



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

PÓS- GRADUAÇÃO EM ANÁLISE INSTRUMENTAL

ALINE NAOMI YAMASHITA

**ADEQUABILIDADE DE UM METODO ANALITICO POR
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC) PARA
DOSEAMENTO DE LOSARTANA POTÁSSICA 50 E 100 MG EM
COMPRIMIDO REVESTIDO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO

TOLEDO

2019

ALINE NAOMI YAMASHITA

**ADEQUABILIDADE DE UM METODO
ANALITICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA
DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC) PARA
DOSEAMENTO DE LOSARTANA POTÁSSICA
50 E 100 MG EM COMPRIMIDO REVESTIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização apresentado ao Curso de Pós-graduação em Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Toledo, como requisito à obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental.

Orientador: Prof. Dr. Renato Eising

**TOLEDO
2019**

ALINE NAOMI YAMASHITA

**ADEQUABILIDADE DE UM METODO
ANALITICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA
DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC) PARA
DOSEAMENTO DE LOSARTANA POTÁSSICA
50 E 100 MG EM COMPRIMIDO REVESTIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização apresentado ao Curso de Pós-graduação em Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Toledo, como requisito à obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Renato Eising
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Mauricio Ferreira Rosa
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Dr^a. Caroline Mariana de Aguiar.
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Toledo, 6 de Junho de 2019.

YAMASHITA, Aline Naomi. **Adequabilidade de um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para doseamento de losartana potássica 50 e 100 mg em comprimido revestido.** (49 fls). Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização – Universidade Tecnológica Federal do Paraná , Toledo, 2019.

RESUMO

Métodos analíticos compêndiais não requerem validação, porém é necessário existir evidências documentadas de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório. O método analítico de doseamento da Losartana Potássica comprimidos está descrito na Farmacopeia Americana. A Losartana Potássica é um dos medicamentos mais vendidos para tratar a hipertensão arterial sistêmica, sendo uma doença que ataca 1 em cada 4 pessoas adultas. O estudo teve como objetivo demonstrar a adequabilidade do método compendial, por meio da comprovação de que este é capaz de separar, identificar e quantificar o ativo (Losartana Potássica) na presença de potenciais impurezas e produtos de degradação (seletividade); de que o método é preciso e exato na faixa de quantificação (precisão e exatidão); e de que o método é robusto para pequenas e deliberadas alterações que podem ocorrer na rotina laboratorial. Os resultados dos testes atendem aos critérios de aceitabilidade, comprovando que o método analítico é seletivo, preciso, exato e robusto, portanto considera-se o método validado para a finalidade que se propõe.

Palavras-chave: Losartana Potássica; Adequabilidade; Seletividade; Precisão; Exatidão; Robustez.

YAMASHITA, Aline Naomi. **Suitability of an analytical method by high performance liquid chromatography (HPLC) for dosage of losartan potassium 50 and 100 mg in coated tablet.**(49 fls). Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização – Universidade Tecnológica Federal do Paraná , Toledo, 2019.

ABSTRACT

Pharmacopeia analytic methods do not require validation, however, there must be documented evidence of their suitability under the laboratory operating conditions. The analytical method of dosing of Losartan Potassium tablets is described in the American Pharmacopoeia. Losartan Potassium is one of the best selling drugs to treat systemic arterial hypertension, being a disease that attacks 1 in 4 adults. The objective of this study was to demonstrate the suitability of the compendial method by proving that it is capable of separating, identifying and quantifying the active (Losartan Potassium) in the presence of potential impurities and degradation products (selectivity); that the method is precise and exact in the quantification range (precision and accuracy); and that the method is robust for small and deliberate changes that may occur in the laboratory routine. The results of the tests meet the criteria of acceptability, proving that the analytical method is selective, precise, exact and robust, therefore it is considered the validated method for the purpose that is proposed.

Keywords: Losartan Potassium; Suitability; Selectivity; Precision; Accuracy; Robustness.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AOAC – Association of official analytical chemists

AVC – Acidente vascular cerebral

BRA – Bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DPR – Desvio padrão relativo

ECA – Enzima conversora da angitensina

ERP – Erro relativo porcentual

Fc – Fator de cauda

FeCl₃ – Cloreto férrico

g – gramas

HCl – Ácido clorídrico

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

HPLC – High performance liquid chromatography

Hz – Hertz

IFA – Insumo farmacêutico ativo

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

L – litros

m – metros

NaOH – Hidróxido de sódio

PA – Produto acabado

PTFE – Politetrafluoretileno

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

USP – United States Pharmacopeia

UV/Vis – Ultra – violeta/visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural da Losartana Potássica.....	10
Figura 2: Cromatograma das soluções controles-químicos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.....	29
Figura 3: Cromatograma das soluções controles-oxidativos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.....	31
Figura 4: Cromatograma das soluções controles-físicos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.....	32
Figura 5: Sobreposição dos cromatograma das amostras de Losartana Potássica e placebo submetidos a robustez de filtro. (A) placebo de 50 mg; (B) placebo de 100 mg;(C)amostra de 50 mg de Losartana Potássica – IPCA;(D) amostra de 100 mg de Losartana Potássica – IPCA.....	37
Figura 6: Sobreposição dos cromatogramas submetidos à robustez de filtro. (A) Diluente; (B) Adequação do sistema; (C) Padrão.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Amostras utilizadas na adequabilidade.....	16
Tabela 2: Padrões utilizados na adequabilidade.....	17
Tabela 3: Gradiente.....	18
Tabela 4: Quantidade de amostras transferida no preparo das soluções teste controle.....	23
Tabela 5: Quantidade de solução estressante, condição de estresse e o tempo de exposição da Losartana Potássica.....	23
Tabela 6: Massa de placebo e quantidade transferida na solução exatidão.....	26
Tabela 7: Filtros e volumes de descartes.....	27
Tabela 8: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses químicos: ácido, básico e íons metálicos.....	28
Tabela 9: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses químicos: peróxido de hidrogênio.....	30
Tabela 10: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses físicos: fotolítico, térmico e climático.....	31
Tabela 11: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 1º dia.....	33
Tabela 12: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 2º dia.....	33
Tabela 13: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 1º e 2º dia.....	34
Tabela 14: Exatidão Losartana Potássica para concentração de comprimidos de 50 mg.....	35
Tabela 15: Exatidão Losartana Potássica para concentração de comprimidos de 100 mg.....	35
Tabela 16: Avaliação da robustez de filtro para as soluções: padrão e amostra de 50 e 100 mg.....	36
Tabela 17: Resultados da estabilidade da solução padrão de Losartana Potássica em função do tempo.....	38
Tabela 18: Resultados da variação do teor médio das soluções amostras de Losartana Potássica de 50 e 100 mg em função do tempo – 1º etapa.....	39
Tabela 19: Análise de ERP entre os teores da 1 e 2 etapa, quantificação das amostras da 2 etapa com a curva da 1 etapa e a quantificação das amostras da 1 etapa com a curva da 2 etapa.....	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS	11
3 JUSTIFICATIVA	12
4 REFERENCIAL TEORICO	13
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
7 CONCLUSÃO	41
8 REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE – CROMATOGRAMAS DA SELETIVIDADE.....	44

1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica é uma doença crônica, caracterizada pela pressão arterial 140 por 90 mmHg. Os medicamentos anti-hipertensivos são classificados de acordo com seus locais ou mecanismos de ação. Entre os anti-hipertensivos disponíveis, tem destaque os bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II (BRA), devido a capacidade de proteção dos órgãos-alvo e apresentam baixa incidência de eventos adversos ².

A Losartana Potássica foi um dos primeiros BRA a ser comercializados, sendo que em 2014 foi o fármaco mais vendido no Brasil, com vendas ultrapassando R\$ 515 milhões de reais ³. Possui fórmula molecular $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, conforme visto na Figura 1 ⁴.

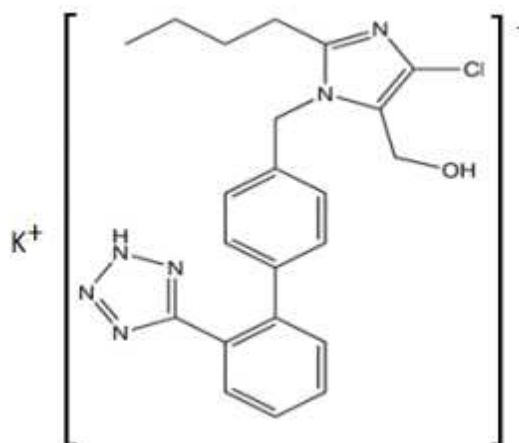


Figura 1: Fórmula estrutural da Losartana Potássica.

De acordo com a RDC nº17 de 16 de abril de 2010, métodos analíticos compêndiais não requerem validação, porém antes da sua implementação, deve ser feito um estudo documentado de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório ¹.

Entre as técnicas utilizadas para a análise de doseamento, a CLAE se destaca. Considerada uma técnica de separação, possui grande capacidade de separar e quantificar misturas com um grande número de substâncias similares em pouco tempo, com alta resolução, eficiência e detectabilidade ^{5,6}.

2 OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivo especificar as diretrizes para a adequabilidade da metodologia analítica de doseamento de Losartana Potássica 50 e 100 mg comprimido revestido, descrito na monografia da Farmacopeia Americana – USP 41.

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Garantir através de estudos experimentais que o método atende aos parâmetros analíticos estabelecidos, assegurando assim a confiabilidade dos resultados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar que o método é capaz de separar, identificar e quantificar o ativo (Losartana Potássica) na presença de suas potenciais impurezas e produtos de degradação (seletividade);
- Verificar que o método é preciso e exato na faixa de quantificação (precisão e exatidão);
- Verificar que o método é robusto para pequenas e deliberadas alterações que podem ocorrer na rotina laboratorial (robustez).
- Verificar a estabilidade das soluções padrões e amostras.

3 JUSTIFICATIVA

Métodos analíticos compêndiais não requerem validação, conforme parágrafo único do artigo 209 da RDC nº 17 de 16 de abril de 2010. Entretanto antes da sua implementação, devem existir evidências documentadas de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório¹.

Conforme exigido no artigo 8º da RDC nº166 de 24 de julho de 2017, a adequabilidade do método compendial deve ser verificada por meio da comprovação de seletividade, precisão, exatidão e robustez⁷.

Como a Losartana Potássica é um dos medicamentos mais vendidos para o tratamento de hipertensão arterial sistêmica no Brasil, é necessário assegurar a confiabilidade dos resultados, através de uma adequabilidade. Dessa forma utilizam-se estudos experimentais para garantir que a metodologia analítica atende aos parâmetros estabelecidos, de seletividade, precisão, exatidão e robustez^{2,3}.

4 REFERENCIAL TEORICO

4.1 Losartana Potássica.

A hipertensão arterial sistêmica é uma doença crônica, caracterizada pela pressão arterial 140 por 90 mmHg, acomete uma em cada 4 pessoas adultas. Ela ataca os vasos, coração, rins e cérebro, podendo entupir ou romper os vasos causando infartos quando é no coração, AVC quando é no cérebro e até paralisação dos órgãos se for nos rins. Os medicamentos anti-hipertensivos são classificados de acordo com seus locais ou mecanismos de ação. Entre os anti-hipertensivos disponíveis, tem destaque os bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II (BRA), devido a capacidade de proteção dos órgãos-alvo e apresentam baixa incidência de eventos adversos ⁸.

A Losartana Potássica é um bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II, agindo no sistema renina-angiotensina. Quando ocorre a diminuição do volume sanguíneo efetivo, a renina é liberada pelo aparelho justaglomerular (nos rins). No sangue, a renina é responsável pela conversão do angiotensinogênio (liberado pelo fígado) em angiotensina I, que por sua vez é convertida a angiotensina II quando entra em contato com a enzima conversora da angiotensina (ECA)^{9,10}.

A angiotensina II liga-se, preferencialmente, ao receptor de alta afinidade AT1, estimulando o córtex adrenal a sintetizar e secretar aldosterona e com isso, diminuir a excreção de sódio, aumentar a excreção de potássio e portanto fazendo com que a pressão arterial aumente. A Losartana Potássica age como um antagonista ao receptor AT1 da angiotensina II, ligando-se de forma seletiva e competitiva a este receptor, bloqueando a ligação da angiotensina e conseqüentemente, neutralizando os efeitos da aldosterona ^{9,10,11}.

A Losartana Potássica possui peso molecular de 461,0g/mol, sendo um pó cristalino branco ou quase branco. Um pKa de 5,85, sendo praticamente insolúvel em água, levemente solúvel em acetato de etila, acetato de butila e ciclohexano, e solúvel em metanol ⁴.

4.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

A CLAE é considerada uma técnica de separação, possui grande capacidade de separar e quantificar misturas com um grande número de substâncias similares em pouco tempo, com alta resolução, eficiência e detectabilidade. Devido a sua grande versatilidade é uma das técnicas mais utilizadas por indústrias farmacêuticas na Pesquisa & Desenvolvimento e no controle de qualidade ^{5,6}.

O princípio fundamental é a migração diferencial dos componentes de uma mistura, devido a diferentes interações entre a fase móvel e a fase estacionária. Na Cromatografia Líquida de alta eficiência, a fase móvel é líquida e a fase estacionária é formada por pequenas partículas empacotadas sob alta pressão nas colunas, sendo necessário o uso de uma bomba de alta pressão para a eluição da fase móvel. A maioria das análises são em fase reversa e utilizam colunas com grupos octadecil e octil quimicamente ligados (C18 e C8, respectivamente). Pode ser uma técnica qualitativa ou quantitativa, que utiliza separação por partição, adsorção, troca iônica, entre outros ⁶.

Um cromatógrafo é composto por reservatório de Fase móvel, degaseificador, bomba de alta pressão, injetor, forno (onde fica a coluna), o detector e um computador para coleta de dados. Os detectores mais frequentes são os que possuem lâmpadas nas faixas dos comprimentos de onda ultra-violeta/visível. Um detector de arranjo diodo é capaz de quantificar o analito em mais de um comprimento de onda, mostrando a homogeneidade espectral do pico de interesse, comprovando que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente. Os principais parâmetros utilizados para verificar se um sistema está válido é a resolução entre dois picos, fator de cauda e número de pratos teóricos ⁶.

4.3 Adequabilidade.

Os métodos analíticos compendiais, como o descrito na Farmacopeia Americana – USP 41, não requerem validação. Porém deve ser feita uma adequabilidade nas condições operacionais do laboratório, conforme exigido no artigo 8º da RDC nº166 de 24 de Julho de 2017, a qual é uma semi validação, visto que só requerem alguns parâmetros abrangendo: seletividade, precisão, exatidão e robustez ⁷.

Na seletividade é avaliado se o método sofre algum tipo de interferência em relação à presença de substâncias, tais como excipientes, impurezas, produtos de degradação que podem influenciar na determinação do analito. Utilizando o software Empower[®] na aquisição de dados de um cromatógrafo com arranjo de diodos, é possível avaliar a homogeneidade espectral e a pureza de pico¹³. A avaliação da pureza de pico é devido a possibilidade de uma coeluição de alguma impureza junto com o ativo, o que acarretaria na não-detecção dessa impureza, dessa forma, a pureza de pico serve para demonstrar que o pico cromatográfico é atribuído a apenas um componente. Na robustez é avaliado se o método resiste a pequenas e determinadas variações que podem ocorrer na rotina laboratorial^{7,12}.

Apesar de serem confundidos, a precisão e a exatidão são diferentes. A precisão avalia a proximidade dos resultados entre várias medidas avaliadas na mesma amostra. É dividida entre repetibilidade, que avalia a proximidade entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista, e a precisão intermediária que avalia a proximidade entre os resultados do mesmo laboratório mas realizados em dias diferentes e com outro analista. Já a exatidão de um método analítico é a concordância entre o valor real do analito na amostra em relação ao valor teórico. São avaliados em relação a concentração de trabalho, abrangendo as faixas baixa, média e alta (80%, 100% e 120%)^{7,12}.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

As amostras de Losartana Potássica foram fornecidas pela empresa Prati Donaduzzi, conforme apresentado na Tabela 1. A Tabela 2 mostra os padrões utilizados na adequabilidade.

Tabela 1: Amostras utilizadas na adequabilidade.

Amostra	Fabricante	Lote	Validade
Losartana Potássica Pó Matéria-prima	Zhejiang Tianyu Pharmaceutical Co.Ltd	1036052	04/2021
Losartana Potássica Pó Matéria-prima	IPCA Laboratories Limited	1031412	04/2023
Losartana Potássica 50 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi	18I79J	09/2020
Losartana Potássica 100 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi	18E18G	05/2020
Losartana Potássica 50 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi	18I976	09/2020
Losartana Potássica 100 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi	18A32E	01/2020
Placebo 50 mg	Prati Donaduzzi	201186/PLES.01.V03	03/2020
Placebo 100 mg	Prati Donaduzzi	201207/PLES.01.V09	03/2020

Tabela 2: Padrões utilizados na adequabilidade.

Insumo	Procedência	Lote	Pureza	Validade
Losartan Potassium	British Pharmacopeia	3077	99,5	Vigente

5.2 METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DOSEAMENTO

- Técnica

CLAE por fase-reversa com detecção por absorção molecular na região do ultravioleta/visível (HPLC – UV/Vis), CL065 com validade de 11/2019.

- Sistema cromatográfico

O gradiente utilizado pela fase móvel está descrito conforme Tabela 3, com fluxo de 1,0 mLmin⁻¹. O volume de injeção foi de 10 µL, foi utilizada uma coluna Waters Symmetry C8 150 mm x 3,9 mm x 5,0µm (número de série – 02293813623893). A temperatura da coluna foi desligada e deixada em temperatura ambiente. O comprimento de onda utilizada foi de 250 nm.

Tabela 3: Gradiente utilizado no doseamento de Losartana Potássica.

Tempo (min)	Acetonitrila e tampão fosfato pH 7,0 (15:85) (%)	Acetonitrila (%)
0 – 10	80 → 40	20 → 60
10 – 11	40 → 80	60 → 20
11 – 15	80	20

- Preparo das soluções

- **Solução A:** Acetonitrila e Tampão Fosfato pH 7,0 (15:85).
- **Solução B:** Acetonitrila
- **Tampão Fosfato pH 7,0:** Dissolveu-se 1,25 g de fosfato de potássio monobásico e 1,5 g de fosfato de sódio dibásico em 600 mL de água

purificada. Transferiu-se esta solução para balão volumétrico de 1000mL e completou-se o volume com água purificada. Ajustou-se o pH para 7,0 com ácido clorídrico $0,1\text{ molL}^{-1}$. Homogeneizou e filtrou-se em membrana PTFE e degaseificou-se antes do uso.

- **Solução ácido clorídrico $0,1\text{ molL}^{-1}$:** transferiu-se cuidadosamente 8,5 mL de ácido clorídrico, para balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água purificada. Resfriou-se a temperatura ambiente, completou-se o volume com água purificada e homogeneizou-se por inversão.
- **Solução hidróxido de sódio $0,1\text{ molL}^{-1}$:** dissolveu-se 4,0 g de hidróxido de sódio em 500 mL de água purificada. Esfriou-se a temperatura ambiente, transferiu-se esta solução para balão volumétrico de 1000 mL, completou-se o volume com água purificada e homogeneizou-se por inversão.
- **Preparo das amostras**
 - **Solução estoque adequabilidade do sistema:** transferiu-se 12 mg de padrão de Losartana Potássica para um frasco com tampa, adicionou-se 5 mL de água purificada e 5 mL de solução de ácido clorídrico $0,1\text{ molL}^{-1}$. Tampou-se o frasco e levou à estufa aquecida á 105°C por 2 horas. Depois resfriou-se à temperatura ambiente. Transferiu-se quantitativamente o conteúdo remanescente para um balão volumétrico de 50 mL e adicionou-se 5 mL de solução de hidróxido de sódio $0,1\text{ molL}^{-1}$ e completou-se o volume do balão com água purificada.
 - **Solução adequabilidade do sistema:** transferiu-se 7 mL da Solução estoque adequabilidade do sistema para balão volumétrico de 10 mL, completou-se o volume com Acetonitrila, homogeneizou-se e filtrou-se com membrana PTFE de $0,45\text{ }\mu\text{m}$.
 - **Solução Padrão 1 e 2:** transferiu-se 12,5 mg de padrão de Losartana Potássica para balão de 10 mL e adicionou-se cerca de 5 ml de solução A. Levou-se ao ultrassom até a completa solubilização.

Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com o mesmo solvente. Transferiu-se 2 mL desta solução para balão de 10 mL e completou-se o volume com a solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

- **Solução estoque Amostra 1 e 2:** transferiu-se 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 15 min com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente, completou-se o volume do balão com a solução A e homogeneizou-se por inversão. [Losartana Potássica] = 1000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 50 mg e 2000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 100 mg.
- **Solução amostra 50 mg 1 e 2:** transferiu-se 5 mL da solução estoque amostra para balão de 20 mL. Completou-se o volume do balão com a solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- **Solução amostra 100 mg 1 e 2:** transferiu-se 2,5 mL da solução estoque amostra para balão de 20 mL. Completou-se o volume do balão com a solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- **Diluyente:** filtrou-se a solução A em membrana PTFE de 0,45 μm .

5.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Avaliação da adequabilidade do sistema

Após estabilização do sistema cromatográfico proceder conforme descrito a seguir:

- Injetou-se uma vez a Solução Adequabilidade do sistema:
 - O fator de cauda (F_c) do pico de Losartana Potássica e para os picos formados 1-H-dimer e 2-H-dimer, não deve ser superior a 2,0.

- A resolução entre os picos dos compostos 1-H-dimer e 2-H-dimer deve ser de no mínimo 2,0.
- Injetou-se cinco vezes a Solução Padrão 1:
 - A eficiência da coluna para o pico de Losartana Potássica no cromatograma obtido com a solução Padrão deve ser de no mínimo 3000 pratos teóricos.
 - O fator de cauda (Fc) do pico de Losartana Potássica não deve ser superior a 2,0.
 - O desvio padrão relativo (DPR_{inj}) das áreas do pico de Losartana Potássica não deve ser superior a 2,0%.
- Injetou-se uma vez a Solução Padrão 2:
 - O ERP entre o fator resposta obtido a partir da Solução padrão 1 e o fator resposta obtido a partir da Solução padrão 2 não deve ser superior a 2,0%.
- Injetou-se uma vez as soluções amostra 1 e 2:
 - Calcular os teores de Losartana Potássica, em porcentagem de cada solução teste.
 - Calcular as médias dos teores das soluções teste. Estes valores que deverão ser repostados como resultados finais.
- O ERP entre os teores obtidos a partir da Solução amostra 1 e solução amostra 2 não deve ser superior a 2,0%.
- Injetou-se uma vez a solução diluente e Placebo.
 - Identificar todos os picos provenientes do diluente e do placebo.

Especificações

Para que o resultado seja satisfatório o teor deverá estar entre 95,00% e 105,00% da dose declarada. Para comprimidos de 50 mg o teor deve estar entre 47,50 a 52,50 mg/comp. Para comprimidos de 100 mg o teor deve estar entre 95,00 a 105,00 mg/comp.

5.4 SELETIVIDADE

5.4.1 Preparo das soluções estressantes

- NaOH 5,0 molL⁻¹ (Estresse Alcalino): Pesou-se 5,0 g de hidróxido de sódio, transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, contendo aproximadamente 10 mL de água purificada. Agitou-se até completa solubilização, em seguida resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão com água purificada e armazenou-se em recipiente plástico apropriado. [NaOH] = 5,0 molL⁻¹.
- HCl 5,0 molL⁻¹ (Estresse Ácido): Transferiu-se volumetricamente 20,9 mL de ácido clorídrico (36-38%) para balão volumétrico de 50 mL contendo aproximadamente 25 mL de água purificada. Homogeneizou e resfriou a temperatura ambiente. Em seguida completou-se o volume do balão com água purificada e armazenou-se em recipiente apropriado. [HCl] = 5,0 molL⁻¹.
- H₂O₂ 15% (Estresse Oxidativo): Transferiu-se volumetricamente 21,5 mL de peróxido de hidrogênio 35% PA para balão volumétrico de 50 mL contendo aproximadamente 20 mL de água purificada. Homogeneizou-se e resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão volumétrico com água purificada e armazenou-se em recipiente apropriado. [H₂O₂] = 15%.
- FeCl₃ 50,0 mmolL⁻¹ (Estresse Íons metálicos): Pesou-se 0,675g de Cloreto de Ferro III (hexahidratado, MM 270,3gmol⁻¹) para balão volumétrico de 50 mL, contendo aproximadamente 25 mL de água purificada. Homogeneizou-se e resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão volumétrico com água purificada e armazenou-se em recipiente apropriado. [FeCl₃] = 50,0 mmolL⁻¹

5.4.2 Preparo das soluções estoque seletividade

- Solução estoque IFA: Transferiu-se 100 mg de amostra para balão de 100 mL e adicionou-se 50 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura

ambiente e completou-se o volume do balão com a solução A. [Losartana Potássica] = 1000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

- Solução estoque produto acabado: Transferiu-se 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A. [Losartana Potássica] = 1000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 50mg e 2000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 100 mg.
- Solução estoque placebo: Transferiu-se a quantidade de placebo equivalente a 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A. [Losartana Potássica] = 1000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 50 mg e 2000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para comprimidos de 100 mg.

5.4.3 Preparo das soluções testes controles

5.4.3.1 Controle – Químicos e Físicos

- Solução branco: Filtrou-se solução A em membrana PTFE de 0,45 μm .
- Solução testes: Transferiu-se 10,0 mL de Solução estoque para balão volumétrico de 20,0 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Transferiu-se alíquota conforme Tabela 4 para balão volumétrico de 5 mL, completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm .

Tabela 4: Quantidade de amostras transferida no preparo das soluções teste controle.

Identificação	IFA	Losartana Potássica	Placebos
50 mg	2,5 mL	5,0 mL	5,0 mL
100 mg		2,5 mL	2,5 mL

5.4.3.2 Preparo das soluções de estresse forçado

- Soluções para estresse ácido, alcalino, oxidativo e íons metálicos: Transferiu-se 10,0 mL de solução A e quantidade de solução estressante conforme Tabela 5 para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. A solução permaneceu em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de estudo. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL, e completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE 0,45 μm .

Tabela 5: Quantidade de solução estressante, condição de estresse e o tempo de exposição da Losartana Potássica.

Amostra	Solução estressante	Condição de estresse	Tempo de exposição
Controles	-	-	-
Estresse ácido	4,0 mL de HCl 5,0 molL ⁻¹	HCl 1,0 molL ⁻¹	10 dias
Estresse alcalino	4,0 mL de NaOH 5,0 molL ⁻¹	NaOH 1,0 molL ⁻¹	10 dias
Estresse oxidativo	0,4 mL de H ₂ O ₂ 15%	H ₂ O ₂ 0,3%	13 dias
Estresse íons metálicos	2,0 mL de FeCl ₃ 50mmolL ⁻¹	FeCl ₃ 1mmolL ⁻¹	24 horas

5.4.3.3 Estresse fotolítico

- IFA: Pesou-se 300 mg de Losartana Potássica para frasco transparente e levou-se à câmara de fotoestabilidade (CF002), na posição horizontal. Retirou-se após um período de 2 ciclos (82 horas) de calibração actinométrica com uma intensidade de 1,2 milhões lux/hora.
- Produto acabado: Transferiu-se 20 comprimidos de Losartana Potássica (50 e 100 mg) para frasco transparente e levou-se à câmara de fotoestabilidade, na posição horizontal. Retirou-se após um período de 2 ciclos (82 horas) de calibração actinométrica com uma intensidade de 1,2 milhões lux/hora.

- Placebo: transferiu-se 5 g para frasco transparente e levado á câmara de fotoestabilidade, na posição horizontal. Retirou-se após um período de 2 ciclos (82 horas) de calibração actinométrica com uma intensidade de 1,2 milhões lux/hora.

5.4.3.4 Estresse térmico

- IFA: Pesou-se 300 mg de Losartana Potássica para frasco âmbar, vedou-se e levou-se para estufa a uma temperatura de 60°C por 10 dias.
- Produto acabado: transferiu-se 20 comprimidos de Losartana Potássica (50 e 100 mg) para frasco âmbar, vedou-se e levou-se para estufa a uma temperatura de 60°C por 10 dias.
- Placebo: transferiu-se 5 g de placebo para frasco âmbar, vedou-se e levou-se para estufa a uma temperatura de 60°C por 10 dias.

5.4.3.5 Estresse por umidade – climático

- IFA: Pesou-se 300 mg de Losartana Potássica para frasco âmbar com tampa aberta e levou-se à câmara climática á 40°C e 75% de umidade relativa por 10 dias.
- Produto acabado: transferiu-se 20 comprimidos de Losartana Potássica (50 e 100 mg) para frasco âmbar com tampa aberta e levou-se à câmara climática á 40°C e 75% de umidade relativa por 10 dias.
- Placebo: transferiu-se 5 g de placebo para frasco âmbar com tampa aberta e levou-se à câmara climática á 40°C e 75% de umidade relativa por 10 dias.

5.4.3.6 Preparo das soluções após degradações (fotolítico, térmico e umidade)

- Solução teste IFA: Transferiu-se 100 mg de amostra para balão de 100 mL e adicionou-se 50 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com a solução A. Transferiu-se 10,0 mL de Solução estoque produto acabado para balão volumétrico de 20,0 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Transferiu-se 2,5 mL para balão de 5 mL. Completou-se o volume do balão com solução

- A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- Solução teste produto acabado: Transferiu-se 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A.
 - ➔ Para comprimidos de 50 mg transferiu-se 5,0 mL para balão volumétrico de 20 mL, completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
 - ➔ Para comprimidos de 100 mg transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 20 mL, completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm . [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
 - Solução teste placebo: Transferiu-se a quantidade de placebo equivalente a 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 25 minutos com eventuais agitações. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A.
 - ➔ Para concentração equivalente a 50 mg, transferiu-se 5,0 mL para balão volumétrico de 20 mL, completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm .
 - ➔ Para concentração equivalente a 100 mg, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 20 mL, completou-se o volume do balão com solução A. Filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 μm .

5.5 PRECISÃO

A precisão da metodologia analítica foi verificada através de dois níveis.

- Repetibilidade: através de 6 determinações no nível 100%, contemplando a concentração da solução amostra [Losartana Potássica] = 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- Precisão intermediária: através de uma segunda repetibilidade realizada no mesmo laboratório, em outro dia e preparado por analistas diferentes.

5.6 EXATIDÃO

A exatidão da metodologia analítica foi verificada através de 9 determinações, contemplando os níveis baixo, médio e alto (80%, 100% e 120%), compreendendo o intervalo do método analítico para o ensaio de doseamento.

5.6.1 Preparo das soluções analíticas

- Solução padrão estoque: Transferiu-se 200 mg de padrão de Losartana Potássica para balão volumétrico de 20 mL e adicionou-se 10 mL de solução A, levou-se ao ultrassom até completa solubilização. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A. [Losartana Potássica] = 1000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.
- Solução exatidão: transferiu-se placebo e alíquota conforme Tabela 6 para balão de 10 mL, levou-se ao ultrassom por 5 minutos. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com solução A.

Tabela 6: Massa de placebo e quantidade transferida na solução exatidão.

	Placebo (mg)		Solução estoque (mL)	
	50 mg	100 mg	50 mg	100 mg
Exatidão 80%	5,36	5,80	2,0	2,0
Exatidão 100%	5,36	5,80	2,5	2,5
Exatidão 120%	5,36	5,80	3,0	3,0

5.7 ROBUSTEZ

A robustez do método foi avaliada comparando o teor da solução teste com o método sem alteração e com método com alteração.

- Teste de filtro:
 - ➔ Condição 1: PTFE hidrofóbico 0,45 μm .
 - ➔ Condição 2: PTFE hidrofílico 0,45 μm .

Transferiu-se a Solução Adequabilidade do sistema, Solução Padrão, Solução Teste, Diluente e Placebo para seringas de 10 mL e preparou-se conforme Tabela 7.

Tabela 7: Filtros e volumes de descartes.

Alíquota	Procedimento	Volume de descarte (mL)	Tamanho de poro
1	Centrifugar a 5000 rpm por 5 minutos	NA	NA
2	PTFE hidrofóbico	0	0,45 µm
3	PTFE hidrofóbico	2	0,45 µm
4	PTFE hidrofílico	0	0,45 µm
5	PTFE hidrofílico	2	0,45 µm

5.8 ESTABILIDADE

A estabilidade das soluções analíticas foi realizada com o preparo de soluções padrão e amostra conforme metodologia analítica. Procedeu-se com reinjeções das soluções em tempos variados (1ª etapa). As soluções foram armazenadas em condições específicas, estando ambas as soluções dispostas no rack do equipamento, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Na 2ª etapa foi feito um novo preparo de soluções padrão e teste, injetado imediatamente. Foi realizada a quantificação das amostras da 1ª etapa com os padrões da 2ª etapa e uma quantificação das amostras da 2ª etapa com os padrões da 1ª etapa, fazendo um comparativo da ERP.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anteriormente a cada análise a adequabilidade do sistema foi verificada de acordo com a metodologia analítica, comprovando-se que todos os parâmetros cromatográficos foram satisfatórios, uma vez que atingiram: fator de cauda ($F_c \geq 2,0$), número de pratos teóricos (≥ 3000) e desvio padrão relativos (DPR $\geq 2,0\%$) especificados no método analítico. Foram verificados também os controles, garantindo que o sistema se manteve constante até o final da análise.

6.1 SELETIVIDADE

Para comprovar a seletividade do método, as amostras de matéria-prima, produto acabado e placebo foram submetidos á degradação forçada. Os resultados encontrados no estudo de degradação forçada (Químicos em degradação ácida, alcalina e íons metálicos) estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses químicos: ácido, básico e íons metálicos.

Lote da amostra	Fabricante	Tipo de amostra	Teor (%)	Decaimento (%)
1036052	ZHEJIANG	Controle	101	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	100	1
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	100	1
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	99	2
1031412	IPCA	Controle	101	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	100	1
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	100	1
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	99	2
18179J	PA 50mg (ZHEJIANG)	Controle	101	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	99	2
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	97	4
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	94	7

18E18G	PA 100mg (ZHEJIANG)	Controle	102	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	100	2
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	100	2
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	100	2
18I976	PA 50mg (IPCA)	Controle	101	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	99	2
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	99	2
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	100	1
18A32E	PA 100mg (IPCA)	Controle	100	-
		HCl 1,0 molL ⁻¹	99	1
		NaOH 1,0 molL ⁻¹	99	1
		FeCl ₃ 1,0 mmolL ⁻¹	101	-

Com os resultados obtidos nas degradações químicas, ácida, básica e íons metálicos, a Losartana Potássica se mostrou estável nessas condições, pois não apresentou variação de teor acima de 10% durante o período de estudo, conforme preconiza a AOAC de 2016.

As impurezas encontradas durante a degradação apresentaram resolução superior a 1,5% em relação ao ativo Losartana. Analisando os gráficos de pureza, pode-se constatar a homogeneidade espectral do pico de Losartana, visto que não houve cruzamento entre as linhas de pureza (Purity e Auto Threshold) conforme mostrado na Figura 2 e no Apêndice, sendo assim, provando a seletividade do método analítico.

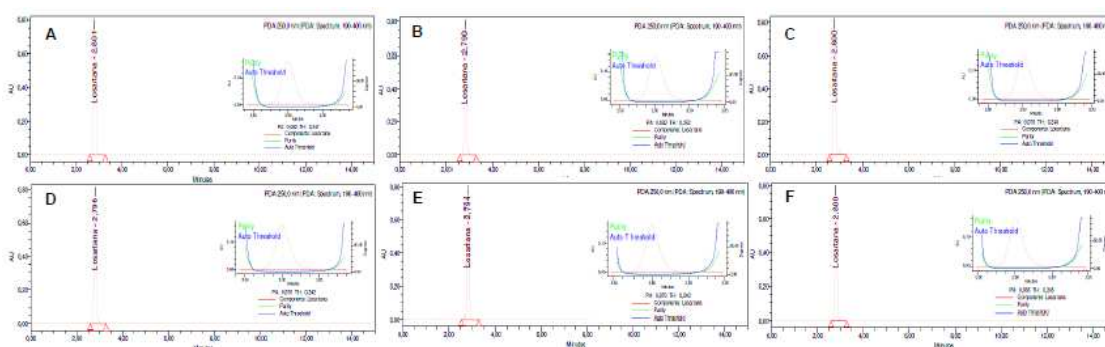


Figura 2: Cromatograma das soluções controles-químicos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.

Os resultados encontrados no estudo de degradação oxidativa por peróxido de oxigênio estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses químicos: peróxido de hidrogênio.

Lote da amostra	Fabricante	Tipo de amostra	Teor (%)	Decaimento (%)
1036052	ZHEJIANG	Controle	100	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	89	11
1031412	IPCA	Controle	100	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	95	5
18I79J	PA 50mg (ZHEJIANG)	Controle	100	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	86	14
18E18G	PA 100mg (ZHEJIANG)	Controle	101	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	92	9
18I976	PA 50mg (IPCA)	Controle	99	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	94	5
18A32E	PA 100mg (IPCA)	Controle	100	-
		H ₂ O ₂ 0,3%	5	5

A partir dos resultados obtidos na degradação oxidativa, a Losartana Potássica proveniente do fabricante Zhenjiang se mostrou instável nessas condições, pois apresentou variação de teor $\geq 10\%$ durante o período de estudo.

As impurezas encontradas durante a degradação apresentaram resolução superior a 1,5% em relação ao ativo Losartana. Analisando os gráficos de pureza da Figura 3 e seguindo o recomendado no manual do Empower®, a pureza de pico foi calculada empregando o parâmetro de *Auto Threshold*, o qual computa automaticamente os ângulos de ruído e de solvente, podendo-se constatar a homogeneidade espectral do pico de Losartana, visto que não houve cruzamento entre as linhas de pureza (*Purity* e

Auto Threshold), conforme mostrado no Apêndice, comprovando a seletividade do método analítico ¹³.

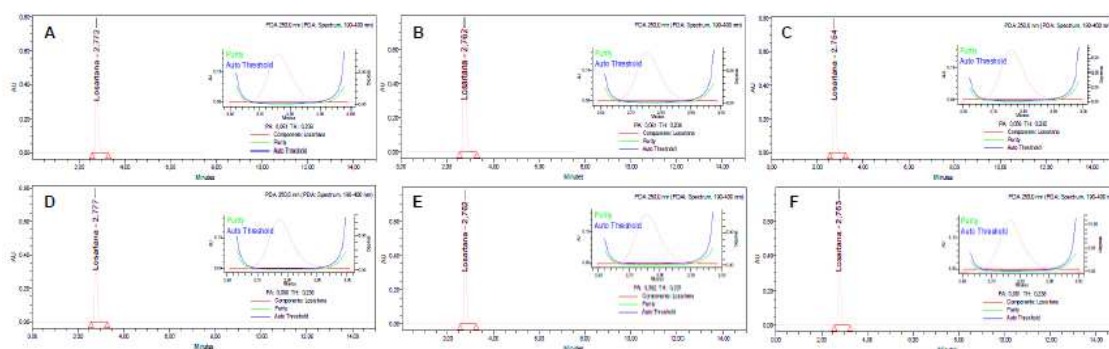


Figura 3: Cromatograma das soluções controles-oxidativos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.

Os resultados encontrados no estudo de degradação forçada (Físicos em degradação fotolítico, térmico e climático) estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas a estresses físicos: fotolítico, térmico e climático.

Lote da amostra	Fabricante	Tipo de amostra	Teor (%)	Decaimento (%)
1036052	ZHEJIANG	Controle	102	-
		Fotolítico	101	1
		Térmico	98	4
		Climático	101	-
1031412	IPCA	Controle	102	-
		Fotolítico	101	1
		Térmico	95	7
		Climático	99	3
18179J	PA 50mg (ZHEJIANG)	Controle	100	-
		Fotolítico	101	-
		Térmico	98	2
		Climático	101	-

18E18G	PA 100mg (ZHEJIANG)	Controle	100	-
		Fotolítico	101	-
		Térmico	98	2
		Climático	99	1
18I976	PA 50mg (IPCA)	Controle	101	-
		Fotolítico	100	1
		Térmico	98	3
		Climático	100	1
18A32E	PA 100mg (IPCA)	Controle	100	-
		Fotolítico	101	-
		Térmico	100	0
		Climático	101	-

Com base nos resultados obtidos para as condições testadas, a Losartana Potássica se mostrou estável em condições fotolíticas, térmicas e climáticas, pois não apresentou variação de teor acima de 10% durante o período de estudo, conforme pede a AOAC de 2016.

As impurezas encontradas durante a degradação apresentaram resolução superior a 1,5% em relação ao ativo Losartana. Analisando os gráficos de pureza da Figura 4 e o Apêndice, pode-se constatar a homogeneidade espectral do pico de Losartana, visto que não houve cruzamento entre as linhas de pureza (Purity e Auto Threshold), sendo assim, provando a seletividade do método analítico.

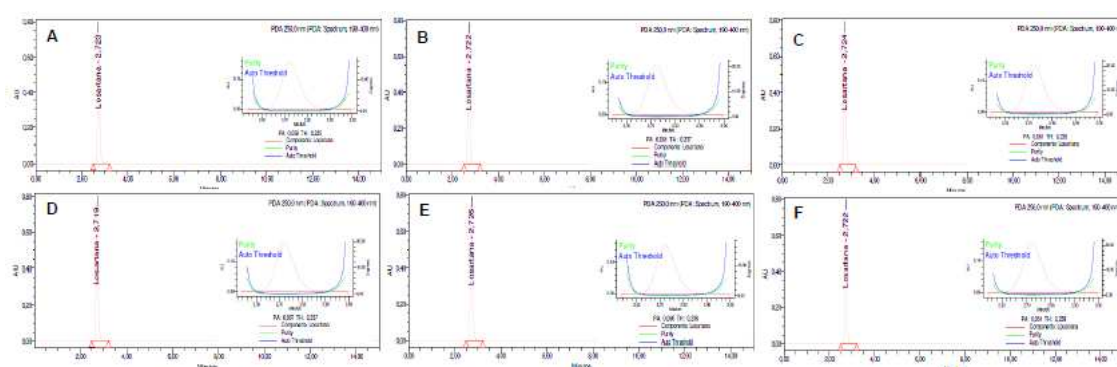


Figura 4: Cromatograma das soluções controles-físicos. (A) IFA- Zhenjiang; (B) PA 50 mg – Zhenjiang; (C) PA 100 mg – Zhenjiang; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – IPCA; (F) PA 100 mg – IPCA.

6.2 PRECISÃO

Os resultados encontrados na Precisão 1ºdia (repetibilidade) estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 1ºdia.

Identificação	Resultado (%)	Teor médio (%)	DPR (%)
PA 50 mg IPCA (18I976)	100	99	0,9
	99		
	98		
	99		
	98		
	98		
PA 100 mg IPCA (18A32E)	100	100	0,5
	100		
	101		
	100		
	101		
	101		

O desvio padrão relativo entre as amostras foi menor que a especificação da AOAC (DPR < 1,9%), demonstrando assim a repetibilidade do método.

Os resultados encontrados na Precisão 2ºdia (repetibilidade) estão dispostos na Tabela 12.

O desvio padrão relativo entre as amostras da Precisão 2ºdia foi menor que a especificação da AOAC, que é $DPR \leq 1,9\%$, demonstrando assim a repetibilidade do método.

Tabela 12: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 2º dia.

Identificação	Resultado (%)	Teor médio (%)	DPR (%)
PA 50 mg IPCA (18I976)	100	100	0,4
	100		
	101		
	100		
	100		
	100		
PA 100 mg IPCA (18 ^a 32E)	100	100	0,9
	101		
	101		
	100		
	98		
	100		

Na Tabela 13 é demonstrada a avaliação entre os experimentos de Precisão 1º e 2º dia, realizados em dias e analistas diferentes.

Tabela 13: Resultados das soluções amostra de Losartana Potássica submetidas à Precisão 1º e 2º dia.

Identificação	Teor 1º dia (%)	Teor 2º dia (%)	Teor médio (%)	DPR comparativo (%)
PA 50 mg IPCA (18I976)	100	100	99	1
	99	100		
	98	101		
	99	100		
	98	100		
	98	100		
PA 100 mg IPCA (18A32E)	100	100	100	1
	100	101		
	101	101		
	100	100		
	101	98		
	101	100		

6.3 EXATIDÃO

Foram preparadas soluções nas concentrações de 80%, 100% e 120%, para concentração de comprimidos de 50 mg e 100 mg. Para calcular o valor da recuperação considerou-se a quantidade adicionada de amostra como

100% para as 3 condições da exatidão (80%, 100% e 120%). Os resultados encontram-se listados na Tabela 14 e 15.

Tabela 14: Exatidão Losartana Potássica para concentração de comprimidos de 50 mg.

Nível	Recuperação (%)	Média recuperada (%)	DPR (%)
80%	102	101	0,5
	101		
	101		
100%	101	101	0,2
	101		
	101		
120%	102	101	0,9
	101		
	100		

Tabela 15: Exatidão Losartana Potássica para concentração de comprimidos de 100 mg.

Nível	Recuperação (%)	Média recuperada (%)	DPR (%)
80%	102	101	0,5
	101		
	101		
100%	99	100	1,2
	101		
	101		
120%	101	101	1,1
	101		
	99		

Analisando os resultados da recuperação, vimos que ele atende a especificação de 98% a 102%. Apesar da DPR para comprimidos de 100 mg ficarem mais altas, ambos passam no critério de aceitabilidade, que é $DPR \leq 1,9\%$. Devido ao atendimento de todos os critérios de aceitabilidade, tanto de

recuperação quanto de DPR, podemos dizer que o método analítico possui exatidão adequada nos níveis de concentração de 200 µg/mL a 300 µg/mL.

6.4 ROBUSTEZ

Foi feita análise de robustez de filtro, utilizando matéria-prima do fabricante IPCA. Foi verificado a recuperação da Losartana Potássica presente nas soluções padrão e amostras de 50 e 100 mg. Os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16: Avaliação da robustez de filtro para as soluções: padrão e amostra de 50 e 100 mg.

Condição	Recuperação (%)	ERP(≤1,0)
Padrão de Losartana Potássica		
Centrifugado	100,42	NA
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 0mL de descarte	99,59	0,82
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 2mL de descarte	100,29	0,12
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 0mL de descarte	99,97	0,45
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 2mL de descarte	100,27	0,14
Amostra 50 mg		
Centrifugado	99,02	NA
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 0mL de descarte	99,21	0,20
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 2mL de descarte	98,91	0,50
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 0mL de descarte	98,91	0,11
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 2mL de descarte	99,22	0,20
Amostra 100 mg		
Centrifugado	99,86	NA
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 0mL de descarte	99,89	0,03
PTFE Hidrofóbico 0,45 µm, 2mL de descarte	99,99	0,13
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 0mL de descarte	99,95	0,09
PTFE Hidrofílico 0,45 µm, 2mL de descarte	99,89	0,03

Pode-se perceber que todos os filtros testados demonstraram-se aptos para utilização na rotina laboratorial. Uma vez que não geraram picos adicionais, conforme mostrado na Figura 5 e nem apresentaram variação da recuperação da Losartana Potássica superior a 1,0% frente às soluções centrifugadas.

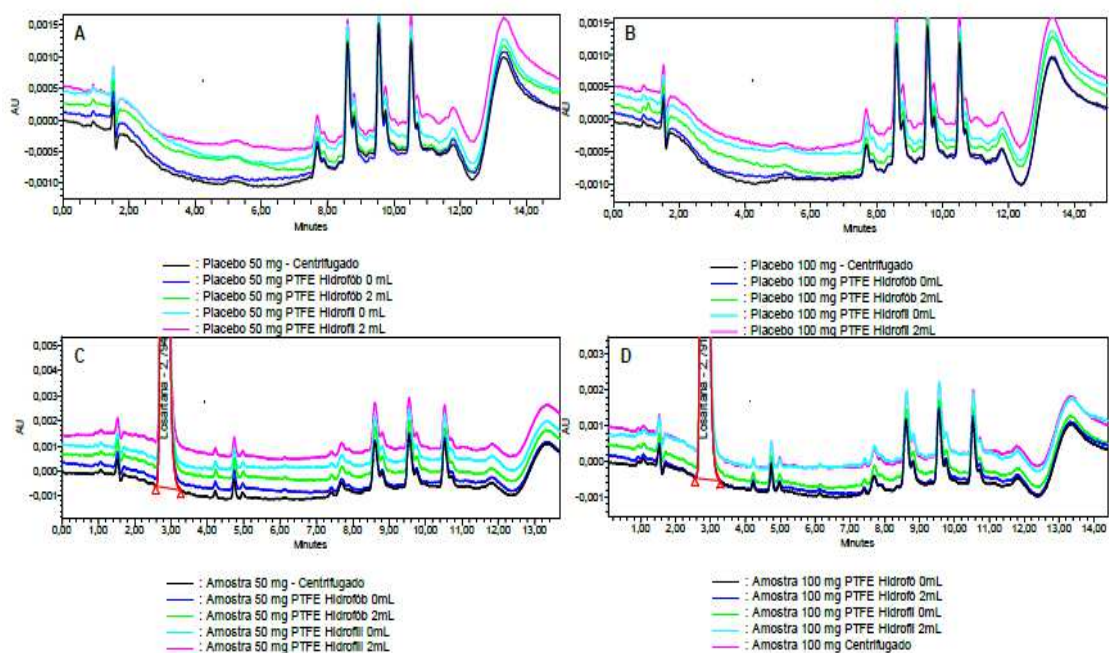


Figura 5: Sobreposição dos cromatogramas das amostras de Losartana Potássica e placebo submetidos a robustez de filtro. (A) placebo de 50 mg; (B) placebo de 100 mg; (C) amostra de 50 mg de Losartana Potássica – IPCA; (D) amostra de 100 mg de Losartana Potássica – IPCA.

Além das amostras de Losartana Potássica e placebos, foram sobrepostos os cromatogramas da robustez de filtro para o diluente, adequação do sistema e padrão, conforme mostrado na Figura 6. Comprovando que tanto as amostras quanto as demais soluções passaram na robustez de filtro.

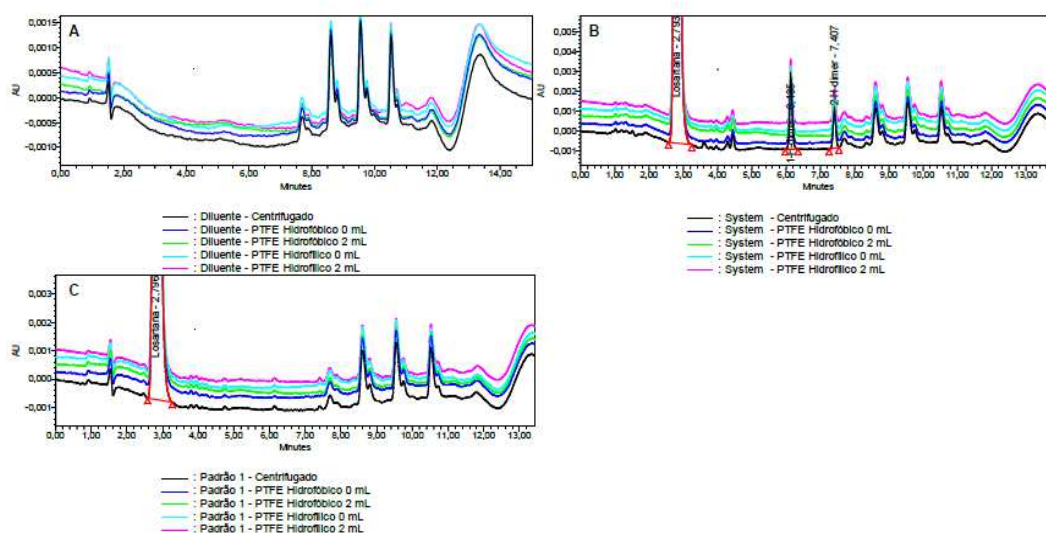


Figura 6: Sobreposição dos cromatogramas submetidos a robustez de filtro. (A) Diluente; (B) Adequação do sistema; (C) Padrão.

6.5 ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

Preparou-se solução padrão conforme metodologia analítica e foi realizadas reinjeções em tempos variados. Os resultados encontram-se na Tabela 17.

Tabela 17: Resultados da estabilidade da solução padrão de Losartana Potássica em função do tempo.

Identificação	Recuperação (%)	ERP (%)
Padrão 0 horas	100,0	-
Padrão 8 horas	100,2	0,2
Padrão 38 horas	100,2	0,2
Padrão 58 horas	100,3	0,3
Padrão 82 horas	100,2	0,2
Padrão 103 horas	100,3	0,3
Padrão 151 horas	100,6	0,6
Padrão 178 horas	100,3	0,5

Quando armazenada em temperatura ambiente e protegida da luz, a solução padrão apresentou-se estável durante o período de 178 horas,

podendo esta ser utilizada para fins de quantificação de soluções amostras, devido ao atendimento dos critérios de aceitabilidade, $ERP \leq 1,5\%$.

Preparou-se solução amostra de 50 e 100 mg (18I796 e 18^a32E, respectivamente) produzidas com matéria-prima do fabricante IPCA conforme metodologia analítica e foi realizadas reinjeções em tempos variados. Os resultados encontram-se na Tabela 18, referentes à 1^o etapa.

Tabela 18: Resultados da variação do teor médio das soluções amostras de Losartana Potássica de 50 e 100 mg em função do tempo – 1^o etapa.

Identificação	Teor médio (%)		ERP (%)	
	50 mg	100 mg	50 mg	100 mg
Amostra 0 horas	99,3	100,0	-	-
Amostra 38 horas	99,1	100,0	0,2	0,0
Amostra 53 horas	98,7	100,1	0,6	0,0
Amostra 72 horas	99,2	100,1	0,1	0,1
Amostra 101 horas	98,6	100,1	0,7	0,1
Amostra 168 horas	98,8	99,2	0,5	0,8
Amostra 191 horas	98,6	98,7	0,7	1,3

Apesar de apresentar um comportamento de queda de teor (%) em ambos os lotes analisados, eles satisfazem as especificações de ERA (%) entre a média do teor (%) das soluções imediatamente preparadas e analisadas e as reinjeções nos tempos analisados.

Na Tabela 19 estão apresentados os resultados referentes à 2^a etapa, a quantificação das amostras da 2^a etapa com a curva da 1^a etapa e a quantificação das amostras da 1^a etapa com a curva da 2^a etapa.

Analisando os resultados de ERP das tabelas, é possível confirmar a estabilidade das soluções amostras de 50 e 100 mg (produzidos pelo fabricante IPCA), podendo estas serem utilizadas para fins de quantificação, uma vez que verificou-se o atendimento a todos os critérios de aceitabilidade da AOAC, que é $ERP \leq 2,0\%$.

Tabela 19: Análise de ERP entre os teores da 1 e 2 etapa, quantificação das amostras da 2 etapa com a curva da 1 etapa e a quantificação das amostras da 1 etapa com a curva da 2 etapa.

	Teor médio (%)		ERP (%)	
	Amostra 50 mg	Amostra 100 mg	Amostra 50 mg	Amostra 100 mg
1ª etapa	98,6	98,7	-	-
2ª etapa	100,1	100,5	1,5	1,8
Amostras 2ª etapa quantificadas com padrões da 1ª etapa	100,0	100,3	1,4	1,6
Amostras 1ª etapa quantificadas com padrões da 2ª etapa	98,9	99,0	0,3	0,3

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que o método proposto é adequado para dosear Losartana em Losartana Potássica – comprimido revestido de 50 e 100 mg, produzidos com matéria-prima dos fabricantes Zhenjiang e IPCA, pois se demonstrou seletivo por conseguir separar de forma adequada todos os picos secundários formados nos estresses forçados.

A metodologia também se mostrou exata entre a faixa de 200 µg/mL a 300 µg/mL (80 a 120% em relação a concentração de trabalho) e precisa na faixa de trabalho de 250 µg/mL, por atender a todos os critérios de aceitabilidade.

Durante a rotina laboratorial, os filtros aprovados foram PTFE hidrofílico e hidrofóbico, todos com tamanho de poro de 0,45 µm, com volumes de descarte de 0 e 2 mL. As soluções padrão e amostras demonstraram-se estáveis por um período de 178 e 191 horas, respectivamente, desde que mantidas em temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

Dessa forma, considera-se o método de doseamento de Losartana Potássica 50 e 100 mg comprimido revestido adequado, visto que atente aos parâmetros analíticos estabelecidos, garantindo a confiabilidade dos resultados.

8 REFERÊNCIAS

1 BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 17, 16/04/2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos – Abril, 2010.

2 SEE, S. Angiotensin II receptor blockers for the treatment of hypertension. Expert Opin. Pharmacotherapy 2001; 2(11): 1795-804.

3 CFF - Conselho Federal de Farmácia (2015). Curtas: O medicamento mais vendido do Brasil em 2014. Disponível em: <http://www.cff.org.br/noticia.php?id=2529>. Acesso em 19 de dezembro de 2018.

4 Site : <https://chemicalize.com>. Disponível em: Acesso em 19 de dezembro de 2018.

5 SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

6 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 1ª edição, 2006.

7 BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 166, 24/07/2017. Guia para validação de métodos analíticos - Julho, 2017.

8 Sociedade Brasileira de Hipertensão. O que é hipertensão? São Paulo, 2017. Disponível em: <http://www.sbh.org.br/informacoes.html#o-que-e>. Acesso em 19 de dezembro de 2018.

9 CASSIS, L.A. O Sistema de Renina-Angiotensina-Aldosterona e outras substâncias vasoativas. In: CRAIG, C.R; STITZEL, R.E. Farmacologia Moderna

com aplicações clínicas. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, cap 18.

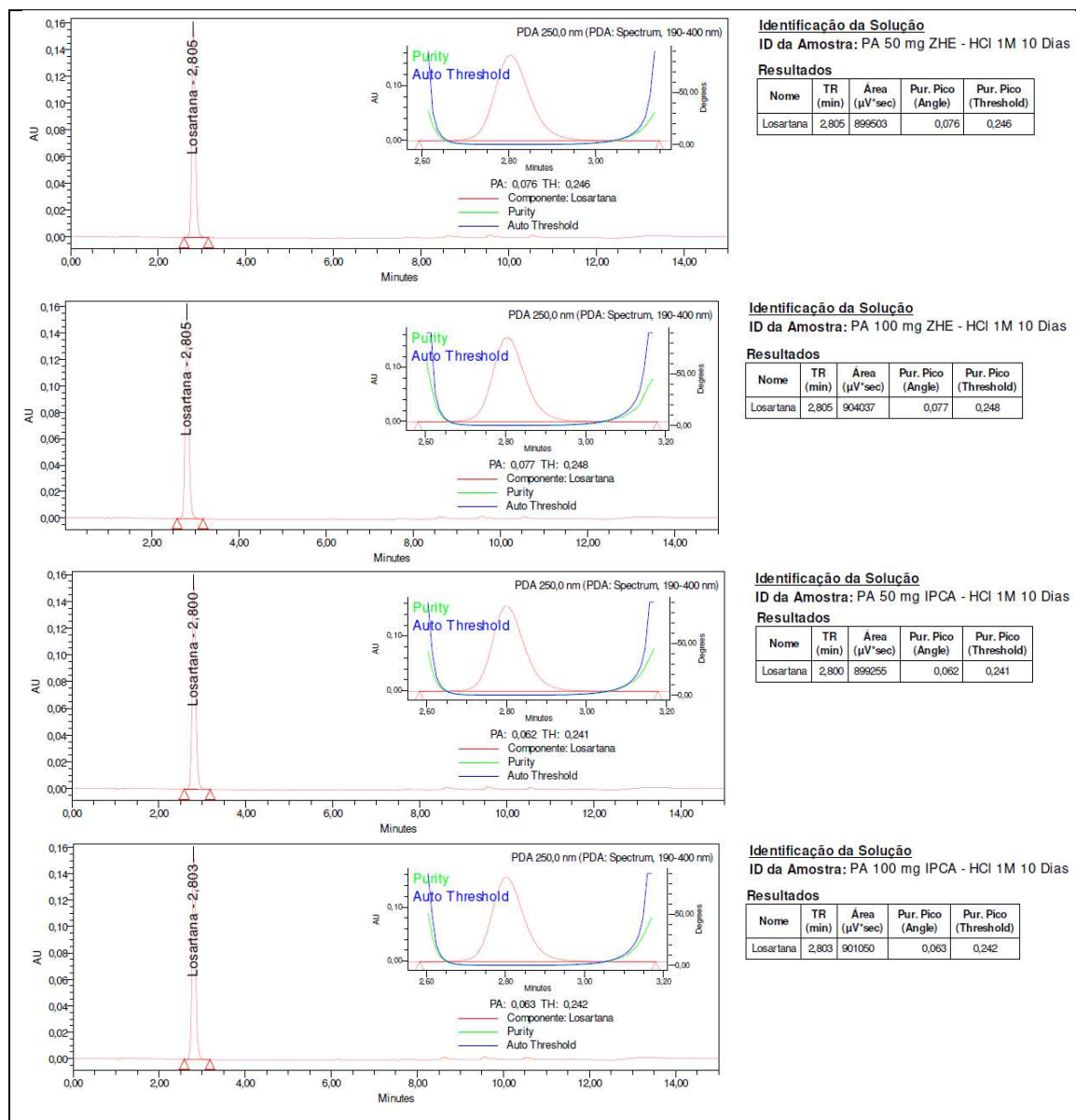
10 RANG, H. P.; DALE M. M. O Sistema Vascular. Farmacologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2007. Cap 19.

11 MAGALHÃES, L.B.N.C. Anti-hipertensivos. In: SILVA, P. Farmacologia. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 68.

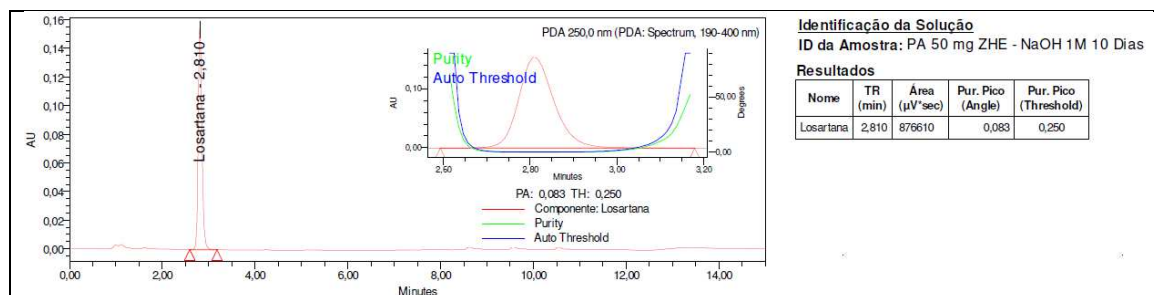
12 AOAC INTERNACIONAL, Guidelines for standard method performance requirements. AOAC official methods of analysis – 2016.

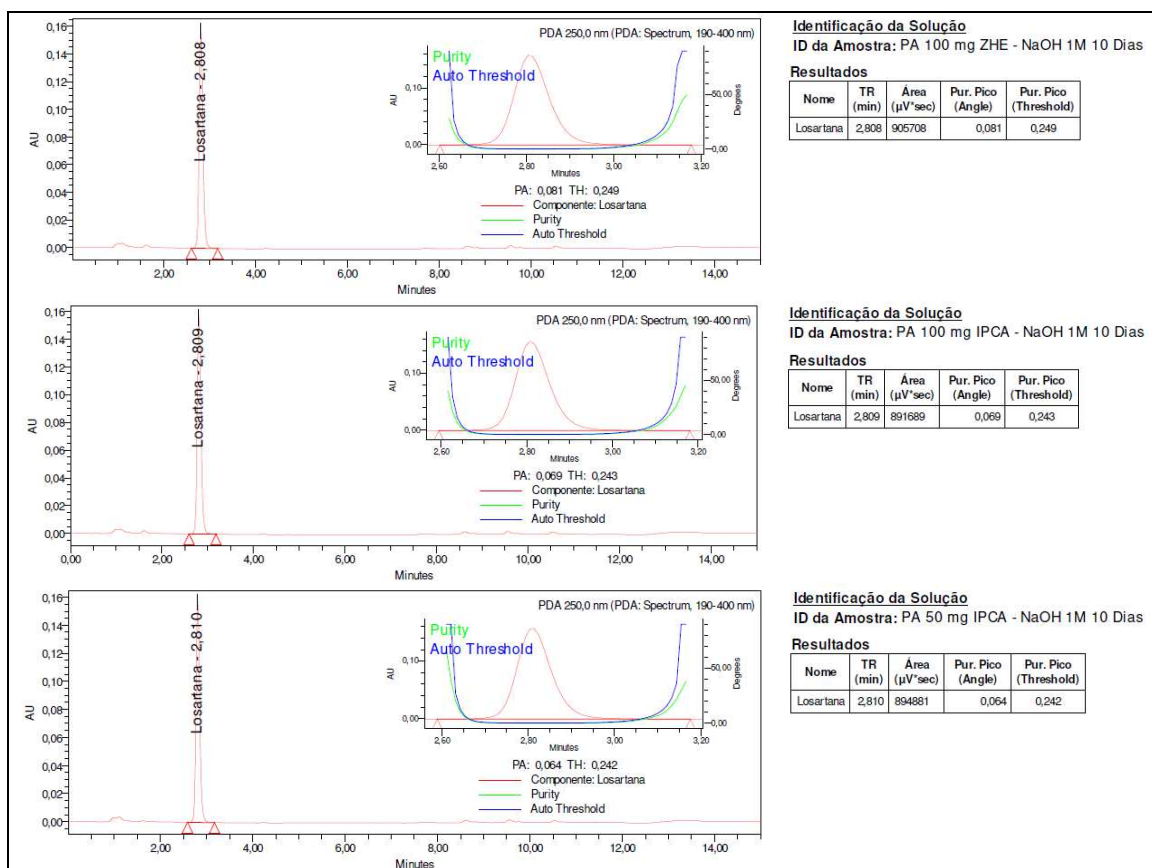
13 Waters, Empower 3 ®. Empower help, Calculating PDA peak purity,2018.

APÊNDICE – CROMATOGRAMAS DA SELETIVIDADE

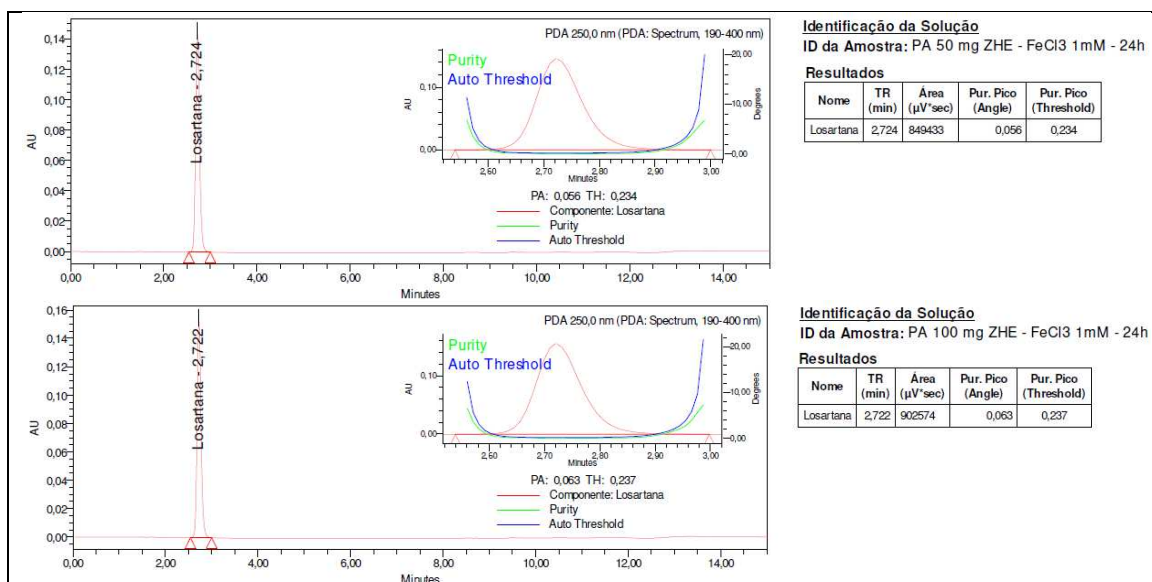


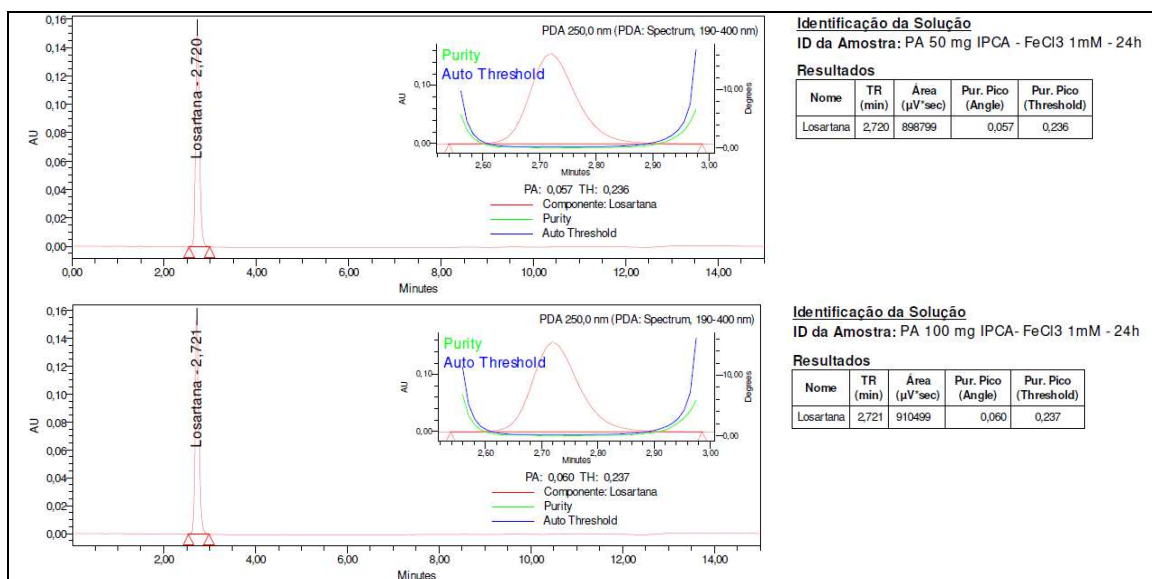
Quadro 1: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada ácida.



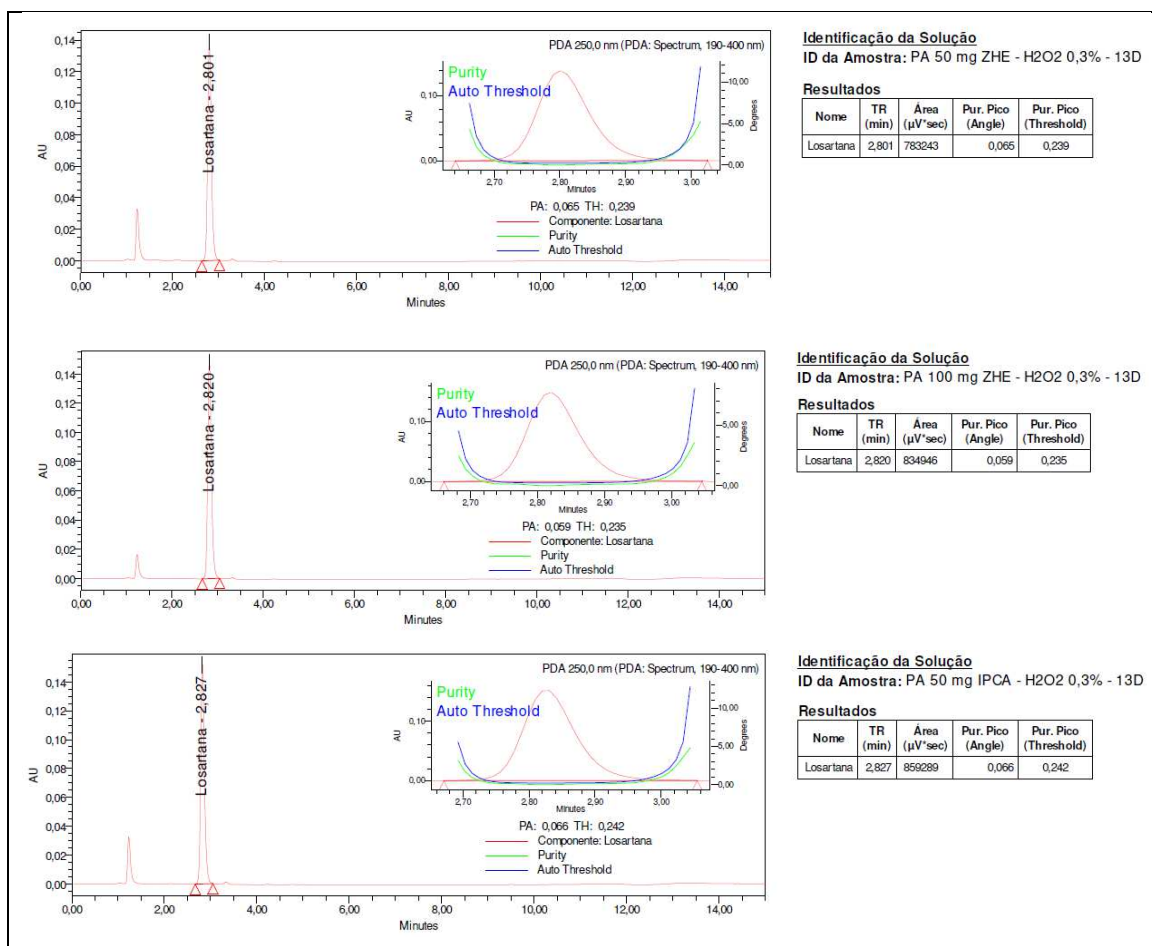


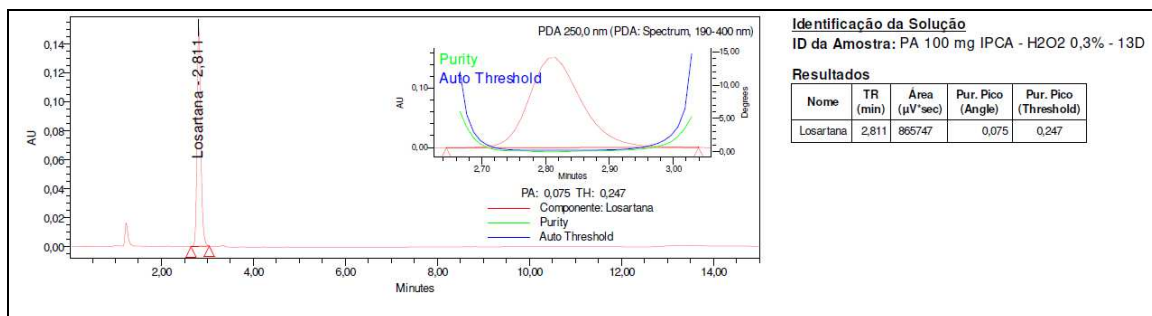
Quadro 2: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada básica.



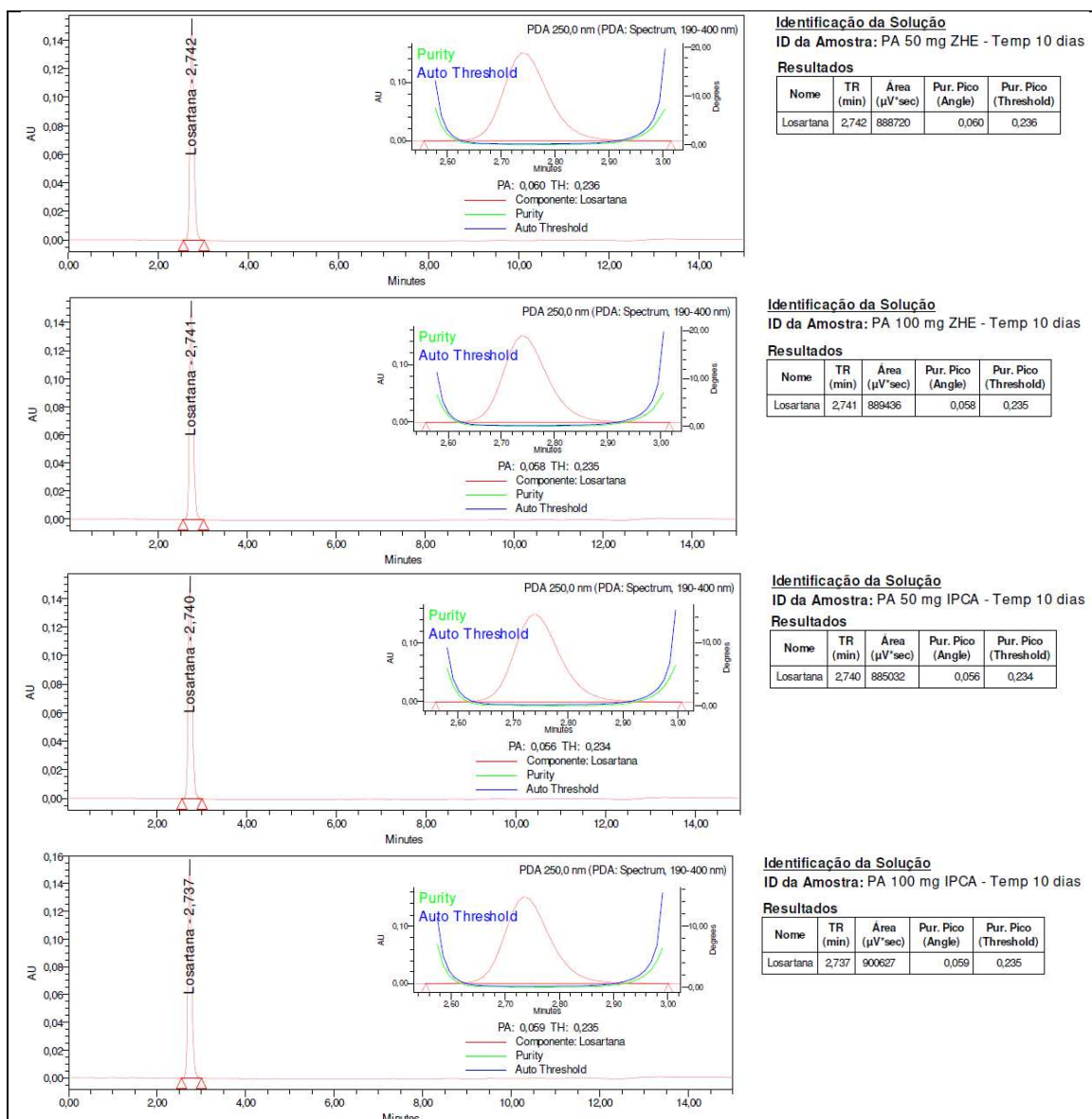


Quadro 3: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada íons metálicos.

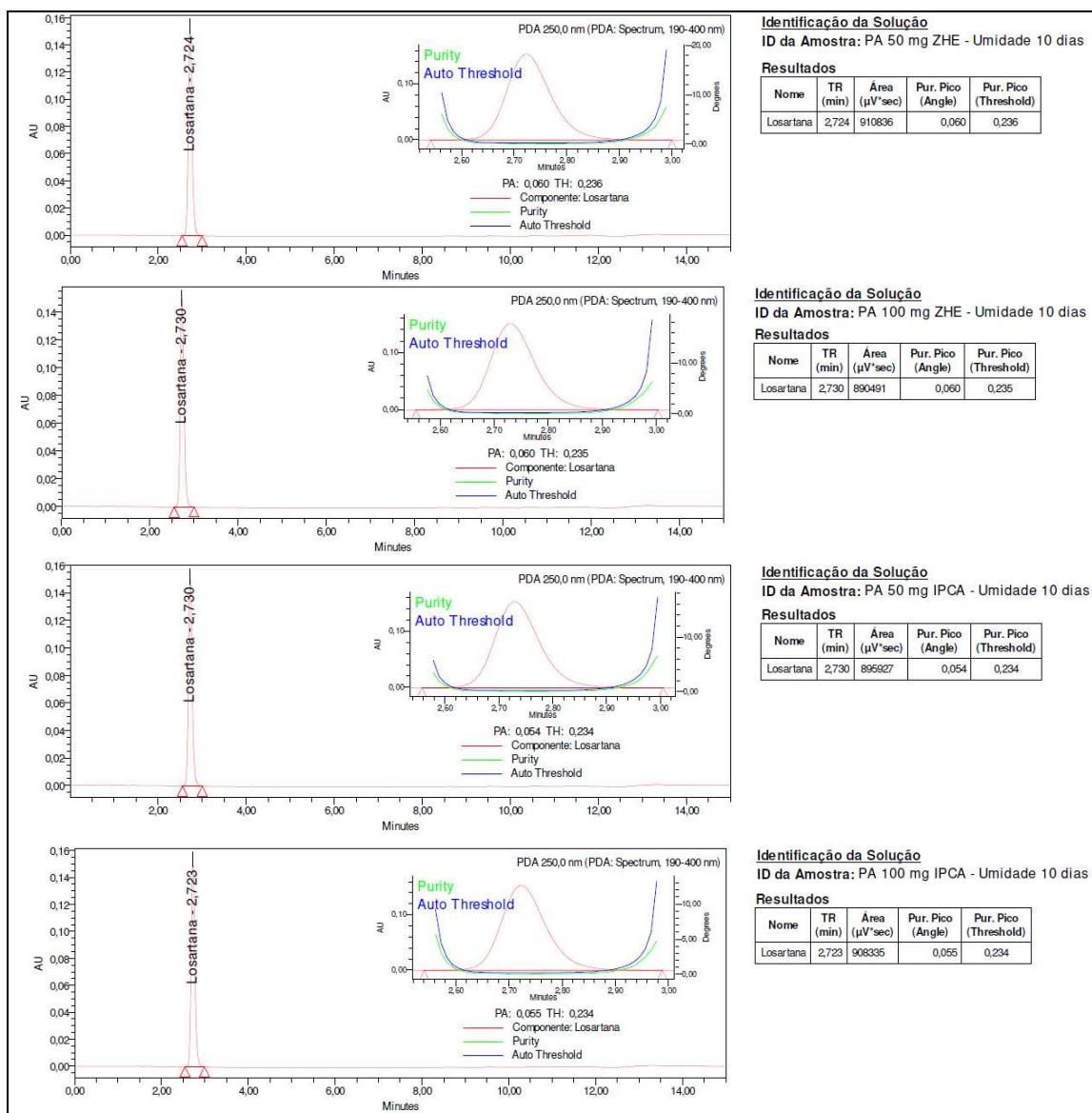




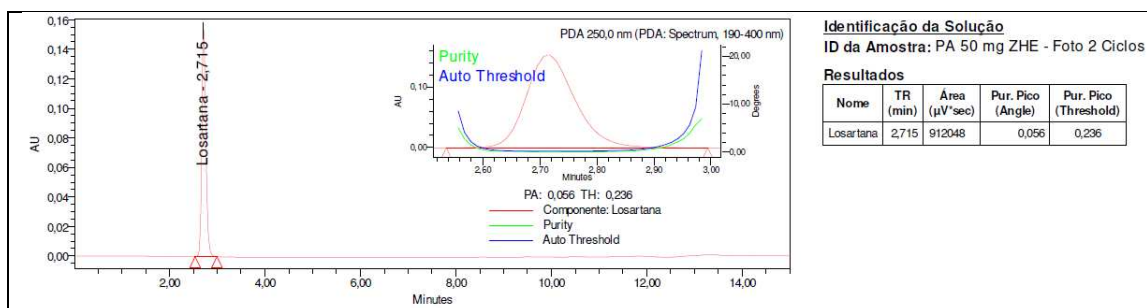
Quadro 4: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada oxidativa.

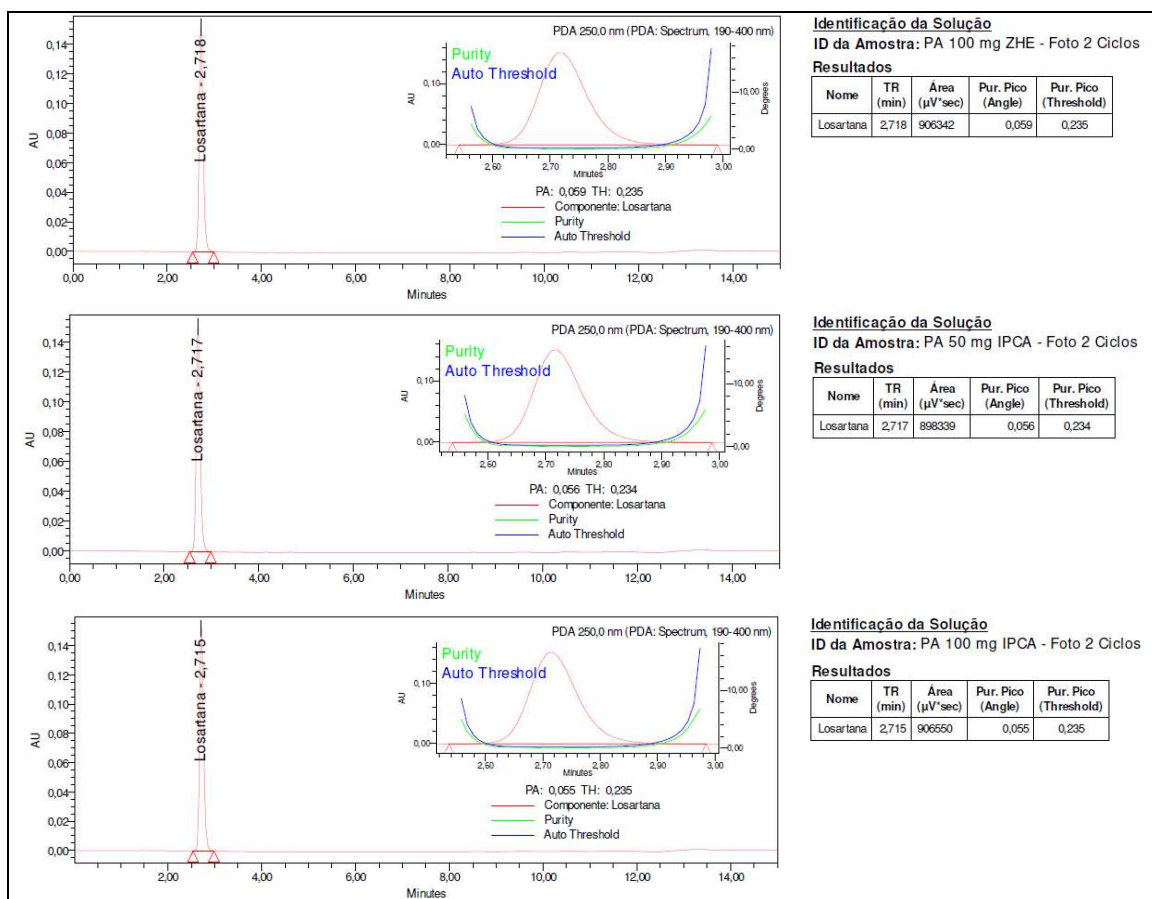


Quadro 5: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada por temperatura.



Quadro 6: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada climática.





Quadro 7: Cromatogramas de Losartana Potássica PA, 50 e 100 mg na degradação forçada fotolítica.