

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA PARA HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO EM SUSPENSÃO ORAL

JOÃO CÉSAR FERREIRA DE ARAÚJO¹
CRESCENCIO ANDRADE SILVA FILHO²
GUSTAVO LUIZ B.XAVIER CARDOS³
PRISCILLA RODRIGUES²

1. Farmacêutico responsável do Laboratório Farmacêutico do Recife,
2. Químico industrial do Laboratório Farmacêutico do Recife
3. Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.

Autor responsável: J.C.F. Araújo. E-mail: joaohav@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Atualmente, quando todos os caminhos levam à busca da qualidade total, torna-se indispensável conhecer perfeitamente cada fase de um processo produtivo. Segundo a "Farmacopéia Americana" 24 ed. a validação de métodos analíticos "é o processo pelo qual é estabelecido, por estudos de laboratório, que as características executadas do método satisfazem os requisitos para as aplicações analíticas praticadas". Em outras palavras, seria o processo pelo qual, parâmetros de méritos são determinados e avaliados, sendo estes importantes partes de um programa de garantia da qualidade.

Os órgãos regulamentadores exigem a validação, considerada um dos requisitos essenciais para qualidade dos medicamentos. O planejamento dos estudos de validação é um aspecto fundamental para garantir que os resultados obtidos reflitam a operação dos procedimentos analíticos e que o método forneça informações confiáveis. Embora existam diversos guias descrevendo a validação de métodos cromatográficos, comparativamente pouco se tem dito a respeito da validação de métodos não cromatográficos (Brittain, 1998).

Na análise titulométrica ou titulometria, o constituinte desejado é determinado, medindo-se a sua capacidade de reação frente a um reagente adequado usado, na forma de solução com concentração conhecida, denominado solução padrão ou solução titulante. Esta solução é adicionada progressivamente ao constituinte, até completar a capacidade de reação deste.

A quantidade do constituinte é encontrada em função do volume ou peso da solução padrão, gasto na titulação. A etapa considerada a mais crítica da titulação é a parte final, em que um sinal deve indicar que a capacidade de reação do constituinte esgotou-se. Esta etapa é denominada de ponto de equivalência ou ponto final teórico, e corresponde a adição do reagente titulante em quantidade exatamente equivalente a quantidade do constituinte originariamente presente.

Para facilitar a visualização do ponto de equivalência é adicionado ao sistema um reagente auxiliar denominado de indicador, capaz de produzir uma mudança de coloração muito próxima do ponto final da titulação (Basset, 1981). A titulometria é considerada um método de análise, simples, barato e rápido.

Algumas titulações requerem a adição de um volume medido de uma solução volumétrica em excesso da quantidade realmente necessária para reagir com a substância, para assim titular esse excesso com uma segunda solução volumétrica. Este processo constitui uma titulação indireta, sendo também conhecida como titulação pelo resto (Farmacopéia Brasileira 3. ed., 1997).

Nesse contexto, no presente trabalho, propõem-se a validação da metodologia analítica de doseamento por titulação indireta do medicamento similar Hidroxizol® (hidróxido de alumínio 62mg/mL) suspensão oral, produzido no LAFARE, Laboratório Farmacêutico do Recife.

O hidróxido de alumínio suspensão oral é um composto que tem a finalidade de neutralizar o ácido produzido pelo estômago. Suas propriedades antiácidas e a adequação terapêutica são muito influenciadas pelo cátion metálico.

Os antiácidos variam na intensidade com que são absorvidos. Os que contêm alumínio, ou qualquer outro cátion metálico bivalente ou trivalente são menos completamente absorvidos do que antiácidos que contêm cátions monovalentes, como o NaHCO_3 , por exemplo.

Os antiácidos insolúveis, que não reagem, passam pelo intestino e são eliminados nas fezes. Quando os produtos dos antiácidos que reagiram entram no intestino, alguns cátions são absorvidos. Nos indivíduos com função renal normal, os modestos acúmulos subseqüentes de alumínio (Al^{3+}) não causam problemas.

O hidróxido de alumínio suspensão oral é indicado em quadros que produzem hiperacidez gástrica. Seu uso é contra-indicado em gestantes no primeiro trimestre da gravidez e em pacientes com hipofosfatemia, devido à propriedade dos sais de alumínio ligarem-se ao fosfato, depletando-o.

Tabela 1. Resultados da Especificidade.

Produto	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
Hidroxizol	63	101	63	101	63	102	63	101	0,29	0,46	0,45	0,45
Placebo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 2. Resultados da robustez variando o parâmetro: marca do reagente do sal EDTA

Marca do sal do reagente EDTA	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
Vetec	64	103	63	102	64	103	63	102	0,28	0,46	0,45	0,45
Reagen	63	101	63	102	64	102	63	102	0,28	0,45	0,45	0,44

Também é contra-indicado em pacientes com sintomas de apendicite, uma vez que este medicamento pode aumentar o risco de perfuração, por efeito constipante.

MATERIAL E MÉTODOS

A preparação dos reagentes envolvidos na metodologia de análise foi feita exclusivamente para este fim. Foram utilizadas vidrarias previamente calibradas e reagentes preparados conforme metodologias farmacopéicas, de forma a minimizar possíveis variáveis que poderiam influenciar na confiabilidade do método empregado.

Desta forma, determinou-se que o mesmo analista seria o responsável pela análise das amostras a serem efetuadas, (exceto quando do estudo de precisão), bem como da preparação de todos os reagentes que foram necessários.

Desenvolvimento do Método de Análise

O método utilizado de titulação indireta, foi adaptado da metodologia analítica de doseamento do gel de hidróxido de alumínio (matéria-prima) presente na USP (The United States Pharmacopeia) Ed 23.

RESULTADOS

Segundo a Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003, uma metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros: especificidade e seletividade, linearidade, intervalo de variação, precisão, limite de detecção/sensibilidade, limite de quantificação, exatidão e robustez.

Especificidade e Seletividade

A especificidade de um procedimento analítico representa sua capacidade de avaliar de forma inequívoca a substância em exame na presença de componentes que poderiam interferir com a sua determinação numa mistura complexa (Brittain, 1998). Pode ser demonstrada comparando os resultados dos testes de amostras contendo impurezas, produtos de degradação, ou ainda através do placebo,

com valores encontrados após análise da amostra sem os interferentes.

O ensaio foi determinado pela análise das amostras em triplicata de um placebo desenvolvido em lote de bancada (500mL) exclusivamente para este fim, comparado à análise das amostras também em triplicata do padrão de trabalho (hidróxido de alumínio 62mg/mL Suspensão Oral – Hidroxizol®).

Os resultados obtidos com o parâmetro seletividade/especificidade estão expostos na tabela 1.

Os resultados da especificidade apresentados na tabela 01 comprovam que os excipientes não interferem no doseamento por titulação do hidróxido de alumínio 62mg/mL suspensão oral.

Robustez

A robustez do método é a medida da capacidade que o método apresenta em se manter inalterável através de pequenas, mas deliberadas modificações em seus parâmetros e fornecer indicações de segurança durante o uso normal (USP/NF Ed 24, 1999).

O ensaio foi determinado a partir da variação do parâmetro: marca do fabricante do reagente do sal EDTA (Vetec® x Reagen®).

Foram realizadas análises de amostras em triplicata na concentração de 62mg/mL (100%) para o parâmetro variado da robustez.

Os resultados obtidos com o parâmetro robustez variando a marca do sal do reagente EDTA estão demonstrados na tabela 02. Foi realizado o tratamento estatístico por teste t de student, demonstrado na tabela 03, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas a partir das diferentes marcas do sal utilizado para a preparação do reagente EDTA 0,05M (SV).

Tabela 3. Teste t de student entre as diferentes marcas do sal do reagente EDTA.

t calculado	t tabelado
1,067	2,776

O método de doseamento por análise titulométrica é robusto, pois de acordo com os resultados obtidos, como o *t* calculado é menor do que o *t* tabelado, podemos afirmar com 95% de confiança que não há diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros avaliados. As variações encontradas refletem erros aleatórios durante o procedimento analítico, os quais não interferem no resultado final.

Linearidade:

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (Resolução-RE n° 899, de 29 de maio de 2003).

O presente ensaio foi realizado através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com cinco pontos correspondentes às concentrações de 49,6mg/mL, 55,8mg/mL, 62mg/mL, 68,2mg/mL e 74,4mg/mL de hidróxido de alumínio. O coeficiente de correlação foi obtido através da média das três curvas autênticas.

Os resultados do estudo de linearidade estão expostos na tabela 04, assim como o estudo dos resultados das análises de variância apresenta-se na tabela 05.

Os resultados dos pontos das três curvas de linearidade foram plotados em um único gráfico (linearidade final), onde o mesmo encontra-se apresentado na figura 01. O eixo das ordenadas (*y*) representa o volume de EDTA complexado com o alumínio e o eixo das abscissas (*x*) representa as concentrações do hidróxido de alumínio suspensão oral empregadas. Pelo método dos mínimos quadrados, obteve-se a equação da reta, onde:

$$Y = 0,2043x + 0,236$$

A análise da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação

(R^2) muito próximo da unidade (0,9995), o que comprova a linearidade do método.

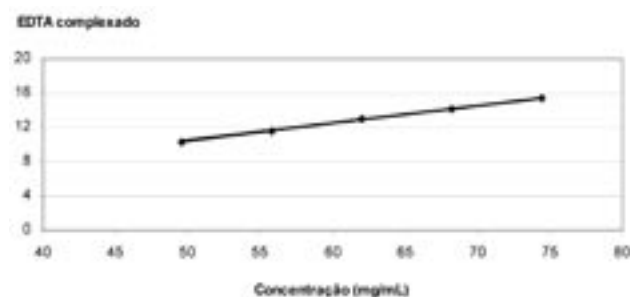


Figura 1. Linearidade do método verificando a regressão da média de três curvas autênticas de calibração.

$$y = 0,2043x + 0,236$$

$$r^2 = 0,999$$

Através da análise de variância (ANOVA) representada na tabela 05, podemos testar a validação do modelo linear e a significância estatística da curva ajustada. Podemos verificar se houve falta de ajuste (*F*) através da razão entre a média quadrática devido à falta de ajuste e a média quadrática devido ao erro puro.

$$F = MQ_{faj} / Mq_{erp} = 0,0074 / 0,0027 = 2,7917$$

Esta relação apresentou um valor de *F* (2,79167) abaixo do valor crítico tabelado (3,7083), o que significa que podemos afirmar com um intervalo de 95% de confiança que o modelo linear está bem ajustado na faixa de concentração estudada (Pimentel & Neto, 1996).

A reta de regressão linear apresentou um $R^2 = 0,99898$, calculado a partir da relação entre a soma quadrática devido à regressão e a soma quadrática total.

$$R^2 = SQ_{reg} / SQ_{tot} = 48,1333 / 48,1823 = 0,999$$

Tabela 4. Resultados da Linearidade

Concentrações (mg/mL)	Volume de EDTA complexado com o Alumínio (mL)			Média das curvas (mg/mL)	Desv. Padrão	CV(%)
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
49,6	10,3	10,4	10,35	10,35	0,05	0,483
55,8	11,7	11,6	11,5	11,6	0,1	0,862
62,0	12,95	12,95	12,95	12,95	0,00	0,00
68,2	14,2	14,2	14,2	14,2	0,00	0,00
74,4	15,35	15,4	15,4	15,38	0,028	0,187

Tabela 5. Resultados da Análise de Variância da Linearidade.

Fonte	SQ	GL	MQ	F	F-crítico
Modelo (reg)	48,133	1	48,133	12770	4,6672
Residual (res)	0,049	13	0,0038	Curva Linear	
Falta de ajuste (faj)	0,022	3	0,0074	2,792	3,7083
Erro puro (erp)	0,027	10	0,0027	Não há falta de ajuste	
Total (tot)	48,18	14	3,442		

O valor máximo que R^2 poderia assumir pode ser dado pela expressão:

$$R^2_{\text{máximo}} = \frac{SQ_{\text{tot}} - SQ_{\text{erp}}}{SQ_{\text{tot}}} = \frac{48,1823 - 0,0267}{48,1823}$$

$$R^2_{\text{máximo}} = 0,99945$$

Desta forma, o gráfico de regressão linear (Figura 2) apresentou uma reta com um $R^2_{\text{explicável}} = 0,99954$ calculado a partir da relação:

$$R^2_{\text{explicável}} = R^2 / R^2_{\text{máximo}} = 0,99898 / 0,99945 = 0,99954$$

Como a capacidade explicativa de um modelo pode ir de 0 (zero) até no máximo (1), $0 \leq R^2 \leq 1$, quanto mais próximo de 1 (um) estiver o R^2 , melhor terá sido o ajuste do modelo às respostas observadas. Portanto, como o $R^2_{\text{explicável}} = 0,99954$, o modelo pode explicar 99,954% da variância máxima, o que é considerado um valor satisfatório, restando 0,046% para ser explicado pelos resíduos.

Intervalo de Variação:

O intervalo especificado é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e é estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado (Resolução-RE n° 899, de 29 de maio de 2003).

Segundo a resolução acima citada, para se determinar quantitativamente o analito em uma forma farmacêutica, o intervalo a ser tomado deve compreender a faixa de pelo menos 80 a 120% da concentração teórica do teste.

Precisão:

A precisão de um procedimento analítico representa o grau de concordância entre os resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado repetidamente a múltiplas amostragens de uma mesma amostra homogeneia, em idênticas condições de testes. A precisão é geralmente expressa pelo desvio padrão ou desvio padrão relativo dos resultados obtidos (Brittain, 1998).

Pode ser avaliada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetibilidade (precisão intra-ensaio) é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. A precisão intermediária (precisão inter-ensaio) corresponde a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, porém obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes.

Para este trabalho, a precisão foi determinada através dos métodos de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi determinada pela análise de seis amostras individuais, ou seja a partir da análises de amostras oriundas de seis soluções-mãe diferentes. A precisão intermediária foi determinada em triplicata, em dois dias, por dois analistas diferentes.

Repetibilidade:

Os resultados obtidos com o parâmetro repetibilidade estão expostos na tabela 06.

Tabela 6. Resultados da Repetibilidade.

Amostras	Concentração (mg/mL)	Teor (%)
01	63,62	102,61
02	62,88	101,43
03	64,10	103,39
04	62,15	100,25
05	62,64	101,03
06	62,15	100,25
Média	62,92	101,49
Desvio Padrão	0,793	1,280
CV (%)	1,261	1,261

Observando-se os resultados expostos na tabela 06, podemos concluir que o método tem uma boa repetibilidade, visto que o coeficiente de variação (CV) é inferior ao especificado pela Resolução-RE n° 899, de 29 de maio de 2003, a qual especifica o limite do coeficiente de variação em 5,0%.

Tabela 7. Resultados da precisão Intermediária do analito a 100% (62mg/mL) no primeiro dia.

Analista	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
1	62,15	100,25	62,40	100,64	62,64	101,04	62,39	100,64	0,245	0,395	0,392	0,392
2	63,13	101,82	62,64	101,04	62,15	100,25	62,64	101,04	0,490	0,785	0,782	0,777

Tabela 8. Resultados da precisão Intermediária do analito a 100% (62mg/mL) no segundo dia.

Analista	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
1	62,64	101,04	62,40	100,64	62,88	101,43	62,64	101,04	0,240	0,395	0,383	0,391
2	63,13	101,82	63,13	101,82	62,64	101,04	62,98	101,58	0,282	0,450	0,449	0,443

Precisão Intermediária:

Os resultados obtidos com o parâmetro precisão intermediária estão expostos nas tabelas 07 e 08. Foi realizado o tratamento estatístico por teste t de student, demonstrado nas tabelas 09, 10, 11 e 12, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas entre os analistas no primeiro e no segundo dia, assim como entre o mesmo analista nos diferentes dias.

Tabela 9. Teste t de student entre analistas 1 e 2 no primeiro dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
0,806	2,776

Tabela 10. teste t de student entre analistas 1 e 2 no segundo dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,590	2,776

Tabela 11. Teste t de student do analista 1 entre o 1º e 2º dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,279	2,776

Tabela 12. Teste t de student do analista 2 entre o 1º e 2º dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,033	2,776

Conforme observado nos resultados das tabelas 09, 10, 11 e 12, como o *t* calculado é menor do que o *t* tabelado, podemos afirmar com 95% de confiança que não há diferença estatisticamente significativa entre dias e analistas. As pequenas variações encontradas demonstradas nas tabelas 07 e 08, refletem erros aleatórios durante o procedimento analítico, os quais se enquadram dentro dos limites especificados.

O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5% (Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003).

Tabela 13. Resumo estatístico das regressões das três curvas de calibração.

Coefficiente	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Média	Desv. Padrão
Angular	0,2032	0,2032	0,2065	0,2043	0,00190
Linear	0,3	0,31	0,08	0,236	0,13

Limite de detecção e Limite de Quantificação

Uma vez determinada a linearidade do método, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) podem ser mensurados. Podemos resumir a estatística das regressões das três curvas nos números que representam seus coeficientes angulares e lineares, e assim utiliza-los para os cálculos de determinação dos limites. A tabela 13 mostra o resumo estatístico das regressões das três curvas autênticas de calibração.

$$LD = 3 \times DP / \bar{\alpha}$$

Onde: DP é o desvio padrão médio dos coeficientes lineares e $\bar{\alpha}$ a média dos coeficientes angulares.

$$LD = 3 \times 0,13 / 0,2043 \cong 1,909 \text{ mg/mL.}$$

$$LQ = 10 \times DP / \bar{\alpha}$$

Onde: DP é o desvio padrão médio dos coeficientes lineares e $\bar{\alpha}$ a média dos coeficientes angulares.

$$LQ = 10 \times 0,13 / 0,2043 \cong 6,366 \text{ mg/mL.}$$

Os limites de detecção e quantificação obtidos de acordo com o tratamento descrito mostram que o método apresentou uma boa sensibilidade ao hidróxido de alumínio, onde se é possível detectar um mínimo de aproximadamente 3% de hidróxido de alumínio presente em uma forma farmacêutica suspensão oral, assim como é possível quantificar com precisão e exatidão aceitáveis um mínimo de aproximadamente 10% desta substância na mesma forma farmacêutica pelo método empregado.

Exatidão:

A exatidão do método representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados e um aceito como referência (Swart & Krull, 1998).

A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo, sendo verificada a partir de 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, em triplicata cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003).

$$\text{Exatidão} = \text{concentração média} / \text{concentração teórica} \times 100$$

A exatidão foi obtida a partir de análises de amostras em concentrações conhecidas de hidróxido de alumínio, em triplicata, equivalentes a 50, 100 e 150% (baixa, média e alta) da concentração teórica analisada.

Os resultados obtidos com o parâmetro exatidão estão expostos na tabela. Foi realizado o tratamento esta-

Tabela 14. Resultados da Exatidão.

Análises	Con.Teórica	31 (mg/mL)	50(%)	62(mg/mL)	100(%)	93(mg/mL)	150(%)
Amostra 1		31,59	50,95	64,20	103,55	93,94	151,51
Amostra2		32,51	52,44	62,74	101,19	94,91	153,09
Amostra 3		32,02	51,66	63,71	102,76	93,84	151,36
Média		32,04	51,68	63,55	102,5	94,23	151,98
Desv. Padrão		0,460	0,745	0,743	1,201	0,591	0,958
CV (%)		1,436	1,441	1,169	1,171	0,627	0,630

tístico por teste t de student, demonstrado na tabela 14, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas e os valores teóricos.

Tabela 15. Teste t de student para a exatidão para as concentrações equivalentes a 50, 100 e 150% da concentração teórica.

Concentração teórica	t calculado	t tabelado
50%	3,904	4,303
100%	3,604	4,303
150%	3,578	4,303

De acordo com o tratamento estatístico do teste t de student, como o t calculado é menor do que o t tabelado para as concentrações equivalentes a 50, 100 e 150% da concentração teórica, não há evidência de erro sistemático no método analítico, podendo-se afirmar que o método apresenta 95% de confiança segundo o tratamento estatístico empregado, comprovando-se assim sua exatidão.

CONCLUSÕES

O método foi validado conforme a legislação em vigor, onde os resultados obtidos mostram que o mesmo atende aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação e Controle, pois apresenta especificidade, robustez, repetibilidade, precisão, linearidade, exatidão conferindo a confiabilidade exigida para um método analítico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTÔNIO, I. R. O que significa validação para a indústria farmacêutica?. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 19, p. 45-47, ano 4, set./out. 2000.
- ANVISA, Agência nacional de Vigilância Sanitária, Resolução-RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília. DOU de 14/08/2003.
- ANVISA, Agência nacional de Vigilância Sanitária, Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília. DOU de 02/06/2003.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR ISO 6023, ago. 2000.
- ATHAIDE, A. Validação comprova e documenta qualidade dos produtos e equipamentos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, p.16-22, maio/jun. 2000.
- BASSET, J.; DENNEY, R. C.; JEFFERY, G. H.; MENDHAM, J. **Análise inorgânica quantitativa Vogel**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981.
- BRITAIN, H. G. Validação de Métodos Analíticos Não Cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, v.2,p.4-9, Ed. Brasileira, junho. 1998.
- FARMACOPÉIA brasileira**. 3. ed. São Paulo: Andrei, 1977, p. 1036-1037.
- LABAN, F. Validação dos processos de limpeza. Tradução de J. P. Herlin. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 1, p. 18-22, set./out. 1997.
- LAFEPE**. Laboratório Farmacêutico de Pernambuco. Memento Terapêutico. Recife, maio 2000. 240 p. 1ª ed.
- MORETTO, L. D.; SHIB M. A era da validação. **Pharmaceutical Technology**, São Paulo, v.4, n.4, p.44-48, ago. 2000.
- NICOLÓSI, M. Validação de métodos analíticos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 54, p. 12-21, ano 6, out. 2003.
- PIMENTEL, M. F. & BARROS NETO, B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova*. v. 19, n. 3, p. 268-277, 1996.
- SWARTZ, M. R. & KRULL, I. S. Validação de Métodos Cromatográficos, **Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 1, p. 12-20, 1998.
- UNITED States pharmacopeia (USP/NF)** 23. ed. Rockville U.S.: Pharmacopeial Convention, 1994. p. 66.
- UNITED States pharmacopeia (USP/NF)** 24. ed. Rockville U.S.: Pharmacopeial Convention, 1999. p. 2149-2163.
- VALENTINI, Sóstenes R. **Atributos da validação da metodologia analítica do captopril num programa de garantia de qualidade**. Florianópolis, 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2002.
- VENERANDA, N. Métodos analíticos exigem validação específica. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 65, p. 18-23, ano 4, set., 2004.