmaceutical tablet types to new tablet types in full production. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 61 (2012), pp. 114-121.

-
- 29) Févotte, G. *et al.*, (2004). Applications of NIR spectroscopy to monitoring and analyzing the solid state during industrial crystallization processes. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 273 (2004) pp. 159–169
- 30) Food and Drug Administration, 2004. *Guidance for Industry PAT — A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance*. [Em linha]. Disponível em <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070305.pdf> [Consultado em 24/05/2012]
- 31) Foss (2002). *A guide to Near-Infrared Spectroscopy Analysis of Industrial Manufacturing Processes*. Foss NIR Systems.
- 32) FOSS NIR Systems (2002) *A guide to Near-Infrared Spectroscopic Analysis of Industrial Manufacturing process*. Silver Spring U.S.A, FOSS NIR Systems.
- 33) FOSS NIR Systems (2008) *XDS Near-infrared Interactance. OptiProbe™ Analyzer*. FOSS NIR Systems Laurel, MD USA
- 34) FOSS NIR Systems (2011) *ProFoss™*. FOSS NIR Systems Laurel, MD USA.
- 35) Grohgan, H. *et al.* (2010). Towards a robust water content determination of freeze-dried samples by near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* N.º 676 (2010) 34-40.

-
- 36) Hartung, A. *et al.* (2011). Role of continuous moisture profile monitoring by inline NIR spectroscopy during fluid bed granulation of an Enalapril formulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2011, N.º 37(3), pp. 274-280.
- 37) Herkert, T., Prinz, H. e Kovar, K. (2000). One hundred percent online identity check of pharmaceutical products by near-infrared spectroscopy on the packaging line. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* N.º 51 (2001) pp. 9-16.
- 38) Herting, M. e Kleinebudde, P. (2007). Roll compaction/dry granulation: Effect of raw material particle size on granule and tablet properties. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 338 (2007), pp. 110-118.
- 39) Jamrógiewicz, M. (2012) Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology. *Jornal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. N.º 66 (2012) pp. 1-10.
- 40) Johannes, J. Moes *et al.* (2008). Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements, *International Journal of Pharmaceutics* N.º 357 (2008), pp. 108–118.
- 41) Kadam, S. *et al.* (2010). A Comparative Study of ATR-FTIR and FT-NIR Spectroscopy for In-Situ Concentration Monitoring during Batch Cooling Crystallization Processes. *Crystal Growth & Design*, Vol. 10, N.º. 6, 2010.

-
- 42) Kremer, D. (2006). A numerical investigation of air flow during tablet compression. *Chemical Engineering Science* N.º 61 (2006), pp. 7963-7978.
- 43) Kuny, T. *et al.* (2003) Non-destructive Dissolution Testing Correlation. *Dissolution Technologies*. Fevereiro 2003 pp. 22-28
- 44) Lee, M. *et al.* (2010). In line NIR quantification of film thickness on pharmaceutical pellets during a fluid bed coating process. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 403 (2011), pp. 66–72.
- 45) Lim, H. *et al.* (2011). Assessment of the critical factors affecting the porosity of roller compacted ribbons and the feasibility of using NIR chemical imaging to evaluate the porosity distribution. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 410 (2011), pp. 1–8.
- 46) Lopes, J., Alves, T. e Meneses, J. (2005). *Chemometric Process Analytical Technology (PAT) Applications in Bioprocess Engineering*. Cipan S.A..
- 47) Luypaert, J., Massart D. e Heyden, Y. (2006). Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta* N.º 72 (2007), pp. 865–883.
- 48) Mattes, R. *et al.* (2004). Monitoring Granulation Drying Using Near-Infrared Spectroscopy for In Situ Analysis of Residual Moisture and Methanol *Pharmaceutical Technology*, September 2004.

-
- 49) Mattes, R. *et al.* (2005). In-line Process Analysis of Residual Moisture in a Fluid Bed Granulator–Dryer Using NIR Spectroscopy. *Spectroscopy*, January 2005.
- 50) McCarthy, W. e Lowry, S. (2008). *Comparing the Performance of a Fiber Optic Probe to an Integrating Sphere*. Madison, WI, USA Thermo Fisher Scientific,
- 51) Moes, J. *et al.* (2008). Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements. *International Journal of Pharmaceutics* N.º 357 (2008), pp. 108-118.
- 52) Muteki, K. *et al.* (2011). De-risking Scale-up of a High Shear Wet Granulation Process Using Latent Variable Modeling and Near-Infrared Spectroscopy. *J Pharm Innov* N.º 6 (2011), pp. 142-156.
- 53) Naes, T. *et al.* (2002). *A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*. NIR Publications.
- 54) *Near-infrared spectroscopy / General information* (2012). Chapter 1119, United States Pharmacopoeia, capítulo 1119. USP34, pp. 649-654.
- 55) Otto, M. (1999). *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*. Wiley-VCH.

-
- 56) Parris, P. *et al* (2005). Monitoring API Drying Operations with NIR. *Spectroscopy* N.º 20 February 2005, pp 34 – 41.
- 57) Pasquini, C. (2003). Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 14, N.º 2, pp. 198-219.
- 58) Peinado, A. *et al.* (2010). Development, validation and transfer of a Near Infrared method to determine in-line the end point of a fluidised drying process for commercial production batches of an approved oral solid dose pharmaceutical product. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 54 (2011), pp. 13–20.
- 59) Porter, J. (2008). *Use of Diffuse Reflectance Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy to Confirm Blend Uniformity*. Rantoul, IL, USA Combe Laboratories.
- 60) Reich, G. (2005). Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* N.º 57 (2005), pp. 1109-1143.
- 61) Rodrigues, L. *et al.* (2008). The use of NIR as a multi-parametric in situ monitoring technique in filamentous fermentation systems. *Talanta* N.º 75 (2008) pp. 1356-1361.

-
- 62) Rosa, S. *et al.* (2008). Near-infrared reflectance spectroscopy as a process analytical technology tool in Ginkgo biloba extracts qualification. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 47 (2008), pp. 320-327.
- 63) Santos, P. (2009). *Aplicação da espectroscopia de infravermelhos próximo na avaliação de alguns atributos de qualidade em pêra “rocha” e maçã “gala”*. Tese de Doutoramento, Instituto Superior de Agronomia.
- 64) Siesler, H. *et al.* (2002). *Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications*. Weinheim, Wiley-VCH.
- 65) Silva, H., Rodrigues, M., e Eusébio, M. (2008). *Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR): fundamentos e aplicação na caracterização de materiais de construção*. Lisboa, LNEC.
- 66) Simões, R., (2008). *Potencialidades da Espectroscopia de infravermelho com Transformadas de Fourier na caracterização de aguardentes víquicas*. Tese de Doutoramento, Universidade de Aveiro.
- 67) Sistare, F., Berry, L. e Mojina C. (2004). Process analytical chemistry as a tool for green chemistry – Perspectives from an API plant. *Chemistry Today* - September 2004, pp. 34-35.
- 68) Souza, J. e Ferrão M. (2006). *Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de*

-
- potássio. Parte I: Dosagem por regressão multivariada. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 42, N.º 3, jul./set., 2006.
- 69) Sulub, Y., Konigsberger, M. e Cheney, J. (2011). Blend uniformity endpoint determination using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 55 (2011), pp. 429–434.
- 70) Thermo Fisher Scientific. (2007). *The Use of Near-Infrared (NIR) Spectroscopy for Raw Material Identification by a Contract Pharmaceutical Manufacturer*. Madison, USA, Thermo Fisher Scientific.
- 71) Thermo Fisher Scientific. (2010) *Thermo Scientific microPHAZIR RX*. Wilmington, Thermo Fisher Scientific
- 72) Vanarase, A., et al. (2010) Real-time monitoring of drug concentration in a continuous powder mixing process using NIR spectroscopy. *Chemical Engineering Science*. N.º 65 (2010) pp. 5728-573.
- 73) Wang, I, et al., (2011). Polymorph Transformation in Paracetamol Monitored by In-line NIR Spectroscopy During a Cooling Crystallization Process. *AAPS PharmSciTech*, Vol. 12, N.º. 2, June 2011.
- 74) Wang, Q., Decheng, M. e Higgins, J. (2006). Analytical Method Selection for Drug Product Dissolution Testing. *Dissolution Technologies* Agosto 2006 pp. 6-13.
- 75) White J. (1994). On-line moisture detection for a microwave vacuum dryer, *Pharmaceutical Research*. Vol. 11 (1994), pp. 728-732.

- 76) Wu, Y. *et al.* (2007). Fourier transform mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) pectroscopy for rapid quality assessment of Chinese medicine preparation Honghua Oil. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* N.º 46 (2008), pp. 498-504.