

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
ESPECIALIZAÇÃO EM ANÁLISE INSTRUMENTAL
HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO**

**ADEQUABILIDADE DE MÉTODO ANALÍTICO PARA
IMPUREZAS ORGÂNICAS DE LOSARTANA 50 E 100 mg
COMPRIMIDO REVESTIDO**

**TOLEDO
2019**

HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO

**ADEQUABILIDADE DE MÉTODO ANALÍTICO PARA
IMPUREZAS ORGÂNICAS DE LOSARTANA 50 E 100 mg
COMPRIMIDO REVESTIDO**

Trabalho de conclusão do curso de especialização em
análise instrumental ofertado pela Universidade Federal
Tecnológica do Paraná.

Orientação: Dr. Renato Eising

TOLEDO
2019

TERMO DE APROVAÇÃO

ADEQUABILIDADE DE MÉTODO ANALÍTICO PARA IMPUREZAS ORGÂNICAS DE LOSARTANA 50 E 100 mg COMPRIMIDO REVESTIDO

POR

HANDRIELA HOFF DE OLIVEIRA SOBRINHO

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (TCCE) apresentado no 03/06/2019 às 08:00 h como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental. A aluna foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Renato Eising

Profa. Dra. Caroline Aguiar

Prof. Dr. Maurício Rosa

RESUMO

O método de losartana 50 e 100 mg para comprimido revestido foi versionado pela farmacopeia *United States Pharmacopeial* e foi avaliado perante validação parcial. Métodos analíticos compendiais não requerem validação completa, entretanto, antes de sua implementação, devem existir evidências documentadas de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório. A adequabilidade do método compendial foi verificada por meio da análise de seletividade, precisão, exatidão e robustez. Os resultados comprovaram que o método é capaz de separar, identificar e quantificar as impurezas e produtos de degradação do ativo, possui sensibilidade suficiente para quantificar as impurezas específicas e inespecíficas desde o seu limite de quantificação, é preciso e exato na faixa especificada e apresenta robustez em termo de estabilidade de solução.

Palavras-chave: Seletividade; Precisão; Exatidão; Robustez.

ABSTRACT

The method of losartan 50 and 100 mg for coated tablets was versioned by the United States Pharmacopeial and was evaluated for partial validation. Compendial analytical methods do not require, complete validation, however, prior to implementation, there must be documented evidence of their suitability under laboratory operating conditions. The adequacy of the compendial method was verified through the analysis of selectivity, precision, accuracy and robustness. The results proved that the method is capable of separating, identifying and quantifying the impurities and degradation products of the active, has sufficient sensitivity to quantify the specific and non-specific impurities from its quantification limit, is precise and accurate in the specified range and presents robustness in terms of solution stability.

Keywords: Selectivity; Precision; Accuracy; Robustness.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. OBJETIVOS	11
<i>OBJETIVO GERAL</i>	11
<i>OBJETIVO ESPECÍFICOS</i>	11
1.2. JUSTIFICATIVA	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. MATERIAL E REAGENTES	19
3.2. TÉCNICA	20
3.3. SISTEMA CROMATOGRÁFICO	20
3.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES ²¹	21
3.5. PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÕES E AMOSTRAS ²¹	21
3.6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL PARA ADEQUABILIDADE DO MÉTODO	23
<i>Seletividade</i> ^{20, 21}	23
<i>Precisão</i> ^{20,21}	28
<i>Exatidão</i> ^{20,21}	29
<i>Robustez</i> ²¹	29
3.7. CÁLCULOS.....	30
<i>Desvio padrão</i>	30
<i>Desvio padrão relativo</i>	30
<i>Fator resposta das soluções system suitability e controle</i>	30
<i>Fator resposta médio da solução padrão 1</i>	30
<i>Erro relativo percentual das soluções padrão</i>	31
<i>Fator resposta médio de quantificação</i>	31
<i>Teor das impurezas individual e total na solução amostra</i>	31
<i>Fator resposta médio das soluções controle</i>	32
<i>Erro relativo percentual das soluções controle</i>	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. SELETIVIDADE	33
4.2. PRECISÃO E EXATIDÃO	59
4.3. ROBUSTEZ.....	63
5. CONCLUSÃO.....	65
6. REFERENCIAS	67
7. APÊNDICE	70
8. GLOSSÁRIO	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da Losartana Potássica.	12
Figura 2. Sistema de bombeamento quartenário de um Acquity UPLC H-Class Plus.	17
Figura 3. Sistema de detecção por arranjo de fotodiodos em um Acquity UPLC H-Class Plus.	18
Figura 4. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower na solução system suitability.	34
Figura 5. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower para solução sensibilidade.	35
Figura 6. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower para solução padrão.	36
Figura 7. Cromatograma da solução diluente.	36
Figura 8. Cromatograma da solução padrão no max plot no intervalo de 4 a 5 min.	37
Figura 9. Noise Spectrum.	37
Figura 10. Cromatograma da solução padrão analisado no max plot no CLU017.	38
Figura 11. Cromatograma do Padrão SQR analisado no Max Plot (1 μ L) no CLU017.	39
Figura 12. Cromatograma do Padrão SQR analisado no MAX Plot (2 μ L) no CL070.	39
Figura 13. Parâmetros de purity.	40
Figura 14. Gráfico de pureza da solução padrão de losartana no CLU017.	40
Figura 15. Gráfico de pureza da solução padrão de losartana no CL070.	41
Figura 16. Cromatogramas das soluções controle I – Químicos (ácido, básico e íons metálicos): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18I79J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (18I976);	42
Figura 17. Cromatogramas das soluções controle II – Químicos (oxidativo): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18I79J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (18I976); (H) PA 100 mg – IPCA.	42
Figura 18. Cromatogramas das soluções controle – Físicos (foto, térmico, umidade): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18I79J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (18I976); (H) PA 100.	43
Figura 19. Cromatograma da solução amostra PA 1 50 mg – ZHEJIANG – 18I79J, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	45
Figura 20. Estrutura química das impurezas específicas E e F (dímeros) da losartana potássica quando submetida a condições de hidrólise ácida.	45
Figura 21. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J expostas a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	47
Figura 22. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	49
Figura 23. Cromatogramas das soluções expostas a degradação oxidativa durante 4 dias: (A) Branco; (B) PLA - 50 mg; (C) PLA - 100 mg.	50
Figura 24. Cromatograma da solução amostra IFA– IPCA exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 4 dias.	51
Figura 25. Cromatograma da solução amostras PA 50 mg IPCA (18I79J), exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 4 dias.	51
Figura 26. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg IPCA (18E18G) exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 4 dias.	52
Figura 27. Mecanismo de reação de degradação oxidativa do grupamento funcional álcool a subprodutos de reação, tais como: aldeído, cetona e ácido carboxílico ²⁶	52
Figura 28. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG-18E18G exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.	54
Figura 29. Proposta de mecanismo de reação de degradação fotolítica da losartana potássica via reação de cicloadição [1 + 4] na presença de oxigênio singlete. ²⁷	55
Figura 30. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA - 18I976, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.	57
Figura 31. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.	58
Figura 32. Sobreposição dos cromatogramas da solução teste, injetada no tempo de 0, 18 e 40 horas.	64

Figura 33. Sobreposição dos cromatogramas da solução teste antiga e nova.	64
Figura 34. Cromatograma da solução amostra IFA 1 – ZHEJIANG, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	74
Figura 35. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	74
Figura 36. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG – 18I79J, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	74
Figura 37. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 18I976, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	75
Figura 38. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG – 18E18G, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	75
Figura 39. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA – 18A32E, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.	75
Figura 40. Cromatograma da solução amostra IFA 1 – ZHEJIANG, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	76
Figura 41. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	76
Figura 42. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	76
Figura 43. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA - 18I976, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	77
Figura 44. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	77
Figura 45. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.	77
Figura 46. Cromatograma da solução amostra IFA 1- ZHEJIANG, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	78
Figura 47. Cromatograma da solução amostra IFA 2 - IPCA, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	78
Figura 48. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	78
Figura 49. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 18I976, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	79
Figura 50. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	79
Figura 51. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl ₃ 0,05 mol/L) durante 24 horas.	79
Figura 52. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 6 dias.	80
Figura 53. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 18I79J, exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 6 dias.	80
Figura 54. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA – 18E18G, exposta a degradação oxidativa (H ₂ O ₂ 0,3%) durante 6 dias.	80
Figura 55. Cromatograma da solução amostra IFA – ZHEJIANG, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.	81
Figura 56. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.	81
Figura 57. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.	81
Figura 58. Cromatograma da solução amostra IFA – ZHEJIANG, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.	82
Figura 59. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.	82

Figura 60. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.....	82
Figura 61. Cromatograma da solução amostra IFA – IPCA, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.	83
Figura 62. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 18I976, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.	83
Figura 63. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros a serem considerados na validação analítica.....	14
Tabela 2. Condições de degradação forçada aplicadas em estudos de estresse, conforme recomendação da organização mundial da saúde. ¹⁰	15
Tabela 3. Equipamentos utilizados na indústria farmacêutica Prati-Donaduzzi para validação da adequabilidade.....	19
Tabela 4. Padrão utilizados na validação.	19
Tabela 5. Amostras utilizadas na validação.	19
Tabela 6. Reagente utilizados na adequabilidade.....	20
Tabela 7. Sistema gradiente fase móvel. ²¹	20
Tabela 8. Tempo de exposição e condições de estresse.	43
Tabela 9. Resultados das amostras submetidas a estresse ácido - HCl.....	44
Tabela 10. Resultados das amostras submetidas a estresse básico - NaOH.	46
Tabela 11. Resultados das amostras submetidas a estresse por íons metálicos.....	48
Tabela 12. Resultados das amostras submetidas a estresse oxidativo – H ₂ O ₂	49
Tabela 13. Resultados das amostras em estresse fotolítico.....	53
Tabela 14. Resultados das amostras em estresse térmico.....	56
Tabela 15. Resultados das amostras em estresse por umidade.....	57
Tabela 16. Resultados da Precisão/Exatidão I (repetibilidade) – 50 mg - para impurezas inespecíficas ³⁰	60
Tabela 17. Resultados da Precisão/Exatidão I (repetibilidade) – 100 mg - para impurezas inespecíficas ³⁰	60
Tabela 18. Resultados da Precisão/Exatidão II (intermediária) – 50 mg - para impurezas inespecíficas ³⁰	61
Tabela 19. Resultados da Precisão/Exatidão II (intermediária) – 100 mg - para impurezas inespecíficas ³⁰	61
Tabela 20. Resultados da Precisão Intermediária – 50 mg ³⁰	62
Tabela 21. Resultados da Precisão Intermediária – 100 mg ³⁰	62
Tabela 22. Estabilidade/Recuperação da solução padrão.....	63
Tabela 23. Estabilidade/Recuperação da solução teste.....	63

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1. Desvio padrão.	30
Equação 2. Desvio padrão relativo.	30
Equação 3. Fator resposta.	30
Equação 4. Fator resposta médio da solução padrão 1.....	31
Equação 5. Erro relativo percentual das soluções padrão.....	31
Equação 6. Fator resposta médio de quantificação.	31
Equação 7. Teor de impureza na solução amostra.....	31
Equação 8. Impurezas totais da solução amostra.....	32
Equação 9. Fator resposta médio para solução controle.	32
Equação 10. Erro relativo percentual das soluções controle.....	32
Equação 11. Teor em base seca.....	59

SIGLAS

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

PA – Produto Acabado

PDA – Arranjo de Fotodiodos

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SR – Substâncias Relacionadas

USP – United States Pharmacopeia

UV-Vis – Ultra violeta visível

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de garantir a qualidade de medições químicas na indústria farmacêutica requer perante a legislação a utilização de métodos analíticos cada vez mais robustos e bem validados para garantirem resultados precisos para a segurança do produto a ser fabricado e comercializado.

Uma análise química consiste na aplicação de uma série de processos para identificação ou quantificação de um analito presente em uma amostra. Tais análises podem ser por espectrometria no infravermelho, visível e ultravioleta; espectrometria de absorção atômica, molecular ou de fluorescência; espectrometria de massa; espectrometria de raio X; espectro-analíticos, eletroanalíticos; termoanalíticos, cromatográficos entre outros e são realizados em princípios ativos e excipientes.

A crescente demanda e busca por medicamentos cada vez mais efetivos traz a preocupação na segurança destes produtos para seus usuários. A pureza é um dos principais atributos de qualidade em matérias primas e produtos finais nas farmacêuticas, já que a identificação e determinação quantitativa de impurezas podem ajudar a controlar ou minimizar o risco de efeitos adversos de medicamentos. Neste sentido, para identificação e quantificação de impurezas e produtos de degradação torna-se necessário empregar-se métodos de comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade.

Os métodos da rotina laboratorial podem ser desenvolvidos no local ou por farmacopeias e são versionados e revisados internamente sempre que necessária modificações e atualizações nas análises.

A revisão periódica de produtos deve ser realizada para todos os medicamentos registrados com o objetivo de verificar a consistência dos processos produtivos, a adequabilidade das especificações em uso para matérias primas e produto acabado e permitir a identificação de tendências e de possível necessidade de melhorias no produto ou processo.

Conforme Resolução RDC nº 17/2010¹ todas as empresas devem ter estabelecido procedimentos escritos para realização das revisões periódicas de produto, ter definido a forma de obtenção dos dados a serem utilizados e apresentar cronograma das revisões que serão preparadas durante o ano, com base em critérios previamente estabelecidos.

Conforme parágrafo único do artigo 209 da RDC nº 17 de 16 de abril de 2010¹, métodos analíticos compendiais não requerem validação, entretanto antes de sua implementação, devem existir evidências documentadas de sua adequabilidade nas condições operacionais do laboratório; onde deve-se demonstrar resultados confiáveis e adequabilidade a sua finalidade de forma documentada.

O método de losartana 50 e 100 mg para comprimido revestido foi versionado pela farmacopeia USP – *United States Pharmacopeial*, então será avaliado perante validação parcial. Os parâmetros a serem avaliados na validação deste método são exatidão, precisão repetibilidade, precisão intermediária seletividade e robustez.

1.1. OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo especificar as diretrizes para a adequabilidade da metodologia analítica compendial de impurezas orgânicas para losartana potássica 50 e 100 mg comprimido revestido garantindo, através de estudos experimentais e balanço de massas a determinação do conteúdo de substância ativa e impurezas presente nos comprimidos, de forma que o método atenda aos parâmetros analíticos estabelecidos e assegure a confiabilidade dos resultados pela técnica de cromatografia líquida de ultra pressão – UPLC.

OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como principal objetivo executar os experimentos do método analítico de impurezas orgânicas para losartana potássica 50 e 100 mg comprimido revestido, provando através da validação parcial que este se encontra apto para quantificação das impurezas específicas e inespecíficas dentro dos limites especificados.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

Analisar a capacidade de separação, identificação e quantificação das potenciais impurezas e produtos de degradação do ativo por meio da análise de seletividade.

Analisar a precisão e exatidão na faixa de quantificação.

Analisar a sensibilidade para quantificação das impurezas desde seu limite de notificação.

Analisar a robustez para pequenas e deliberadas alterações que podem ocorrer na rotina laboratorial.

1.2. JUSTIFICATIVA

A adequabilidade do método compendial será verificada por meio da comprovação de que o método é capaz de: separar, identificar e quantificar as impureza e produtos de degradação do ativo; de que o método é preciso e exato na faixa especificada; de que o método possui sensibilidade suficiente para quantificar as impurezas específicas e inespecíficas desde o seu limite de quantificação e de que o método é robusto na rotina laboratorial conforme exigido no artigo 8º da RDC no 166 de 24 de Julho de 2017.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Losartana potássica é uma substância química ativa de fórmula molecular $C_{22}H_{22}ClKN_6O$ e estrutura química conforme a **Figura 1**. É um anti-hipertensivo sintético potente popularmente conhecido no tratamento de hipertensão que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Por esta razão, é cada vez mais usado no combate a morbidade cardiovascular.²

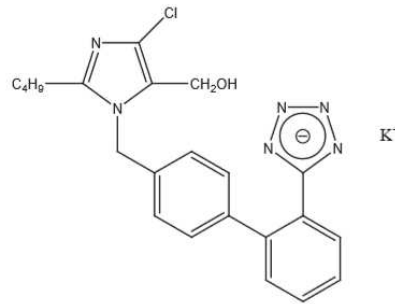


Figura 1. Estrutura química da Losartana Potássica.

A losartana potássica possui mecanismo de antagonizar a ação da angiotensina II por meio do bloqueio específico de seus receptores, subtipo AT 1 resultando na inibição da vasoconstrição e diminuição da síntese da aldosterona.³

Na indústria farmacêutica Prati-Donaduzzi encontra-se losartana potássica como produto final 50 e 100 mg em comprimidos revestidos.

Para produção deste medicamento é necessário realizar no controle de qualidade uma série de análises que assegurem a conformidade do produto acabado com as suas respectivas especificações, garantindo as características consistentes e reprodutíveis do medicamento, de forma a assegurar similitude dos efeitos farmacodinâmicos em todos os pacientes.

Para garantir a segurança e qualidade de um fármaco, a pureza da substância ativa farmacêutica torna-se um ponto essencial. Nas diversas etapas da produção de um fármaco, pode ocorrer o surgimento de impurezas, e surgirem impurezas por influências ambientais, como temperatura, umidade, pH, luz, gases, oxigênio, gás carbônico. Esses fatores podem transformar a substância ativa em produtos de degradação, que são menos eficazes que o ativo e podem até causar efeitos colaterais, prejudicando a segurança do medicamento. Portanto, o ideal é que o ativo seja o mais puro possível e que a porcentagem de impurezas e produtos de degradação sejam mínimas.⁴

Uma impureza no medicamento é qualquer componente que não seja a substância ou um excipiente do medicamento. Em um produto farmacêutico, uma impureza é, em primeiro lugar, uma questão de qualidade, já que potencialmente comprometer a eficácia deste. Qualquer impureza presente em um medicamento deve ser totalmente entendida, tanto qualitativa quanto quantitativamente. As impurezas

farmacêuticas são inevitáveis porque nenhuma reação química tem 100% de seletividade e nenhum composto químico é 100 % estável.⁴

Considerando que os métodos compendiais podem não abranger todas as possíveis formulações de um medicamento, a aplicabilidade do método compendial para a formulação de cada empresa em particular deve ser demonstrada, garantindo que não há nada no produto que interfira no método ou que afete seu desempenho. Deve-se também comprovar que as impurezas que seriam esperadas a partir da rota de síntese ou da formulação são controladas pelo método. Informações para demonstrar que o método analítico compendial é adequado para o medicamento ou matéria-prima sob condições reais de uso devem estar disponíveis.

Os testes necessários para a avaliação da adequabilidade de métodos compendiais variam de acordo com complexidade do método e do material a ser analisado. Embora não seja necessário repetir todos os parâmetros normalmente realizados na validação de métodos analíticos, alguns parâmetros podem ser utilizados para avaliação da adequabilidade de métodos compendiais nas condições reais de uso. Informações sobre a especificidade, precisão e estabilidade da solução da amostra devem ser incluídas.¹

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis, este deve passar por uma avaliação denominada validação. Tem por finalidade assegurar a credibilidade da análise durante o uso rotineiro, sendo algumas vezes mencionado como o processo que fornece uma evidência documentada de que o método realiza aquilo para o qual é indicado a fazer.⁵

Para validação de metodologias analíticas, deve-se utilizar equipamentos qualificados e calibrados. Os parâmetros de validação e seus respectivos critérios de aceitação devem ser definidos de acordo com as características do analito e da natureza do método.⁶

Em análises de substâncias relacionadas verifica-se exatidão, precisão repetibilidade, precisão intermediária, seletividade, linearidade e intervalo, conforme descrito na **Tabela 1**.⁷

Tabela 1. Parâmetros a serem considerados na validação analítica.

Parâmetro Avaliado	Identificação	Teste de Impurezas		Doseamento
		Quantitativo	Ensaio Limite	-dissolução (quantificação) -uniformidade de conteúdo -potência
Exatidão	não	sim	não	Sim
Precisão Repetibilidade	não	sim	não	Sim
Precisão Intermediária	não	sim ⁽¹⁾	não	sim ⁽¹⁾
Seletividade ⁽²⁾	sim	sim	sim	sim
Limite de Detecção	não	não ⁽³⁾	sim	não
Limite de quantificação	não	sim	não	não ⁽³⁾
Linearidade	não	sim	não	sim
Intervalo	não	sim	não	sim

(1) Nos casos em que foi conduzida a reprodutibilidade, não é necessário conduzir a precisão intermediária. (2) Nos casos de ensaios de identificação, pode ser necessária a combinação de dois ou mais procedimentos analíticos para atingir o nível necessário de discriminação. (3) Pode ser necessário em alguns casos.

A seletividade relata a capacidade do método de identificar ou quantificar o analito na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como diluente e impurezas, garantindo a pureza dos picos cromatográficos. Para métodos quantitativos a seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência do diluente, da matriz e de impurezas. A utilização de testes de pureza de pico é interessante para demonstrar que o pico cromatográfico é atribuído a um só componente.^{5,6}

A seletividade deve ser comprovada por análises de degradação forçada. Caminhos de degradação são tipicamente reações de hidrólise, oxidação, fotólise e/ou química ácido-base. Para forçar essas reações, a IFA ou o produto acabado são submetidos a solução sob condições de estresse, como as mostradas na **Tabela 2**. Para medicamentos bem estabelecidos, algumas dessas informações podem já estar disponíveis na literatura. O objetivo não é degradar completamente a IFA e o produto acabado, mas fazer com que a degradação ocorra em pequena escala, normalmente 10 a 30% de perda de ativo por ensaio quando comparado com a IFA e produto acabado não degradado. Essa meta é escolhida para que alguma degradação ocorram, mas não o suficiente para gerar produtos secundários.⁹ Por essa razão, as condições e a duração podem precisar ser variadas quando a IFA e produto acabado são especialmente suscetíveis a um fator de estresse específico. Se nenhum produto de degradação for detectado após 10 dias sob as condições da **Tabela 2**, a IFA e o produto acabado serão considerados estáveis. Se a degradação for detectável, mas a sua extensão for significativamente menor que 10%, então os fatores

de estresse, condições de estresse ou duração podem precisar ser aumentados para identificar e monitorar os produtos de degradação.^{8,9}

Tabela 2. Condições de degradação forçada aplicadas em estudos de estresse, conforme recomendação da organização mundial da saúde.¹⁰

Fator de estresse	Condições	Concentração	Período
Calor	60 °C	1:1 com diluente	1-10 dias
Umidade	75 % umidade relativa ou maior	Sólido	1-10 dias
Ácido	0,1 mol/L HCl	2:1 em 0,1 mol/L HCl	1-10 dias
Base	0,1 mol/L NaOH	2:1 em 0,1 mol/L NaOH	1-10 dias
Oxidação	3 % de H ₂ O ₂	1:1 em 3 % de H ₂ O ₂	1-3 horas
Fotólise	Lâmpada de iodeto metálico, mercúrio, xenônio, ultravioleta ou fluorescente.	1:1 com diluente	1-10 dias
Íons metálicos	0,05 mol/L Fe ²⁺ ou Cu ²⁺	1:1 com solução do íon metálico	1-10 dias

A precisão deve avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método a ser validado, sendo expressa por repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade e avaliando-se a dispersão dos resultados pelo cálculo de desvio padrão relativo. Para avaliação das amostras, estas devem ser preparadas de modo independente.⁵

A repetibilidade avalia as amostras sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica. Deve-se utilizar, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, três concentrações: baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível ou seis réplicas a cem por cento da concentração do teste individualmente preparadas.⁵

A reprodutibilidade deve ser obtida por meio da proximidade dos resultados obtidos em preparo por analistas e dias diferentes. É aplicável na padronização de métodos analíticos para inclusão desses em compêndios oficiais. Os critérios de aceitação devem ser definidos e justificados de acordo com: objetivo do método; variabilidade intrínseca do método; concentração de trabalho e concentração do analito na amostra.⁵

A exatidão é obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Deve ser verificada a partir de, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, três concentrações: baixa, média e alta, com três réplicas em cada níveis. As amostras para avaliação da exatidão devem ser preparadas de maneira independente.⁵ A exatidão deve ser expressa pela relação percentual de recuperação do analito de concentração conhecida adicionado à amostra ou pela relação entre a

concentração média, determinada experimentalmente, e a concentração teórica correspondente. Deve-se calcular o desvio padrão relativo para cada concentração.^{5,7}

A robustez é um parâmetro realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. Pode ser avaliada sob os aspectos de variação de pH da solução e diferentes lotes ou fabricantes de solventes^{5,7}.

Para validação da adequabilidade de método analítico da losartana potássica produto acabado foi utilizado a técnica de cromatografia líquida. Para a garantia da qualidade analítica dos resultados, todos os equipamentos utilizados da validação devem estar devidamente calibrados.

A cromatografia líquida de alta pressão (HPLC - High Pressure Liquid Chromatography) é uma técnica físico-química de separação que passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos, devido sua grande capacidade de separar e quantificar misturas com um grande número de substâncias similares em poucos minutos, com alta resolução, eficiência e detectabilidade. A técnica se baseia no equilíbrio dos componentes de interesse, entre duas fases imiscíveis: fase estacionária e fase móvel.¹¹

Os principais componentes dos cromatógrafos líquido são um sistema de bombas, um sistema de injeção da amostra, a coluna cromatográfica, o detector e um sistema que permite registrar e fazer o tratamento da resposta analítica do detector – software e computador.

Essa técnica de separação emprega colunas recheadas com uma grande variedade de materiais e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões.¹² As fases estacionárias mais utilizadas em HPLC para separação de compostos orgânicos operam no modo fase reversa e são baseadas em sílica com grupos octadecil quimicamente ligados (C18). As fases móveis de fase reversa são misturas de metanol: água, acetonitrila: água ou tetraidrofurano: água com ajuste de seletividade e força cromatográfica da fase móvel para obtenção de resolução adequada de forma que ocorra a separação de todos os picos cromatográficos. A adição de modificadores, como ácido fórmico, acetato de amônio, ou a utilização de tampões, ocorre de modo a desfavorecer a ionização dos analitos através do ajuste de pH do meio e, com isso, melhorar suas interações com a fase estacionária.¹³

Para validação da adequabilidade deste método analítico foi utilizado um equipamento de cromatografia líquida de ultra pressão da Waters, modelo Acquity UPLC H-Class Plus, no qual possui um sistema de bombas quaternárias, forno para a coluna, sistema de injeção automática e detector de fotódiodos (PDA) UV-Vis.

Um cromatógrafo líquido de ultra pressão (UPLC) apresenta vantagens com relação ao cromatógrafo líquido de alta pressão (HPLC). Como o nome mesmo já diz, cromatógrafo líquido de ultra pressão tem uma capacidade maior de suportar altas pressões, opera com colunas menores e que possuem partículas de diâmetro menores, apresenta uma maior sensibilidade de detecção dos compostos

presentes na amostra, seu consumo de solvente é relativamente inferior. O equipamento proporciona maior rapidez e elevada eficiência na separação dos compostos.^{14,15,16}

O sistema de bombas promove a circulação da fase móvel, a um determinado fluxo, ao longo de todo o sistema cromatográfico, podendo ser programado para efetuar a introdução dos componentes da fase móvel em proporções variáveis, eluição em gradiente, ou a uma proporção constante, eluição isocrática. A fase móvel flui continuamente através do sistema arrastando a amostra injetada, pelo sistema de injeção, através da fase estacionária constituída pela coluna cromatográfica. A **Figura 2** representa o sistema de bombas do UPLC Waters Acquity UPLC H-Class Plus.

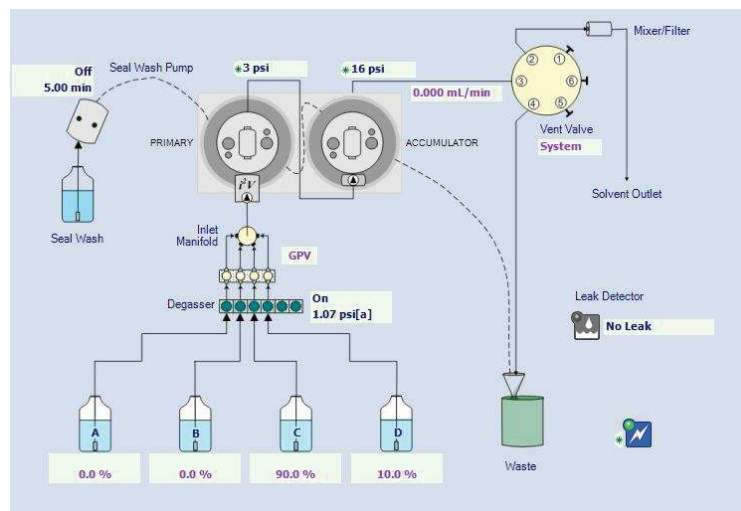


Figura 2. Sistema de bombeamento quaternário de um Acquity UPLC H-Class Plus.

Detectores UV-Vis apresentam alta sensibilidade, não são destrutivos, permitem trabalhar com gradientes, respondem a uma larga faixa de concentração, são relativamente insensíveis a variação de temperatura e vazão de fase móvel.

Detectores de arranjo de fotodiodos (PDA) permitem determinar os espectros das substâncias presentes da amostra no eluente com diferentes comprimentos de onda durante a análise cromatográfica. Esses detectores possibilitaram o desenvolvimento de métodos mais sensíveis e seletivos, sendo amplamente aplicados às áreas industrial, farmacêutica e clínica^{17,18}. A obtenção de um espectro para cada tempo de retenção permite não só uma verificação mais completa a respeito da pureza do pico cromatográfico e conseqüentemente da eficiência da separação¹⁷ como também uma análise mais rápida, pois em uma única eluição todos os cromóforos podem, em tese, ser observados. Na **Figura 3** está representado um esquema de arranjo de fotodiodos.

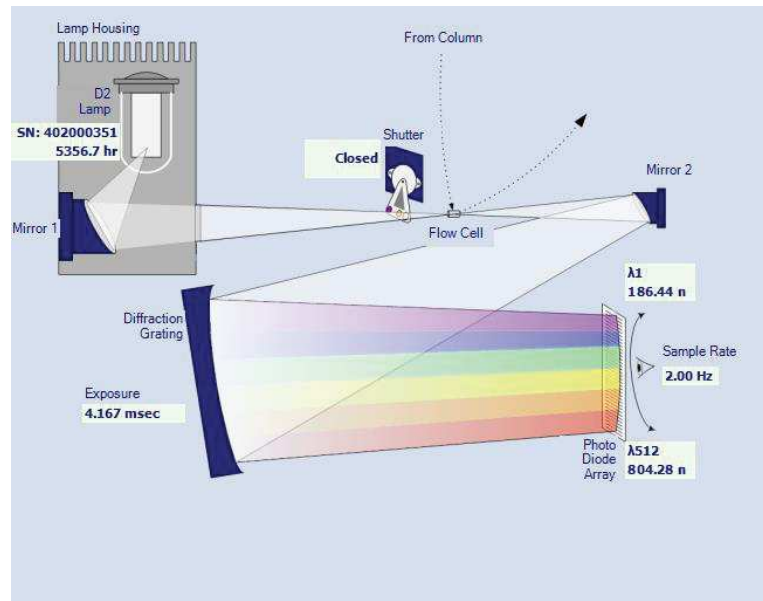


Figura 3. Sistema de detecção por arranjo de fotodiodos em um Acquity UPLC H-Class Plus.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material e reagentes

Para execução das análises foi utilizado os equipamentos conforme **Tabela 3**.

Tabela 3. Equipamentos utilizados na indústria farmacêutica Prati-Donaduzzi para validação da adequabilidade.

Equipamento	Identificação	Validade/ Calibração
UPLC Waters	CLU017	02/2019
Estufa	ET019	11/2019
Câmara de fotoestabilidade	CF002	11/2019
Balança analítica	WI267	01/2019
Câmara Climática	CC008	01/2019
Titulador Karl Fischer	KF001	12/2018

O padrão e as amostras utilizadas estão apresentados na **Tabela 4** e **5**, respectivamente.

Tabela 4. Padrão utilizados na validação.

Insumo	Procedência	Pureza	Lote	Validade
Losartan Potassium	British Pharmacopeia	99,8 %	H1M331	10/2019

Tabela 5. Amostras utilizadas na validação.

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 (Zhejiang)	18I79J	09/2020
Losartana potássica 100 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi (Zhejiang)	18E18G	05/2020

Losartana potássica 50 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi (IPCA)	18I976	09/2020
Losartana potássica 100 mg comprimido revestido	Prati Donaduzzi (IPCA)	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

Os reagentes utilizados, estão apresentados na **Tabela 6**, possuem grau de pureza HPLC, exceto o cloreto de ferro III que é grau PA (para análise).

Tabela 6. Reagente utilizados na adequabilidade.

Reagentes	Marca	Lote	Validade
Acetonitrila	Merck	1094845	31/01/2022
Ácido clorídrico	Scharlau	1092144	30/09/2021
Ácido fosfórico	Scharlau	1092147	30/12/2021
Cloreto de ferro III	Synth	967661	19/10/2020
Fosfato de sódio dibásico	Bio-Grade	1037800	30/11/2019
Hidróxido de sódio	Scharlau	1073746	22/05/2023
Peróxido de hidrogênio	Neon	1069320	07/10/2020

3.2. Técnica

Cromatografia líquida de ultra pressão por fase-reversa com detecção por absorção molecular na região do ultravioleta/visível (Waters, Acquity UPLC H-Class Plus)

3.3. Sistema cromatográfico

Fase móvel:

Tabela 7. Sistema gradiente fase móvel.²¹

Tempo (minutos)	Solução A (%)	Solução B (%)
0 - 10	80 - 40	20 - 60
10 - 11	40 - 80	60 - 20
11 - 15	80	20

As soluções de limpeza utilizadas no equipamento foram acetonitrila 10% para o canal coluna e acetonitrila 70% para o canal de injeção. Utilizou-se fluxo de 1 mL por minuto, um volume de injeção de 10 µL. A coluna utilizada é da marca Waters Symmetry, de fase estacionária C8 (L7), comprimento de 150 mm, diâmetro de 3,9 mm e particular de 5,0 µm. A análise foi realizada a temperatura ambiente, por um sistema de detecção por ultravioleta visível, na frequência de 2 Hz, em um comprimento de onda de 250 nm. Para o analito losartana potássica o tempo de retenção aproximado é de 2,5 minutos, sendo o tempo de corrida da análise de 15 minutos.²¹

3.4. Preparo das soluções²¹

- Solução A

Acetonitrila e Tampão Fosfato pH 7,0 na proporção 15:85 (v/v).

- 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 1000 mL e completou-se o volume com água purificada. Ajustou-se o pH para 7,0 com ácido fosfórico ou solução de hidróxido de sódio. Homogeneizou-se, filtrou-se em membrana PTFE ou filtro equivalente de 0,45 µm e degaseificou-se antes do uso.

- Solução ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹

Transferiu-se 8,5 mL de ácido clorídrico, para balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água purificada. Esperou-se resfriar a temperatura ambiente, completou-se o volume com água purificada e homogeneizou-se por inversão.

- Solução hidróxido de sódio 0,1 mol.L⁻¹

Dissolveu-se 4,0 g de hidróxido de sódio em 500 mL de água purificada. Esperou-se resfriar a temperatura ambiente, transferiu-se esta solução para balão volumétrico de 1000 mL, completou-se o volume com água purificada e homogeneizou-se

3.5. Preparo das soluções padrões e amostras²¹

- Solução estoque *system suitability*

Transferiu-se 12 mg de padrão de losartana potássica *system suitability* para um frasco com tampa, adicionou-se 5 mL de água purificada e 5 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹. Tampou-se, levou-se o frasco à estufa aquecida à 105 °C por 1 ou 2 horas. Depois deixou-se resfriar 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 mol.L⁻¹ e completou-se o volume do balão com água purificada. Ajustou-se o pH desta solução para 6,0 com ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹.

- Solução *system suitability*

Transferiu-se 7 mL da solução estoque *system suitability* para balão volumétrico de 10 mL. Completou-se o volume com acetonitrila, homogeneizou-se e filtrou-se com membrana PTFE de 0,45 µm.

- Solução padrão SR estoque 1 e 2

Transferiu-se 12,5 mg de padrão de losartana potássica para balão volumétrico 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 volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,00 µg/mL

- Solução padrão SR 1 e 2

Transferiu-se 1,0 mL da solução padrão SR estoque para balão volumétrico de 100 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 2,50 µg/mL

- Solução sensibilidade

Transferiu-se 1,0 mL da solução padrão SR para balão volumétrico de 10 mL. Completou-se o volume de balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 0,25 µg/mL

- Solução estoque amostra

Transferiu-se 10 comprimidos para balão volumétrico de 500 mL e adicionou-se 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Resfriou-se a temperatura ambiente e completou-se o volume do balão com a solução A. Homogeneizou-se. [Losartana potássica] = 1000,00 µg/mL para comprimidos de 50 mg e 2000,00 µg/mL para comprimidos de 100 mg.

- Solução amostra 50 mg

Transferiu-se 5 mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,00 µg/mL

- Solução amostra 100 mg

Transferiu-se 2,5 mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,00 µg/mL

- Diluente

Filtrou-se solução A em membrana PTFE do 0,45 μm .

- Solução controle

Utilizou-se solução *system suitability*, solução sensibilidade e solução padrão SR 1 e 2 como controle.

3.6. Procedimento experimental para adequabilidade do método

As soluções a seguir são para executar a adequabilidade do método farmacopeico, por meio da aplicação das análises de seletividade, precisão, exatidão e robustez.²⁰

Seletividade^{20, 21}

Preparo das soluções de estresse:

- Estresse ácido: HCl 5,0 mol.L^{-1}

Transferiu-se volumetricamente 20,9 mL de ácido clorídrico (36-38%) para balão volumétrico de 50 mL contendo aproximadamente 10 mL de água purificada. Homogeneizou-se e resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão volumétrico com água.

- Estresse alcalino: Hidróxido de sódio 5,0 mol.L^{-1}

Pesou-se 5 g de hidróxido de sódio para balão volumétrico de 25 mL contendo aproximadamente 10 mL de água purificada. Agitou-se até completa solubilização e resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão volumétrico com água.

- Estresse oxidativo: H_2O_2 15%

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.

- Estresse íons metálicos: FeCl_3 0,05 mol.L^{-1}

Pesou-se 0,675 g de cloreto de ferro III hexa-hidratado (MM 270,3 g/mol) para balão volumétrico de 50 mL contendo aproximadamente 25 mL de água purificada. Agitou-se até completa solubilização e resfriou-se a temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão volumétrico com água purificada.

Preparo das soluções padrões

- Solução *system suitability*, solução sensibilidade e solução padrão SR: conforme preparo do método analítico, item 3.5.

- Solução padrão para verificação da pureza de pico: utilizar solução padrão SR estoque filtrada em membrana PTFE de 0,45 μm .

Preparo das soluções estoque seletividade

As soluções^{20,21} a seguir foram preparadas para os fabricantes de losartana potássica *Zhejiang Tianyu Pharmaceutical Co. Ltd e IPCA Laboratories Limited e Prati Donaduzzi Cia Ltda*

- Solução estoque IFA

Transferiu-se 100 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 30 mL de solução A e levou-se ao ultrassom até completa solubilização. Aguardou-se a solução retornar a temperatura ambiente, completou-se o volume com o mesmo solvente, homogeneizou-se por inversão. [Losartana potássica] = 1000,0 µg/mL.

- 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 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Após retirada do balão volumétrico do ultrassom, aguardou-se a solução retornar a temperatura ambiente e completou-se o volume com a solução A. Homogeneizou-se por inversão. [Losartana potássica] = 1000,0 µg/mL.

- Solução estoque placebo

Transferiu-se quantidade de placebo equivalente a 100 mg (aproximadamente 107,98 mg para 50 mg e 213,83 mg para 100 mg) para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 50 mL de solução A e levou-se ao ultrassom por 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Aguardou-se resfriamento a temperatura ambiente e completou-se o volume com a solução A. Homogeneizou-se por inversão. [Losartana potássica]_{eq} = 1000,0 µg/mL para comprimido de 50 mg e 2000,0 µg/mL para comprimidos de 100 mg.

Preparo das soluções de estresse forçado

Estresse ácido

- Solução branco

Transferiu-se 10 mL de solução A e 4,0 mL de HCl 5 mol.L⁻¹ balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL, neutralizou-se com hidróxido de sódio 5 mol.L⁻¹ e completou-se com solução A, homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm.

- Solução teste IFA, produto acabado 50 e 100 mg e placebo 50 e 100 mg.

Transferiu-se 10 mL da solução estoque para balão volumétrico de 20 mL. Adicionou-se 4,0 mL de HCl mol.L⁻¹ e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação,

transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL, neutralizou-se com hidróxido de sódio 5 mol.L⁻¹ e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL.

Estresse alcalino

- Solução branco

Transferiu-se 10 mL de solução A e 4,0 mL de NaOH 5 mol.L⁻¹ balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL, neutralizou-se com HCl 5 mol.L⁻¹, completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm.

- Solução teste IFA, produto acabado 50 e 100 mg e placebo 50 e 100 mg.

Transferiu-se 10 mL da solução estoque para balão volumétrico de 20 mL. Adicionou-se 4,0 mL de NaOH 5 mol.L⁻¹ e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL, neutralizou-se com HCl 5 mol.L⁻¹, completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL.

Estresse oxidativo

- Solução branco

Transferiu-se 10 mL de solução A e 4,0 mL de H₂O₂ 15% balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm.

- Solução teste IFA, produto acabado 50 e 100 mg e placebo 50 e 100 mg.

Transferiu-se 10 mL da solução estoque para balão volumétrico de 20 mL. Adicionou-se 4,0 mL de H₂O₂ 15% e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 10 dias. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL.

Estresse por íon metálico

- Solução branco

Transferiu-se 10 mL de solução A e 2,0 mL de FeCl_3 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 24 horas. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de $0,45 \mu\text{m}$.

- Solução teste IFA, produto acabado 50 e 100 mg e placebo 50 e 100 mg.

Transferiu-se 10 mL da solução estoque para balão volumétrico de 20 mL. Adicionou-se 2,0 mL de FeCl_3 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se e manteve-se a solução em temperatura ambiente e protegida da luz durante o período de 24 horas. Após o tempo de degradação, transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de $0,45 \mu\text{m}$. [Losartana potássica] = $250,0 \mu\text{g/mL}$.

Estresse fotolítico

- IFA

Pesou-se 300 mg de losartana potássica 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 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 intensidade de 1,2 milhões lux/hora.

- Placebo

Transferiu-se quantidade de placebo equivalente a 300 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 intensidade de 1,2 milhões lux/hora.

Estresse térmico

- IFA

Transferir 300 mg de losartana potássica para frasco âmbar vedado e levar para estufa a uma temperatura de 60°C por um período de 10 dias.

- Produto acabado

Transferir 20 comprimidos de losartana potássica (50 e 100 mg) para frasco âmbar vedado e levar para estufa a uma temperatura de 60°C por um período de 10 dias.

- Placebo

Transferir quantidade de placebo equivalente a 300 mg para frasco âmbar vedado e levar para estufa a uma temperatura de 60°C por um período máximo de 10 dias

Estresse umidade

- IFA

Transferiu-se 300 mg de losartana potássica para frasco âmbar com tampa aberta e levar para câmara climática à 40°C e 75% de umidade relativa por um período de 10 dias.

- Produto acabado

Transferiu-se 20 comprimidos de losartana potássica (50 e 100 mg) para frasco âmbar com tampa aberta e levar para câmara climática à 40°C e 75% de umidade relativa por um período de 10 dias.

- Placebo

Transferiu-se uma quantidade de placebo equivalente a 300 mg para frasco âmbar com tampa aberta e levou-se para câmara climática à 40°C e 75% de umidade relativa por um período de 10 dias.

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

- Solução teste IFA

Transferiu-se 100 mg da amostra para um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se cerca de 30 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom até completa solubilização. Aguardou-se resfriamento a temperatura ambiente e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se. Transferiu-se 5 mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL

- Solução teste produto acabado 50 mg

Transferiu-se 10 comprimidos de losartana potássica para um balão volumétrico de 500 mL, e adicionou-se cerca de 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Aguardou-se resfriamento a temperatura ambiente e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se. Transferiu-se 5 mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL

- Solução teste produto acabado 100 mg

Transferiu-se 10 comprimidos de losartana potássica para um balão volumétrico de 500 mL, e adicionou-se cerca de 250 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Aguardou-se resfriamento a temperatura ambiente e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se. Transferiu-se 2,5

mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL

- Solução teste placebo

Transferiu-se quantidade de placebo equivalente a 100 mg (aproximadamente 107,98 mg para 50 mg e 213,83 mg para 100 mg) para um balão volumétrico de 100 mL, e adicionou-se cerca de 50 mL de solução A. Levou-se ao ultrassom por 15 minutos com eventuais agitações. Deixou-se no ultrassom por um tempo adicional de 10 minutos. Aguardou-se seu resfriamento a temperatura ambiente e completou-se o volume com solução A. Homogeneizou-se. Transferiu-se 5 mL da solução estoque amostra para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume do balão com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL

Preparo das soluções controle

- Solução branco – controle

Filtrou-se a solução A em membrana PTFE de 0,45 µm.

- Solução teste IFA, produto acabado 50 e 100 mg e placebo 50 e 100 mg – controle

Transferiu-se 10,0 mL da solução estoque para balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com solução A e homogeneizou-se. Transferiu-se 2,5 mL para balão volumétrico de 5 mL e completou-se com solução A. Homogeneizou-se e filtrou-se em membrana PTFE de 0,45 µm. [Losartana potássica] = 250,0 µg/mL.

Precisão^{20,21}

A precisão da metodologia analítica foi verificada em dois níveis.

1. Repetibilidade

Verificou-se através de nove determinações contemplando os níveis baixo, médio e alto (0,10%; 0,50% e 0,60%), compreendendo o intervalo do limite de desconsideração à 120% da especificação para as impurezas inespecíficas.

2. Precisão Intermediária

Verificou-se através de uma segunda repetibilidade realizada no mesmo laboratório, em um segundo dia e preparado por analistas diferentes.

Impurezas Inespecíficas

- Solução *system suitability*, sensibilidade, padrão SR estoque e controle: conforme método analítico, item 3.5.

- Solução amostra 0,10% 1,2 e 3

Transferiu-se 213,83 mg de placebo para balão volumétrico de 100 mL mais 1,0 mL da solução padrão SR, completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Transferiu-se 1,0 mL para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Filtrou-se em membrana PET de 0,45 μm . [Losartana potássica] = 0,25 $\mu\text{g/mL}$

- Solução amostra 0,50% 1,2 e 3

Transferiu-se 213,83 mg de placebo para balão volumétrico de 100 mL mais 1,0 mL da solução padrão SR, e completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Transferiu-se 5,0 mL para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Filtrou-se em membrana PET de 0,45 μm . [Losartana potássica] = 1,25 $\mu\text{g/mL}$

- Solução amostra 0,60% 1,2 e 3

Transferiu-se 213,83 mg de placebo para balão volumétrico de 100 mL mais 1,0 mL da solução padrão SR e completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Transferiu-se 6,0 mL para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume do balão com diluente. Homogeneizou-se. Filtrou-se em membrana PET de 0,45 μm . [Losartana potássica] = 1,50 $\mu\text{g/mL}$

Exatidão^{20,21}

A exatidão da metodologia analítica para impurezas orgânicas será verificada através de nove determinações contemplando os níveis, baixo, médio e alto (0,10%; 0,50% e 0,60%), compreendendo o intervalo do limite de desconsideração à 120% da especificação para as impurezas inespecíficas.

Preparo das soluções analíticas:

- Utilizou-se as mesmas soluções da análise de precisão para avaliação da exatidão.

Robustez²¹

A robustez do método foi avaliada comparando-se o teor da solução teste com o método sem alteração e com os métodos com alterações. Avaliou-se a pureza do espectro do pico de losartana potássica assim como a resolução com os demais picos do cromatograma.

Preparo das soluções analíticas:

- Solução *system suitability*, sensibilidade, padrão SR 1 e 2, amostra e controle: conforme método analítico, item 3.5.

3.7.Cálculos

Desvio padrão

O desvio padrão (S_{inj}) das múltiplas injeções da solução padrão SR 1 é determinado conforme **Equação 1**.

$$s_{inj} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n - 1}}$$

Equação 1. Desvio padrão.

Na qual A_i são as áreas individuais do pico de losartana potássica obtidas de cada injeção da solução padrão SR 1, \bar{A} é a média das áreas das múltiplas injeções da solução padrão SR 1 e n é o número de replicatas.

Desvio padrão relativo

O desvio padrão relativo (DPR_{inj}) é determinado pela **Equação 2**.

$$DPR_{inj} = \frac{s_{inj}}{\bar{A}} \times 100\%$$

Equação 2. Desvio padrão relativo.

Na qual S_{inj} e \bar{A} são respectivamente o desvio padrão e a média das áreas na múltiplas injeções da solução padrão SR 1.

Fator resposta das soluções *system suitability* e controle

O fator resposta de losartana potássica, em unidade de área por micrograma injetado ($UA/\mu g$), de cada injeção da solução padrão SR 1 e 2 e da solução controle é determinado pela **Equação 3**.

$$FR = \frac{A_p \times FD_p \times 100}{m_p \times T_p \times V_{inj}}$$

Equação 3. Fator resposta.

Na qual A_p é a área do pico de losartana potássica, m_p é a massa do padrão utilizado no preparo, FD_p é o fator de diluição da solução, T_p é o teor, em percentagem, do padrão e V_{inj} é o volume de injeção, em microlitros, da solução padrão SR e controle.

Fator resposta médio da solução padrão 1

O fator resposta médio da solução padrão SR 1 (FR_{p1}) é determinado pela **Equação 4**.

$$\overline{FR}_{P1} = \frac{\sum_{i=1}^n FR_{P1,i}}{n}$$

Equação 4. Fator resposta médio da solução padrão 1.

Na qual FR_{P1} são os fatores respostas individuais obtidos da solução padrão SR 1 e n é o número de injeções realizadas.

Erro relativo percentual das soluções padrão

O erro relativo percentual das soluções padrão SR (ERP_P) é determinado pela **Equação 5**.

$$ERP_P = 2 \times \frac{|\overline{FR}_{P1} - FR_{P2}|}{\overline{FR}_{P1} + FR_{P2}} \times 100\%$$

Equação 5. Erro relativo percentual das soluções padrão.

Na qual \overline{FR}_{P1} é a média dos fatores respostas obtidos a partir das múltiplas injeções da solução padrão SR 1 e FR_{P2} é o fator resposta obtido a partir da solução padrão SR 2.

Fator resposta médio de quantificação

O fator resposta médio a ser utilizado na quantificação (\overline{FR}_Q) é determinado pela **Equação 6**.

$$\overline{FR}_Q = \frac{(FR_{P1} + FR_{P2})}{2}$$

Equação 6. Fator resposta médio de quantificação.

Na qual FR_{P1} é a média dos fatores respostas obtidos a partir das múltiplas injeções da solução padrão SR 1 e FR_{P2} é o fator resposta obtido a partir da solução padrão SR 2.

Teor das impurezas individual e total na solução amostra

O teor de cada impureza, em percentagem (%), da solução teste é determinado pela **Equação 7**.

$$I_{\%} = \frac{A_i \times C_P \times T_P}{A_P \times C_a}$$

Equação 7. Teor de impureza na solução amostra.

Na qual $I_{(\%)}$ é a concentração em percentagem, para cada impureza presente na solução amostra; A_i é a área do pico referente a cada impureza no cromatograma da solução amostra; C_P é a concentração do padrão, em mg/mL presente na solução padrão SR; T_P é o teor do padrão, em %, A_P é a área do pico

de losartana potássica presente na solução padrão SR; C_a é a concentração, em mg/mL, da solução amostra.

$$IT_{\%} = \frac{A_{it} \times C_P \times T_P}{A_P \times C_a}$$

Equação 8. Impurezas totais da solução amostra.

Na qual $IT_{(\%)}$ é a concentração em porcentagem de impurezas totais presentes na solução amostra; A_{it} é a soma das áreas dos picos referentes às impurezas obtidas no cromatograma da solução amostra; C_P é a concentração do padrão, em mg/mL presente na solução padrão SR; T_P é o teor do padrão, em %; A_P é a área do pico de losartana potássica presente na solução padrão SR; C_a é a concentração, em mg/mL da solução amostra.

Fator resposta médio das soluções controle

O fator resposta médio (\overline{FR}_C) das Soluções controle é determinado pela **Equação 9**.

$$\overline{FR}_C = \frac{(FR_{C1} + FR_{C2})}{2}$$

Equação 9. Fator resposta médio para solução controle.

No qual FR_{C1} e FR_{C2} são respectivamente os fatores resposta obtido a partir da solução controle 1 e 2.

Erro relativo percentual das soluções controle

O erro relativo percentual das Soluções controle (ERP_C) é determinado pela **Equação 10**.

$$ERP_C = \frac{|\overline{FR}_Q - \overline{FR}_C|}{\overline{FR}_Q} \times 100\%$$

Equação 10. Erro relativo percentual das soluções controle.

Na qual \overline{FR}_Q e \overline{FR}_C são respectivamente os fatores resposta médio de quantificação e das soluções controle.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para execução do procedimento de adequabilidade, preparou-se as soluções de limpeza coluna e injetor, as soluções A e B para eluição das análises, encaixou-se coluna cromatográfica e programou-se o equipamento com os parâmetros de fluxo, volume de injeção, temperatura, comprimentos de onda e tempo de corrida.

4.1. Seletividade

Conforme o artigo 19 da RDC 166⁵ a seletividade deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz. Para avaliação da seletividade aplica-se balanço de massas para verificar se a quantidade de impurezas formadas durante as degradações a que o produto é submetido condizem com o decaimento do ativo, ou seja se ocorrem formações de produtos de degradação secundários; comprovando a exatidão do método na quantificação de impurezas e de sua seletividade, demonstrando a homogeneidade espectral do ativo.

Avaliação da homogeneidade espectral

Avaliou-se a adequabilidade do sistema conforme metodologia analítica.

Estabilizou-se o sistema através de duas corridas cromatograficas nas condições do gradiente.

Injetou-se uma vez a solução *system suitability* para avaliação do fator de cauda (Fc) do pico de losartana potássica e para as impurezas, 1-H-dimer e 2-H-dimer. Verificou-se a resolução entre os picos dos compostos 1-H-dimer e 2-H-dimer. O fator de cauda (Fc) do pico de losartana potássica e para os picos das impurezas 1-H-dimer e 2-H-dimer, não devem ser superior a 2,0 e a resolução entre os picos dos compostos 1-H-dimer e 2-H-dimer deve ser de no mínimo 2,0.

A impurezas 1-H-dimer (5-[4'-({2-Butyl-5-[(5-{4'-[(2-butyl-4-chloro-5-hydroxymethyl-1H-imidazol-1yl)methyl]biphenyl-2-yl}-1H-tetrazol-1-yl)methyl]-4-chloro-1H-imidazol-1-yl)methyl]biphenyl-2-yl]tetrazol, potassium salt) e 2-H-dimer (5-[4'-({2-Butyl-5-[(5-{4'-[(2-butyl-4-chloro-5-hydroxymethyl-1H-imidazol-1yl)methyl]biphenyl-2-yl}-2H-tetrazol-2-yl)methyl]-4-chloro-1H-imidazol-1-yl)methyl]biphenyl-2-yl]tetrazol, potassium salt.) são dímeros e são geradas durante o preparo da solução *system suitability*, através das condições reacionais que o preparo proporciona. A estrutura destas impurezas está demonstradas na **Figura 20**, sendo que a impureza 1-H-dimer é a impureza E e a 2-H-dimer é a impureza F da figura.

Para solução *system suitability* adquiriu-se um fator de cauda para o pico de losartana potássica igual a 1,24 e para as impurezas específicas 1-H-dimer e 2-H-dimer 1,09 e 1,07 respectivamente.

A resolução obtida entre 1-H-dimer e 2-H-dimer foi de 8,63. Esses parâmetros estão demonstrados na **Figura 4**.

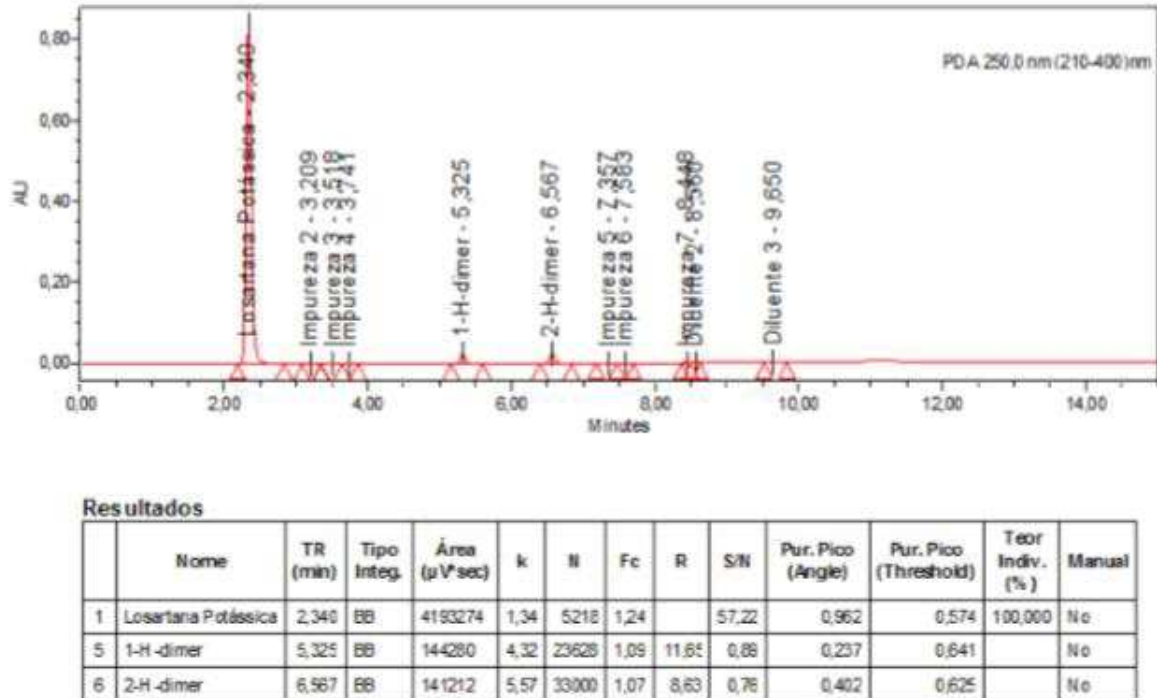
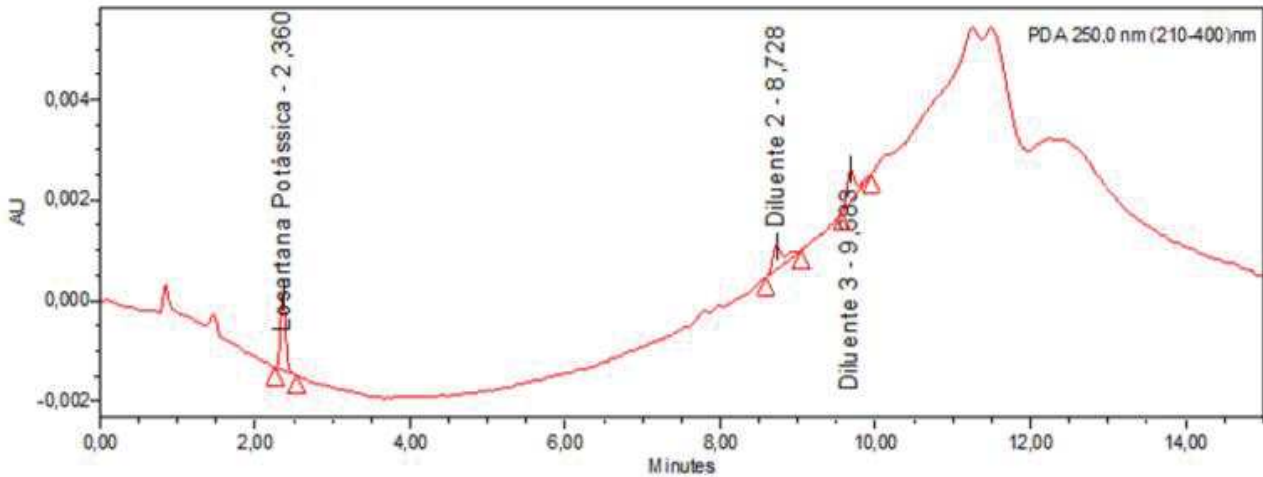


Figura 4. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower na solução *system suitability*.

Na sequência injetou-se uma vez a solução sensibilidade para verificação da razão sinal-ruído. A razão sinal-ruído para o pico de losartana potássica não deve ser menor que 10.

A sensibilidade é tratada com base no limite de detecção descrito na seção VII da RDC 166⁵ onde estabelece que para métodos instrumentais pode ser determinado pela razão sinal-ruído e que "deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito que pode ser detectado em uma amostra, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas"

Para a solução sensibilidade obteve-se uma razão sinal-ruído de 54,56, demonstrando um resultado satisfatório, conforme **Figura 5**.



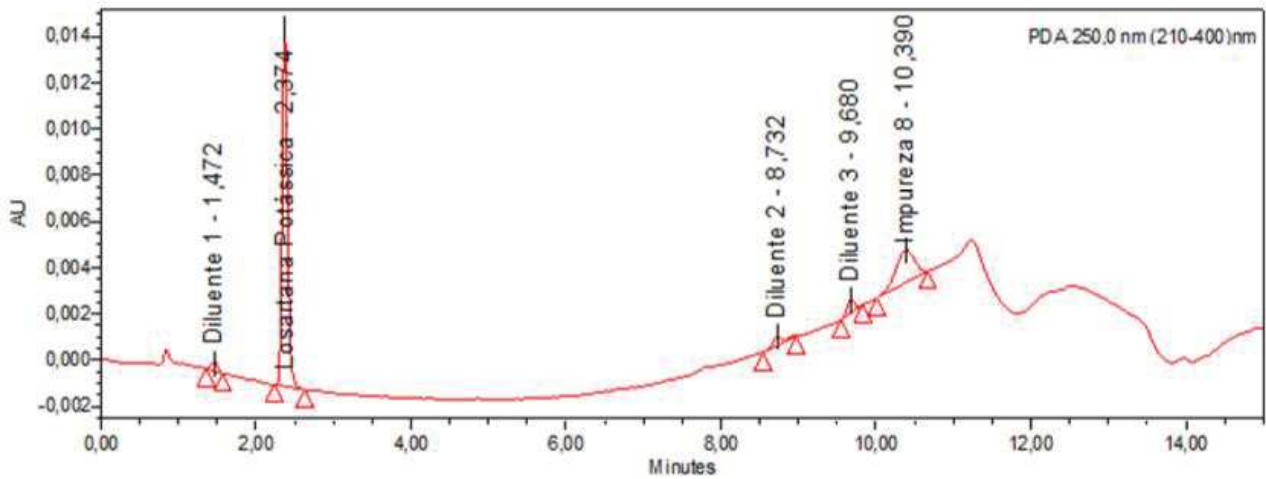
Resultados

	Nome	TR (min)	Tipo Integ.	Área ($\mu\text{V}^2\text{sec}$)	k	N	Fc	R	SM	Pur. Pico (Angle)	Pur. Pico (Threshold)	Teor. Indiv. (%)	Manual
1	Losartana Potássica	2,360	BB	7094	1,36	5985	1,23		54,56	2,421	4,689	100,000	No

Figura 5. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower para solução sensibilidade.

Atendido os parâmetros da solução sensibilidade, injetou-se seis vezes a solução padrão SR 1. Para essas replicatas a eficiência da coluna para o pico de losartana potássica no cromatograma deve atingir no mínimo 3000 pratos teóricos, o fator de causa (F_c) do pico losartana potássica deve ser inferior a 2,0 e o desvio padrão relativo (DPR_{inj}) das áreas do pico de losartana potássica e o erro relativo percentual das soluções padrão SR (ERP_p) devem ser inferiores a 5,00%.

Para as seis replicatas da solução padrão SR 1 obteve-se para o pico de losartana potássica 6014 de pratos teóricos, confirmando a eficiência da coluna. Obteve-se também um fator de cauda de 1,19, conforme demonstrado na **Figura 6**. O desvio padrão relativo adquirido (DPR_{inj}) foi de 0,40 % e erro relativo percentual das soluções padrão SR (ERP_p) 1,35 %.



Resultados

	Nome	TR (min)	Tipo Integ.	Área ($\mu V \cdot sec$)	k	N	Fc	R	S/N	Pur. Pico (Angle)	Pur. Pico (Threshold)	Manual
2	Losartana Potássica	2,374	BB	73281	1,37	6014	1,19	6,11	527,61	0,324	0,734	No

Figura 6. Cromatograma e parâmetros obtidos pelo sistema empower para solução padrão.

Para verificação de sinais provindos do diluente, injetou-se um diluente e por análise do seu cromatograma, **Figura 7**, confirmou-se que não há interferências deste na quantificação da losartana potássica.

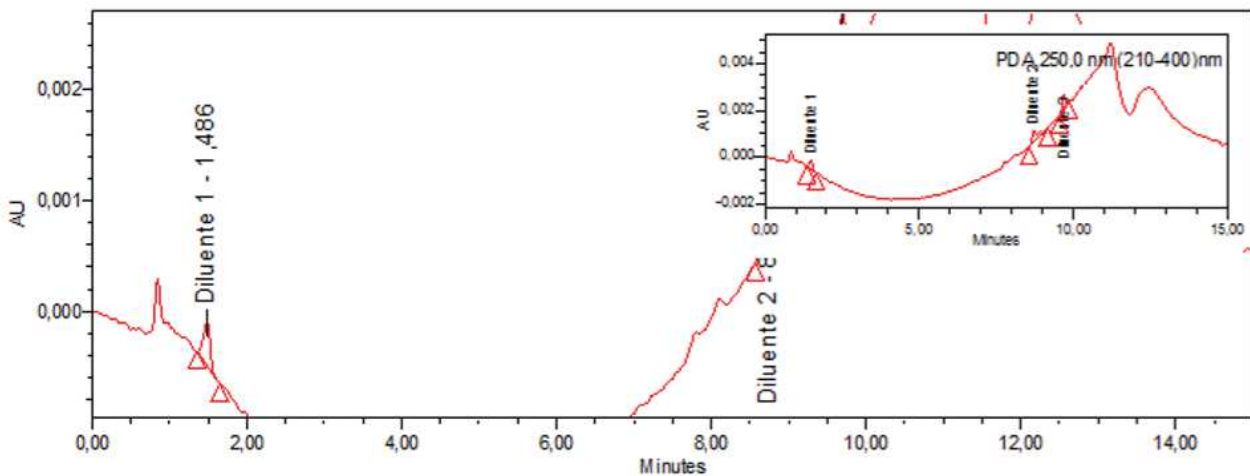


Figura 7. Cromatograma da solução diluente.

O intervalo de ruído foi estipulado entre 4 e 5 minutos, pois neste intervalo não ocorreu absorção significativa de nenhum pico comparando-se com a solução padrão pela ferramenta de Max Plot, conforme **Figura 8**. A ferramenta de Max Plot permite e garante que todos os picos e absorbâncias da linha de base sejam visualizados.

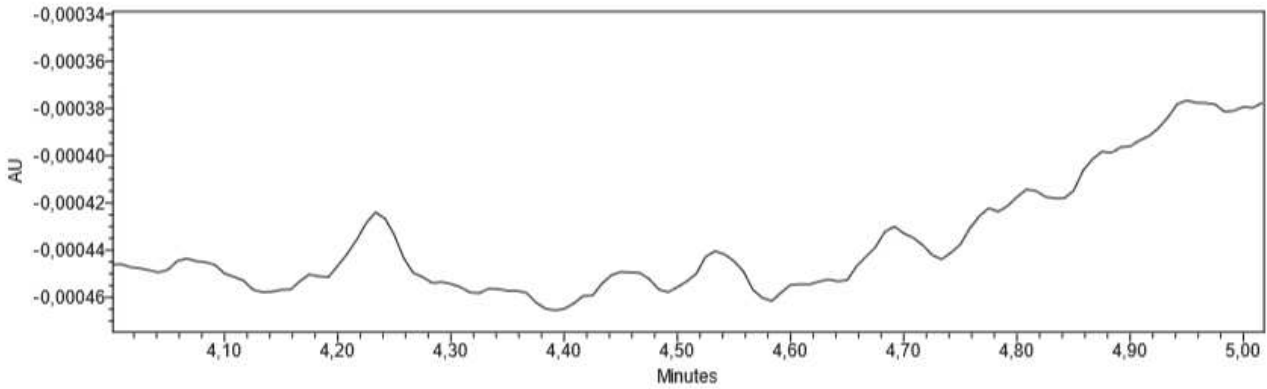


Figura 8. Cromatograma da solução padrão no max plot no intervalo de 4 a 5 min.

Neste intervalo de tempo, gerou-se o espectro de ruído, *noise spectrum*, **Figura 9**, onde fez-se uma varredura em todos os comprimentos de onda adquiridos. Para aceitação de um *noise spectrum* este não deve apresentar forma espectral significativa além de ruído aleatório e não deve exibir absorvância ultravioleta devido a componentes eluídos. Um intervalo de ruído que contenha absorvância resultaria em um valor aumentado de *peak threshold*, fazendo com que o valor de *peak angle* se distanciasse mais dele, isso poderia gerar um resultado falso positivo.

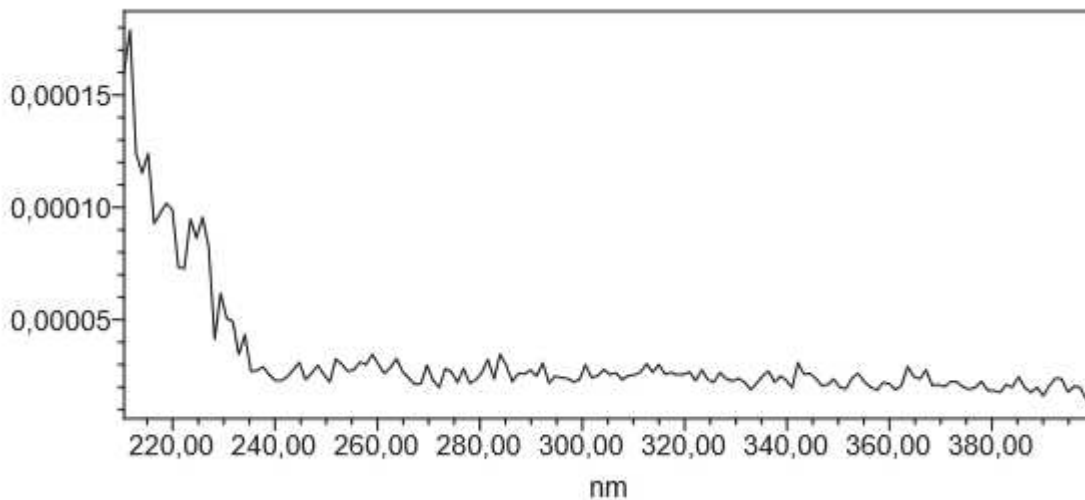


Figura 9. *Noise Spectrum*

Na faixa de 190 a 210 nm apresenta-se absorção mais elevada do que nos demais comprimentos de onda, esta absorção segundo o *Empower® 3 Help*²³ pode ser ocasionada pelos solventes presentes na fase móvel e diluente, como fosfato de 210 nm e acetonitrila 190 nm, onde há a recomendação de se evitar utilizar esta faixa de absorção, devido a uma maior contribuição de ruído e variabilidade, aumentando assim os valores de *purity angle* e *purity threshold*. O comprimento de onda foi então estipulado entre 210 e 400 nm, para evitar a interferência desses solventes na avaliação da pureza de pico.

A homogeneidade espectral foi comprovada seguindo as diretrizes do software *Empower*® 3,²³ avaliando-se todas as soluções padrões e amostras através da análise da pureza do pico cromatográfico, onde verifica-se se um pico é espectralmente puro comparando-se o valor de *purity angle* com o de *purity threshold*. Quando se obtém valores de *purity angle* inferiores a valores de *purity threshold* e as curvas não cruzam no *purity plot* em toda a extensão do pico, este é considerado espectralmente puro.

O *Purity Angle*²³ é uma medição do contraste espectral, fornecido pela média ponderada de todos os ângulos de contraste espectral calculados ao longo do pico comparando-se os espectros de cada ponto coletado no pico integrado com o espectro do ápice do pico (referência). Um valor mais próximo a zero indica que o pico está mais igual ao espectro de referência (ápice do pico). Um valor mais distante de zero (limite de 90) indica que o pico está mais diferente do espectro de referência (ápice do pico)

O *Purity Threshold*²³ – Ângulo de limite. É o resultado da soma do ruído com a interferência que o solvente causa calculado com base no intervalo de ruído (*Noise Interval*) selecionado. O valor mostrado depende do critério de *threshold* selecionado na aba “*Purity*” do *Processing Method*. Trata-se da incerteza de medição do *software*. Este valor é o maior *purity angle* que pode ser atribuído a ruído, erros fotométricos (concentração alta ou baixa do analíto) e contribuição de solvente (métodos em gradiente), e não a uma diferença verdadeira no formato espectral (coeluição).

No cromatograma da solução padrão foi observado que o sinal analítico de losartana potássica excedeu a faixa dinâmica do detector, **Figura 10**, sendo que o fabricante recomenda estar na escala de 0,1 a 1 AU. Fora desta faixa, a avaliação da homogeneidade espectral é prejudicada devido à perda de sensibilidade do detector fotométrico.

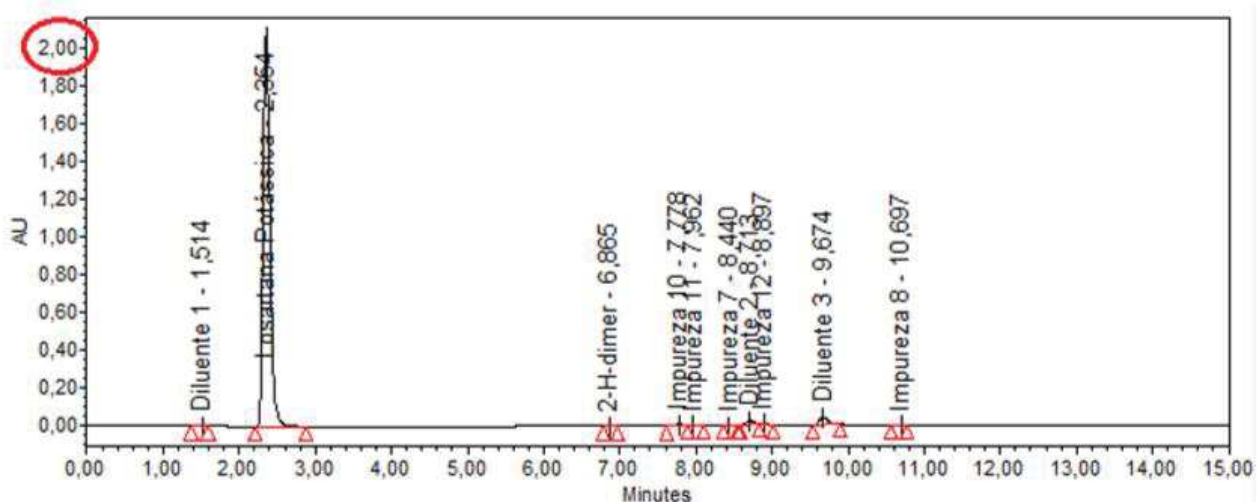


Figura 10. Cromatograma da solução padrão analisado no max plot no CLU017.

Perante esta situação, optou-se reduzir o volume de injeção de 10 μL para 1 μL para o equipamento, onde o sinal analítico encontrou-se dentro da faixa dinâmica do detector, conforme **Figura 11**.

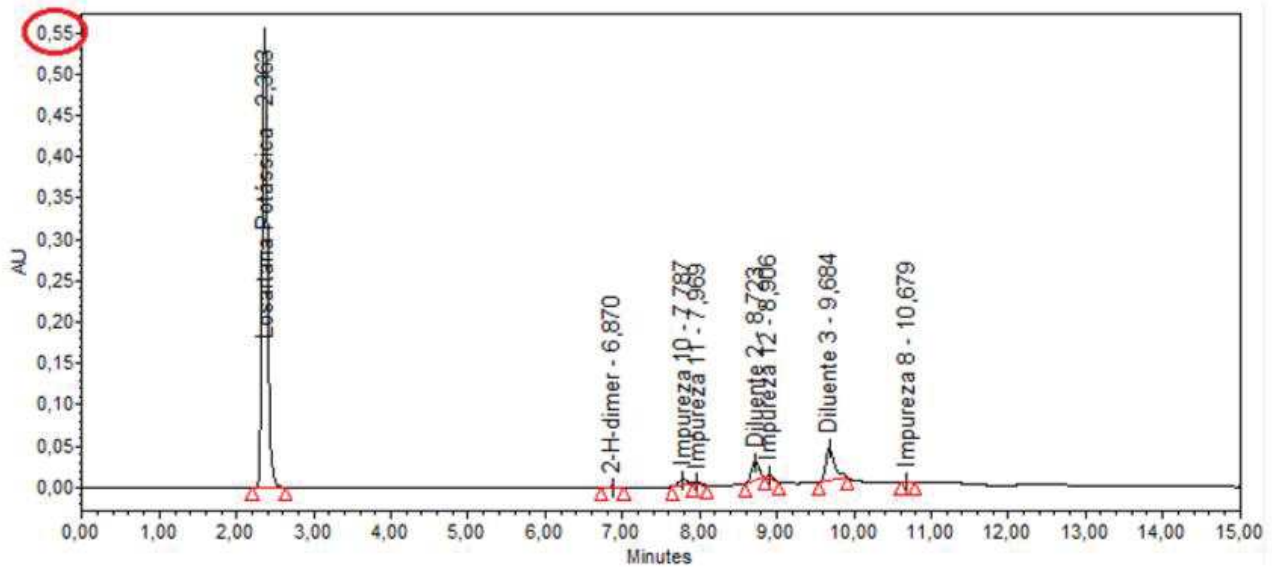


Figura 11. Cromatograma do Padrão SQR analisado no Max Plot (1 μ L) no CLU017

A análise de pureza de pico e limite de pureza foi realizado em outro equipamento para comparação. No equipamento CL070 foi observado que o padrão com volume de injeção de 10 μ L também excedeu a faixa dinâmica do detector recomendada. Aplicou-se novamente a redução do volume de injeção, de 10 μ L para 2 μ L, onde 2 μ L encontrou-se dentro da faixa de recomendação do fabricante, conforme **Figura 12**, e ficou similar ao perfil apresentado pelo equipamento CLU017, ideal para avaliação da homogeneidade espectral.

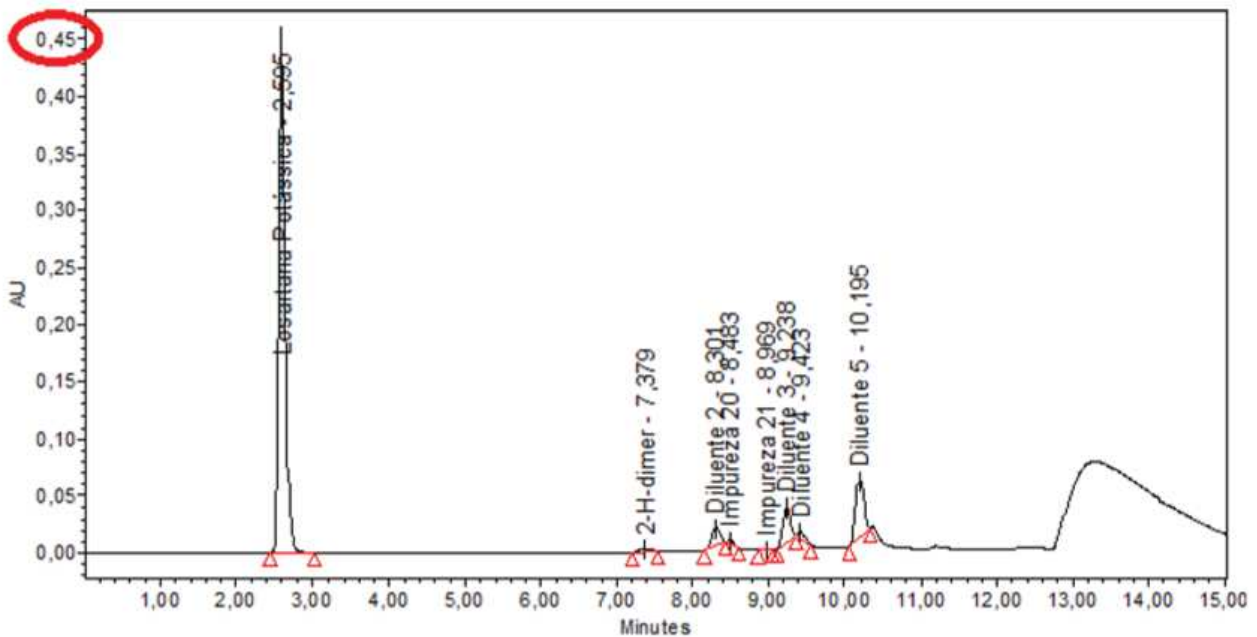


Figura 12. Cromatograma do Padrão SQR analisado no MAX Plot (2 μ L) no CL070.

Para averiguação da homogeneidade espectral, seguiu-se as recomendações do software *Empower*® 3²³, em que se utiliza o critério limite de *AutoThreshold*. Feita a injeção da solução padrão

(contendo a substância química de referência) verificou-se ângulo de pureza inferior do ângulo limite ($purity\ angle > purity\ threshold$), confirmando homogeneidade espectral.

Na **Figura 14** é demonstrado os parâmetros utilizados na avaliação da homogeneidade espectral.

The image shows a software interface with two main sections: 'Spectral Contrast Parameters' and 'Purity Parameters'.
 In the 'Spectral Contrast Parameters' section, there are two sub-sections: 'Wavelength Limit (nm)' with 'Start' at 210,0 and 'Stop' at 400,0; and 'Noise Interval Time (min)' with 'Start' at 4,00 and 'Stop' at 5,00.
 In the 'Purity Parameters' section, 'Purity Enabled' is checked. 'Active Peak Region (%)' is set to 100,0. 'Threshold Criteria' is set to 'AutoThreshold'. 'Solvent Angle (degrees)' is set to 1,00. 'Purity Passes' is set to 1.

Figura 13. Parâmetros de purity.

Para avaliação da pureza espectral no equipamento CLU017 a leitura do padrão contendo a substância química de referência no volume de 1 μL forneceu um $purity\ angle$ de 0,048 e um $purity\ threshold$ de 0,275. Já no equipamento CL070 com volume de injeção de 2 μL , forneceu um $purity\ angle$ de 0,061 e um $purity\ threshold$ de 0,259.

Na **Figura 14** e **Figura 15** são apresentados os gráficos com $purity\ plot$ das soluções padrões e a ausência do cruzamento entre linhas caracterizando a homogeneidade espectral do pico.

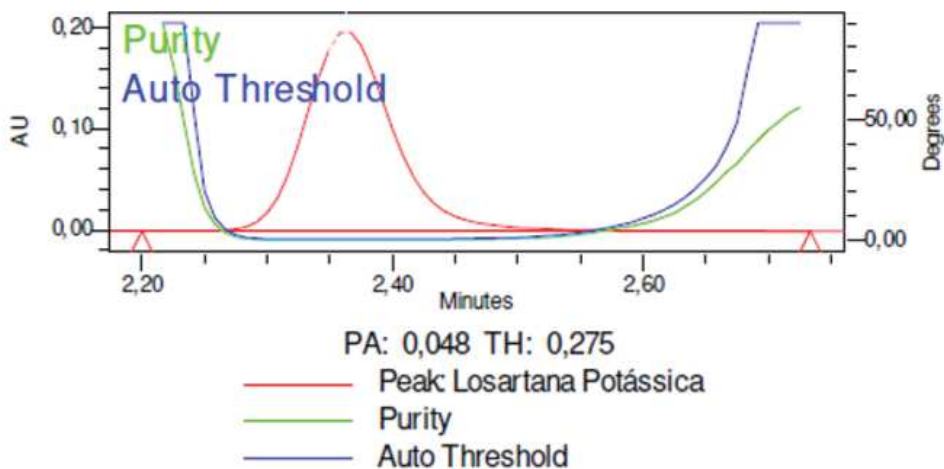


Figura 14. Gráfico de pureza da solução padrão de losartana no CLU017.

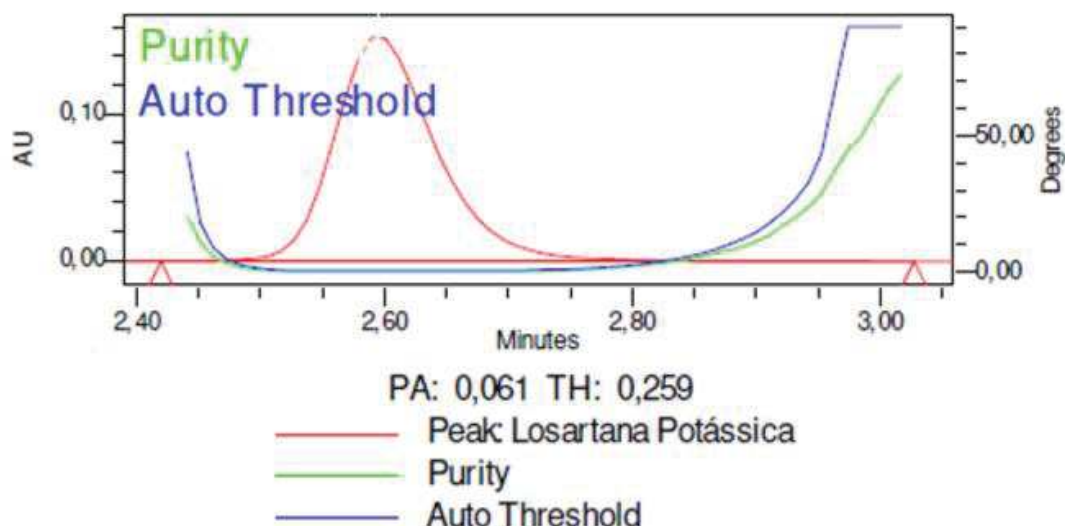


Figura 15. Gráfico de pureza da solução padrão de losartana no CL070.

A partir de todas as avaliações conclui-se que todos os parâmetros da avaliação da adequabilidade do sistema foram atendidos.

O sistema atendeu as condições necessárias então, avaliou-se todas as soluções teste IFA, soluções teste produto acabado 50 e 100 mg, as soluções placebo e a soluções branco. Nessas soluções foram verificadas o surgimento de picos de degradação, a resolução entre os picos, o pico de losartana potássica em todas as soluções teste e sua pureza espectral. Também foi avaliado a quantificação dos produtos de degradação e o teor do pico de losartana potássica frente às soluções padrão controle e decaimento de área frente à solução teste IFA e produto acabado – controle.

As soluções preparadas nas condições I e II, sendo condição I preparo com solução A e condição II preparo com água, se devem ao fato de ocorrer precipitação ao realizar as diluições com solução A para o degradante oxidativo, sendo necessário a diluição apenas com água, onde não foi observado precipitação. Para os degradantes ácido, básico e íon metálico o mesmo efeito não foi observado, diluindo-se em solução A (condição I) nos balões intermediário (balão que permaneceu em degradação) e balão final. Ao comparar os teores obtidos em ambos os preparos não foi observada variação significativa, indicando que a utilização de apenas água (condição II) não interfere na quantificação do ativo, atingindo os parâmetros de system especificados pelo método.

Nas **Figura 16, 17 e 18** são apresentados os cromatogramas das amostras controle químico I, químico II e físicos, sendo estas soluções utilizadas como referência frente aos estresses químicos e estresses físicos.

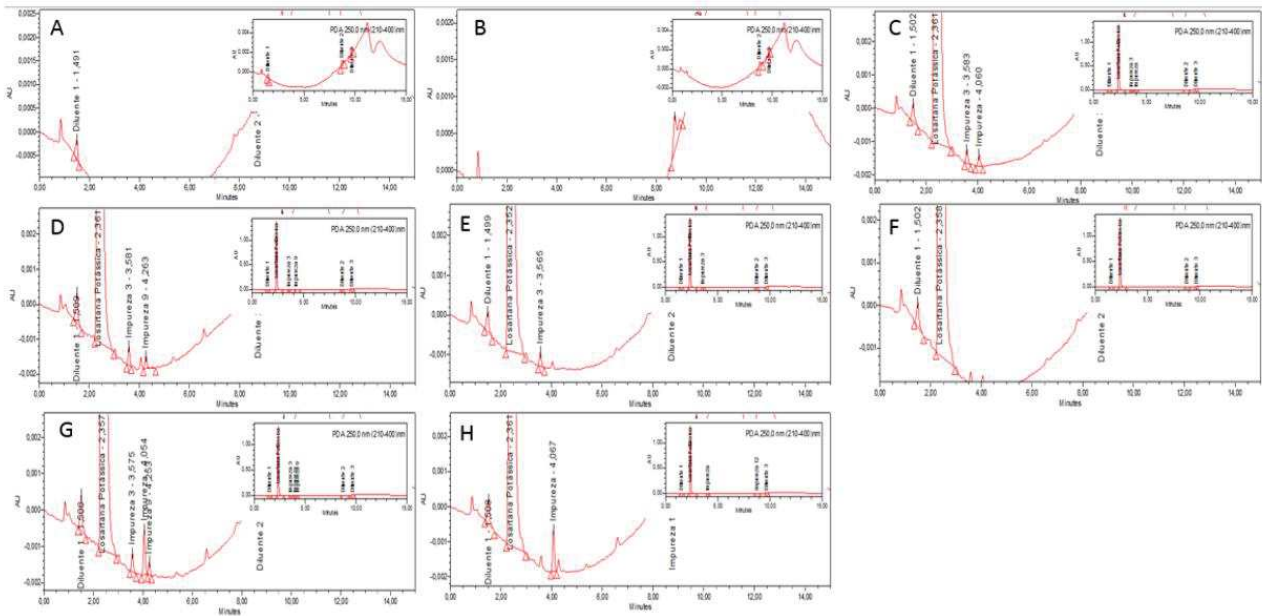


Figura 16. Cromatogramas das soluções controle I – Químicos (ácido, básico e íons metálicos): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18179J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (181976);

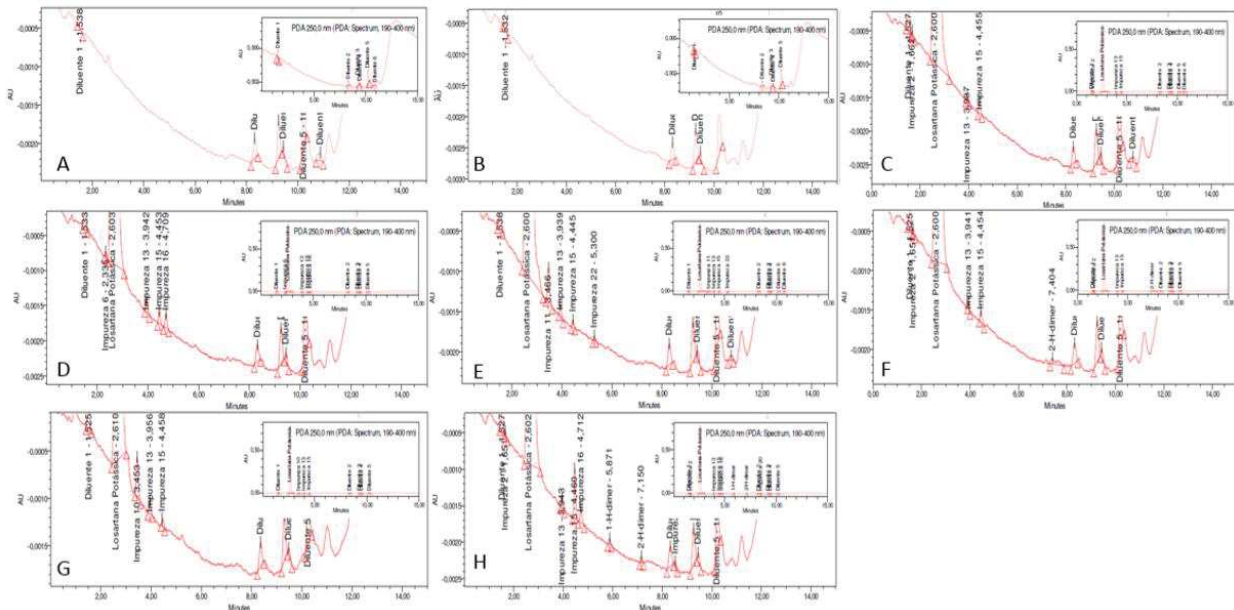


Figura 17. Cromatogramas das soluções controle II – Químicos (oxidativo): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18179J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (181976); (H) PA 100 mg – IPCA (181976)

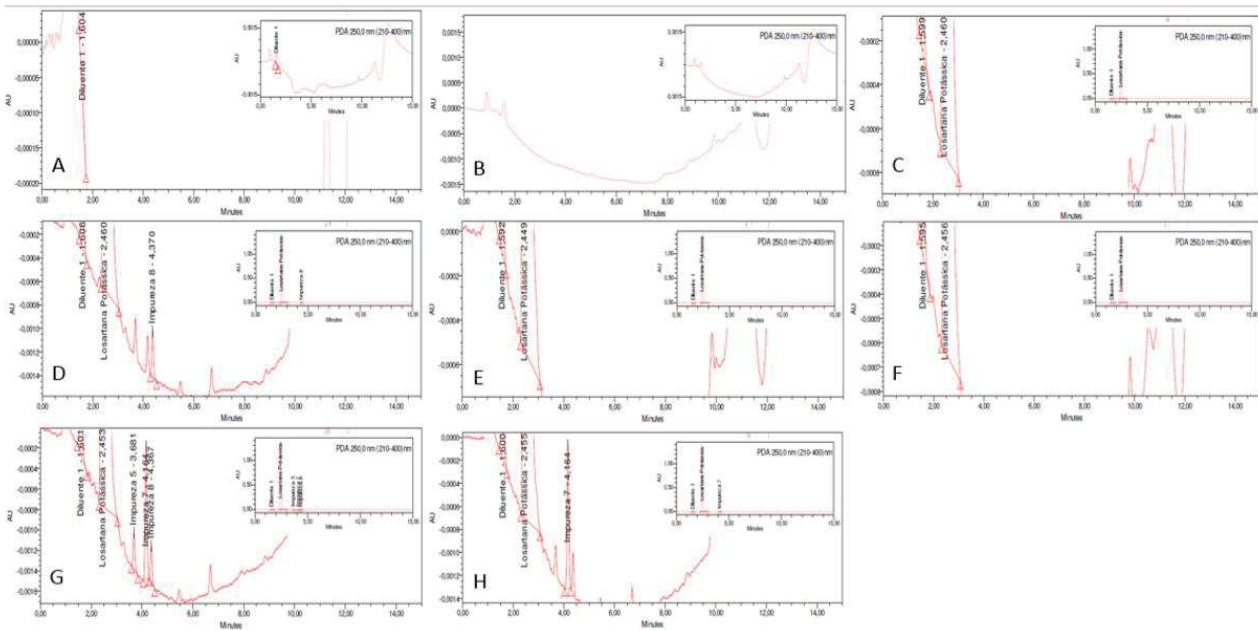


Figura 18. Cromatogramas das soluções controle – Físicos (foto, térmico, umidade): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18I79J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (18I976); (H) PA 100.

Resultados de estresse da amostra

As amostras foram submetidas aos ciclos de degradações, conforme **Tabela 8**.

Tabela 8. Tempo de exposição e condições de estresse.

Amostra	Degradante	Tempo de exposição
Estresse ácido	HCl 1,0 mol.L ⁻¹	10 dias
Estresse oxidativo	H ₂ O ₂ 0,3%	4 dias
Estresse por íons metálicos	FeCl ₃ 0,001 mol.L ⁻¹	24 horas
Estresse básico	NaOH 1,0 mol.L ⁻¹	10 dias
Estresse fotolítico	1,2 milhões lux/h	2 ciclos (82 horas)
Estresse térmico	60 °C	10 dias
Estresse umidade	40 °C / 75% U.R.	10 dias

Estresse ácido

Os resultados obtidos a partir do estresse ácido comprovam que o método proposto é seletivo para quantificação de losartana potássica, demonstrando que a molécula é estável quando exposta a esta degradação forçada por período de 10 dias. Não houveram formações de impurezas com co-eluição a losartana potássica e também não houve queda no teor das amostras, conforme resultados na **Tabela 9**.

Tabela 9. Resultados das amostras submetidas a estresse ácido - HCl.

Identificação	Teor (%)	Varição (%)	Impurezas (%)	Balço de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	102,76	-	0,02	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	104,01	1,25	0,27	101
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	101,58	-	0,02	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	103,75	2,17	0,24	102
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Controle	101,02	-	0,00	-
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	103,99	2,97	0,19	103
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Controle	102,35	-	0,00	-
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	103,83	1,48	0,83	102
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Controle	100,68	-	0,12	-
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	103,34	2,66	0,63	103
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Controle	100,67	-	0,10	-
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang)- HCl 1,0 mol.L⁻¹	101,53	0,86	0,83	102

O cromatograma da **Figura 19**, se refere ao estresse da amostra PA 1 50 mg - ZHEJIANG - 18179J.

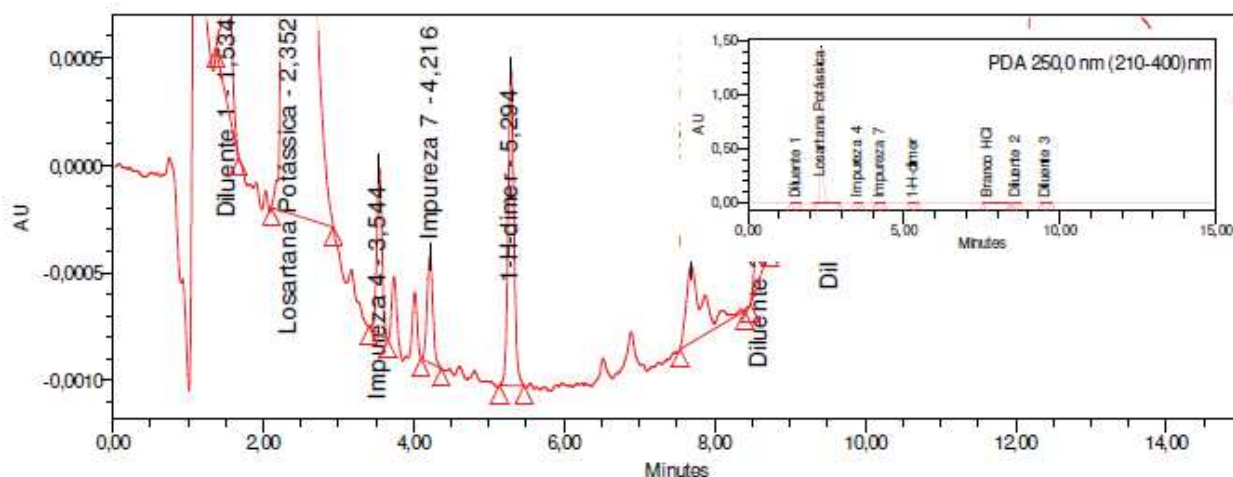


Figura 19. Cromatograma da solução amostra PA 1 50 mg – ZHEJIANG – 18179J, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

Em estudo publicado por Elshanawane et. al (2012),²⁴ investigou-se a estabilidade da losartana a condições de hidrólise ácida, e constatou decaimento em área de cerca de 15,11% do ativo, após exposição a HCl 1,0 mol.L⁻¹ por 7 dias em temperatura ambiente. O mesmo autor conduziu um outro experimento em que submeteu a losartana a condições de hidrólise ácida em HCl 1,0 mol.L⁻¹ por 14 dias sob temperatura de 70 °C. Seus resultados demonstraram um decaimento de área de 87,13% e formação de duas impurezas que foram identificadas como: Impureza E e F, conforme **Figura 20**, sendo que a formação de tais impurezas podem ser justificadas via reações de dimerização e substituição nucleofílica entre duas moléculas de losartana potássica, através de uma ligação entre o átomo de nitrogênio no anel de tetrazol ao átomo de carbono em 5-metanol no anel imidazólico produzindo dímero e água.

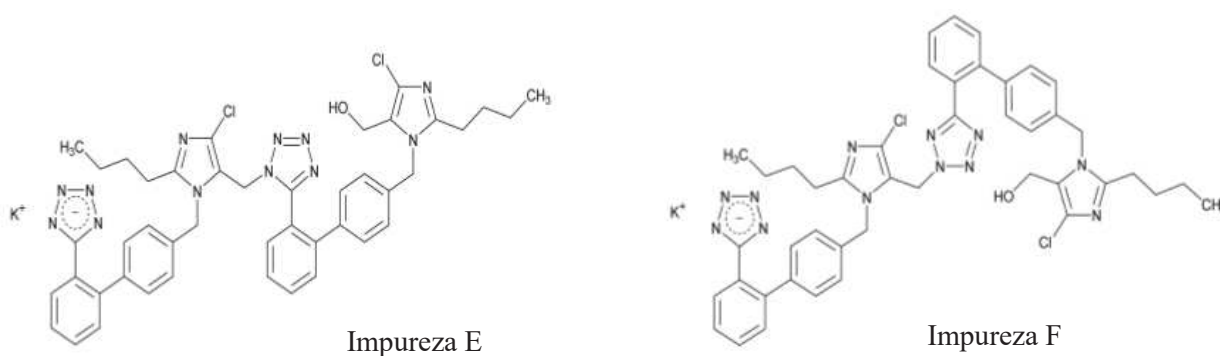


Figura 20. Estrutura química das impurezas específicas E e F (dímeros) da losartana potássica quando submetida a condições de hidrólise ácida.

Comparando-se os resultados obtidos com os disponíveis na literatura, verifica-se uma divergência de resultados. Inúmeros fatores podem causar essa divergência tais como solvente empregado no estudo de degradação forçada, condições de temperatura e pressão, concentração de

reagentes estressantes, tempo de degradação, interação de excipientes contidos na formulação do produto acabado com o estressante utilizado, entre outros.

Estresse básico

Os resultados obtidos a partir do estresse básico comprovam que o método proposto apresentou seletividade para quantificação de losartana potássica, demonstrando que quando exposta a esta degradação forçada no período de 10 dias não houve queda no teor das amostras e também não houveram formações de impurezas e nem indícios de co-eluição de picos de impureza junto a losartana potássica, conforme resultados na **Tabela 10**.

Tabela 10. Resultados das amostras submetidas a estresse básico - NaOH.

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balanco de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	102,76	-	0,02	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹	103,86	1,10	0,38	101
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	101,58	-	0,02	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹	101,86	0,28	0,56	101
Produto Acabado 1 50 mg – 18I79J (Zhejiang) - Controle	101,02	-	0,00	-
Produto Acabado 1 50 mg – 18I79J (Zhejiang) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹	100,80	-0,22	0,70	100
Produto Acabado 1 100 mg – 18E18G (Zhejiang) – Controle	102,35	-	0,00	-
Produto Acabado 1 100 mg – 18E18G (Zhejiang) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹	104,71	2,36	0,44	103
Produto Acabado 2 50 mg – 18I976 (Zhejiang) – Controle	100,68	-	0,12	-
Produto Acabado 2 50 mg – 18I976 (Zhejiang) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹	103,45	2,77	0,43	103
Produto Acabado 2 100 mg – 18A32E (Zhejiang) – Controle	100,67	-	0,10	-
Produto Acabado 2	101,99	1,32	0,46	102

100 mg – 18A32E
(Zhejiang) – NaOH 1,0 mol.L⁻¹

O cromatograma da **Figura 21**, se refere ao estresse da amostra PA 1 50 mg – ZHEJIANG – 18179J.

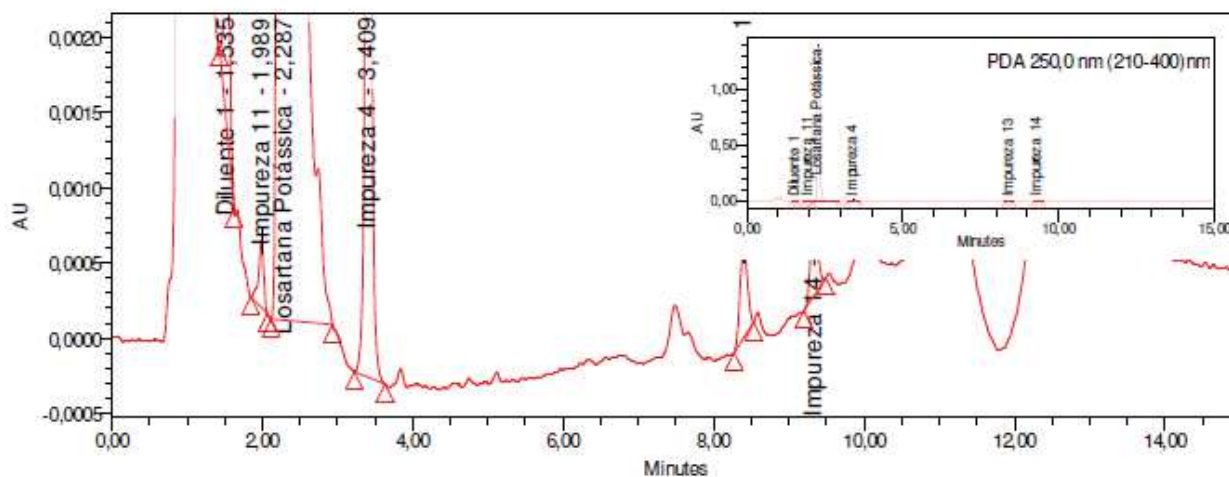


Figura 21. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18179J expostas a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

Conclusões semelhantes as observadas neste estudo foram reportadas por Ibrahim et. al (2015)²⁵, onde as condições de estudo eram NaOH 0,1 mol.L⁻¹ sob aquecimento a 80 °C por 3 horas e reportados em outra publicação por Elshanawane et. al (2012)²⁴; onde as condições de estudo foram NaOH 1,0 mol.L⁻¹ sob aquecimento a 70 °C por 14 dias, sendo que em ambas condições a losartana demonstrou-se estável por não haver decaimento na área do seu pico e nem o surgimento de picos referentes a produtos de degradação. Já quando elevada a concentração de NaOH de 0,1 mol.L⁻¹ para 0,5 mol.L⁻¹, sob aquecimento a 80 °C por 3 horas, Ibrahim et. al (2015)²⁵ apresentou decaimento de cerca de 12% do ativo. Desta maneira, é evidente a tendência de degradação do ativo quando somadas as variáveis temperatura e concentração do degradante alcalino.

Estresse íons metálicos

Os resultados obtidos a partir do estresse íons metálicos demonstram que o método proposto apresentou seletividade para quantificação de losartana potássica. Quando exposto pelo período de 24 horas a esta degradação forçada por íons metálicos, o teor do ativo não decaiu de forma significativa e nem o teor das amostras. Também não houveram formações de impurezas significativas e nem indícios de co-eluição de picos de impureza junto a losartana potássica, conforme resultados na **Tabela 11**.

Tabela 11. Resultados das amostras submetidas a estresse por íons metálicos.

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balanco de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	100,91	-	0,05	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang)- FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	100,67	-0,24	0,07	100
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	102,09	-	0,06	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	100,70	-1,36	0,07	99
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Controle	101,78	-	0,02	-
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang)-FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	99,58	-2,16	0,00	97
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Controle	100,95	-	0,00	-
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang)-FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	100,45	-0,49	0,00	100
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Controle	100,03	-	0,14	-
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang)-FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	101,48	1,45	0,11	100
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Controle	99,12	-	0,08	-
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang)-FeCl ₃ 0,05 mol.L ⁻¹	101,73	2,64	0,08	103

O cromatograma da **Figura 22**, se refere ao estresse da amostra PA 1 50 mg - ZHEJIANG - 18179J.

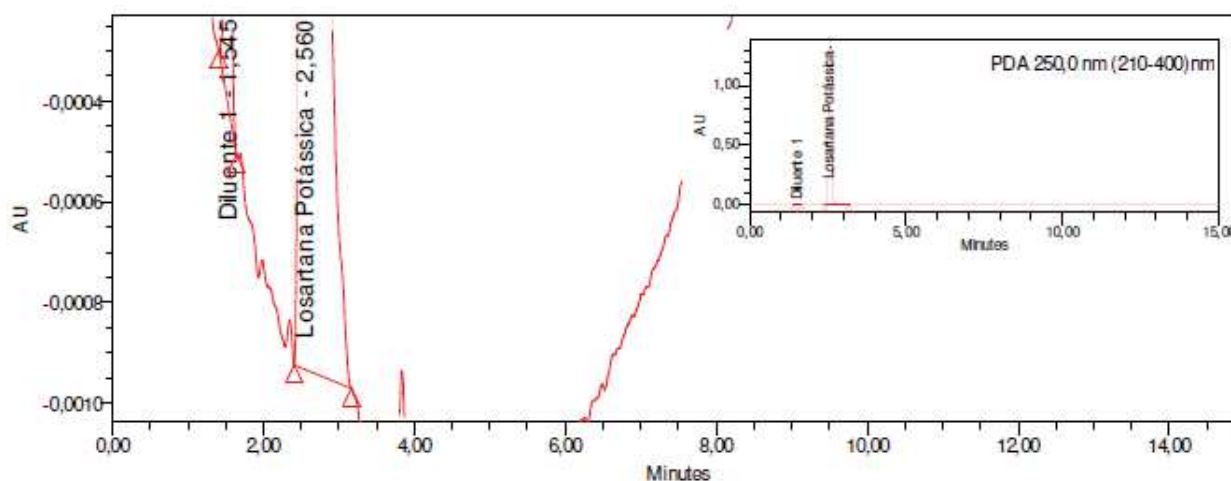


Figura 22. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

Estresse oxidativo

Os resultados obtidos pelo estresse oxidativo demonstram que a molécula do ativo é susceptível à esta degradação. A losartana potássica foi submetida ao estresse oxidativo pelo período de 4 dias, sendo que ao quarto dia a molécula ainda apresentava seletividade adequada para quantificação. Os picos provenientes da degradação não coeluem com losartana potássica. Durante o estudo observou-se que do período do quarto dia para o sexto houve a degradação da impureza inespecífica 9 e a formação de produtos de degradação secundária o que impossibilita a continuidade do estudo devido a possibilidade de interferência dos produtos de degradação, não quantificando apenas os produtos de degradação formados pelo ativo mas também os da impureza inespecífica, podendo assim comprometer a avaliação da homogeneidade espectral do ativo. Os resultados desse estresse estão demonstrados na **Tabela 12**.

Tabela 12. Resultados das amostras submetidas a estresse oxidativo – H_2O_2 .

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balço de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	101,56	-	0,04	-
IFA 1 – 1036052 (Zhejiang) – H_2O_2 0,3%	98,72	-2,84	0,53	98
IFA 1 – 1031412 (IPCA) - Controle	100,12	-	0,07	-
IFA 1 – 1031412 (IPCA) – H_2O_2 0,3%	96,67	-3,45	0,47	97
Produto Acabado 1 50 mg – 18I79J (Zhejiang) - Controle	99,64	-	0,08	-
Produto Acabado 1	90,03	-9,61	0,58	91

50 mg – 18I79J				
(Zhejiang) – H₂O₂ 0,3%				
Produto Acabado 1				
100 mg – 18E18G	100,36	-	0,06	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 1				
100 mg – 18E18G	93,21	-7,15	0,47	93
(Zhejiang) – H₂O₂ 0,3%				
Produto Acabado 2				
50 mg – 18I976	99,61	-	0,07	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 2				
50 mg – 18I976	98,38	-1,23	0,70	99
(Zhejiang) – H₂O₂ 0,3%				
Produto Acabado 2				
100 mg – 18A32E	99,03	-	0,15	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 2				
100 mg – 18A32E	100,60	1,57	0,53	102
(Zhejiang) – H₂O₂ 0,3%				

A **Figura 23**, apresenta os cromatogramas referentes a soluções branco, placebo 50 e 100 mg na degradação oxidativa em H₂O₂ 0,3%.

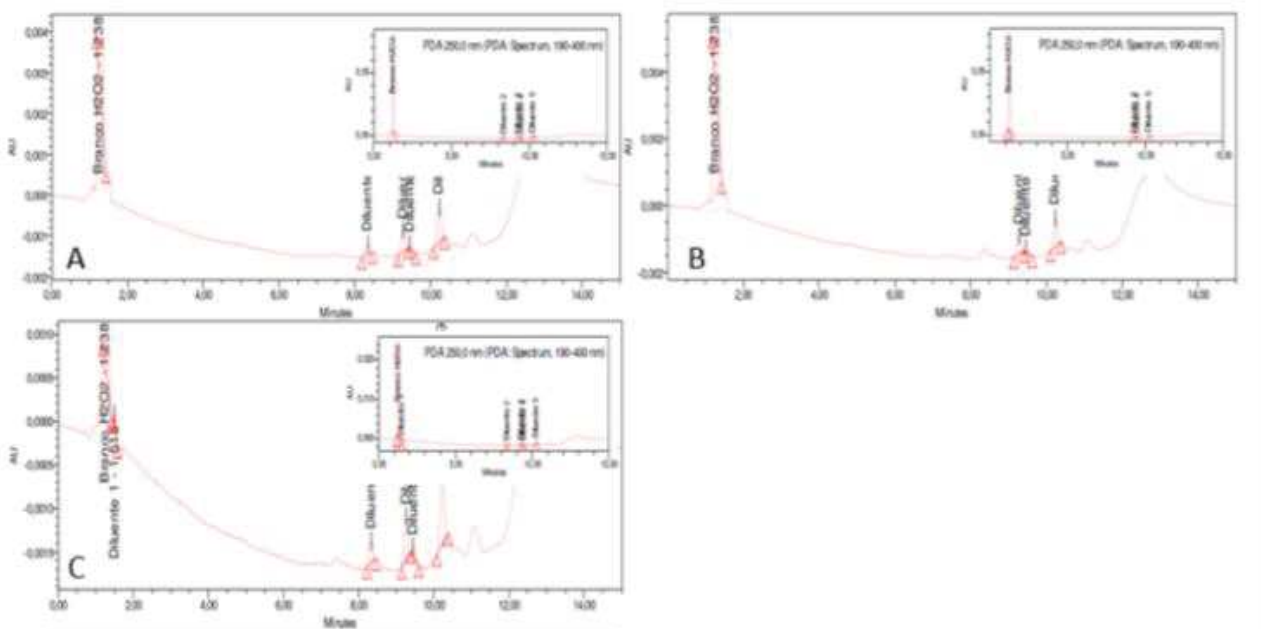


Figura 23. Cromatogramas das soluções expostas a degradação oxidativa durante 4 dias: (A) Branco; (B) PLA - 50 mg; (C) PLA - 100 mg

A **Figuras 24, 25 e 26** apresentam o cromatograma referente à degradação oxidativa em H_2O_2 0,3% por 4 dias da solução amostra IFA, PA 50 e 100 mg para o fabricante IPCA. Os cromatogramas referentes a o estresse oxidativo de 6 dias para as mesmas amostras encontram-se no apêndice.

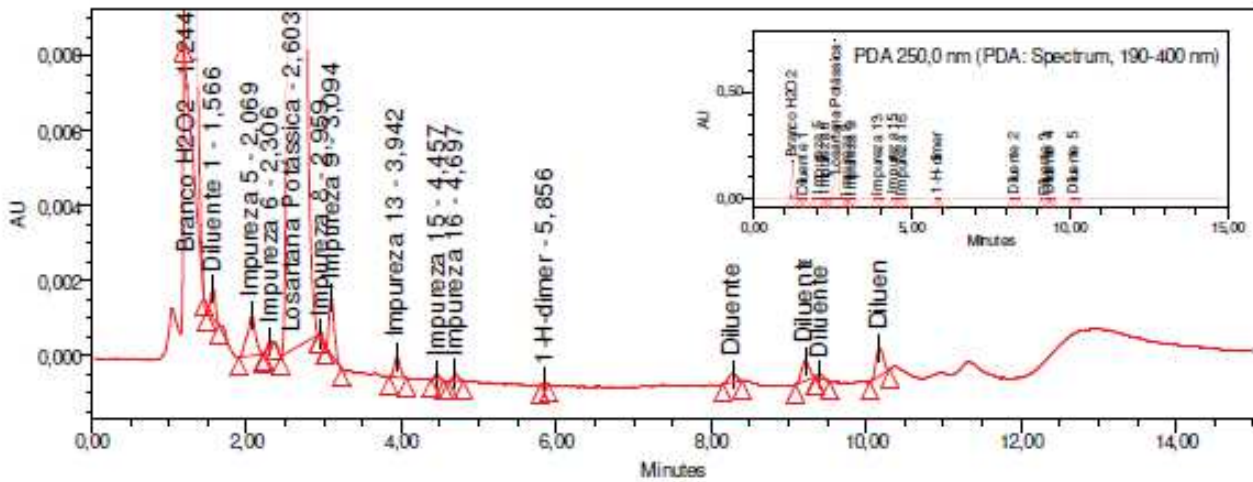


Figura 24. Cromatograma da solução amostra IFA– IPCA exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 4 dias.

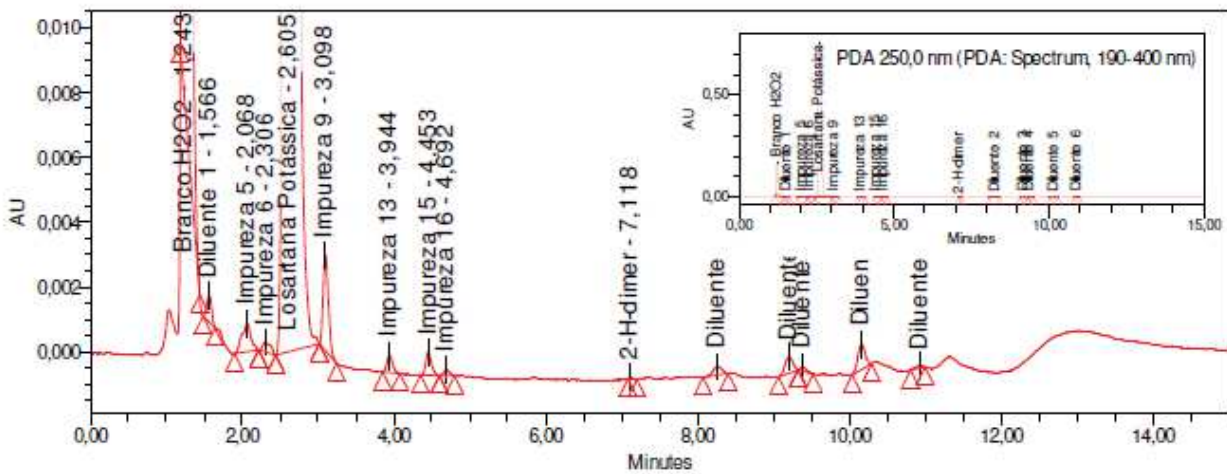


Figura 25. Cromatograma da solução amostras PA 50 mg IPCA (18I79J), exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 4 dias.

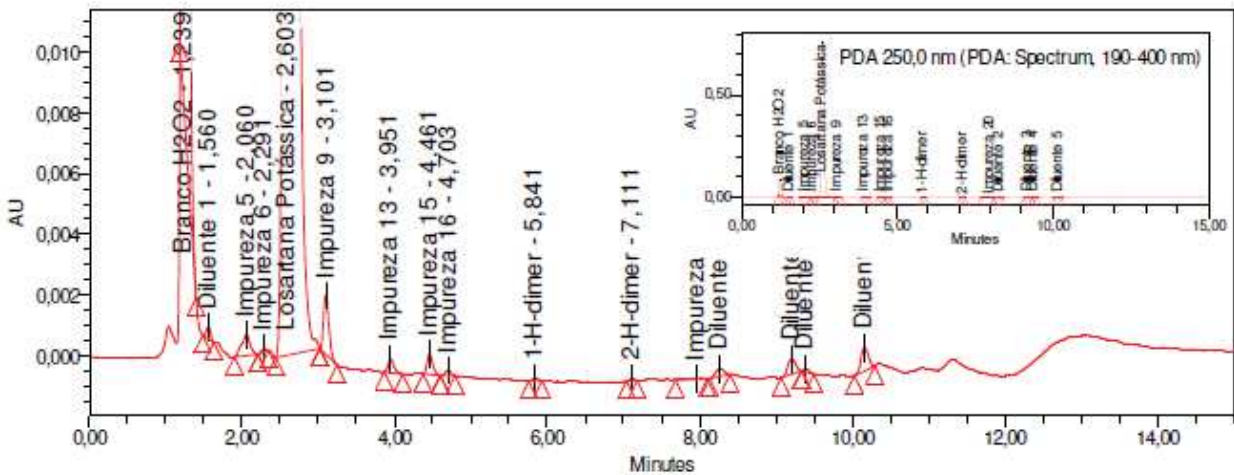


Figura 26. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg IPCA (18E18G) exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 4 dias.

Resultados semelhantes aos observados neste documento foram reportados por Ibrahim et. al (2015)²⁵, em que averiguou a estabilidade de losartana a oxidação em peróxido de hidrogênio nas condições de estudo de H_2O_2 3,0% sob aquecimento a 40 °C por 24 horas, onde obteve um resultados de decaimento em área de cerca de 6%. Quando elevada a concentração de peróxido de hidrogênio para 30% e mantida as condições operacionais (40 °C por 24 horas), evidenciou-se decaimento em área de cerca de 92% do ativo e aparecimento de inúmeros picos de degradação em torno do pico da losartana, desta forma confirmando o caráter oxidável. Esse caráter se deve ao grupamento hidroxila (-CH-OH) presente na molécula gerando grupamento aldeído (-CHO), conforme mecanismo de reação apresentado na Figura 27.

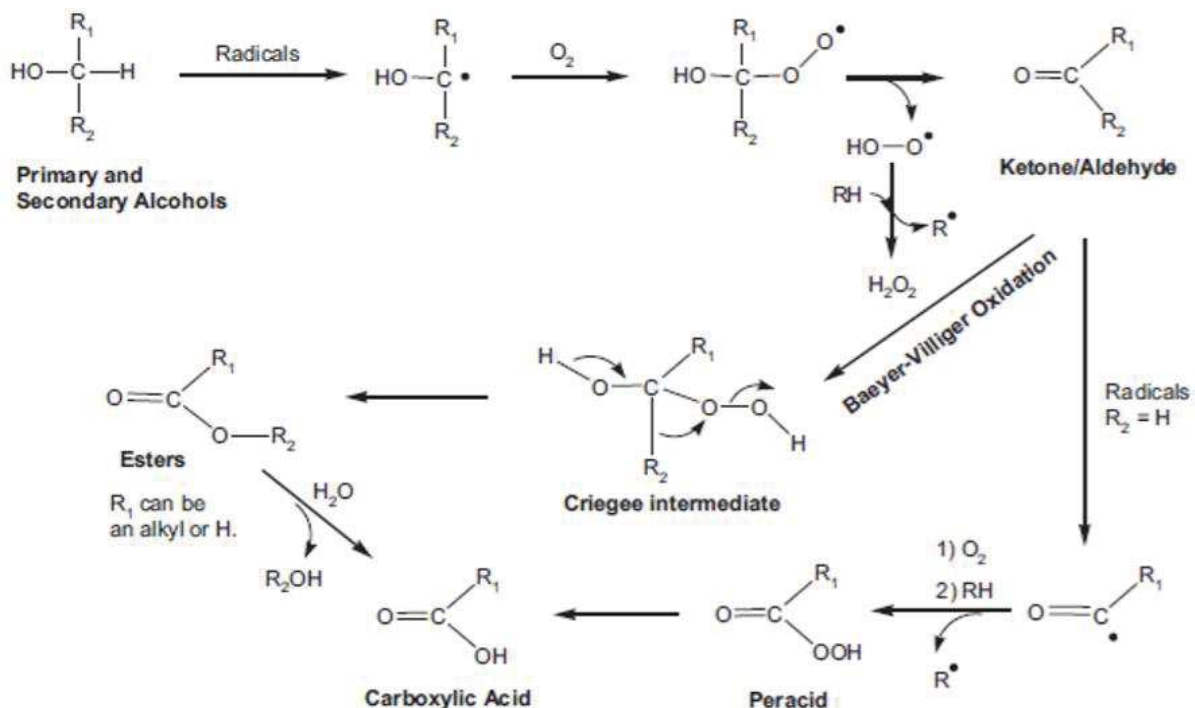


Figura 27. Mecanismo de reação de degradação oxidativa do grupamento funcional álcool a subprodutos de reação, tais como: aldeído, cetona e ácido carboxílico²⁶

Estresse fotolítico

Os resultados obtidos a partir do estresse fotolítico comprovam que o método proposto apresentou seletividade para quantificação de losartana potássica, demonstrando que a molécula é estável quando exposta a esta degradação forçada por período de 10 dias. Não houveram formações de impurezas com co-eluição a losartana potássica e também não houve queda no teor das amostras, conforme resultados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Resultados das amostras em estresse fotolítico

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balanco de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	100,34	-	0,00	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) Foto	100,51	0,17	0,00	100
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	100,61	-	0,02	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Foto	98,76	-1,85	0,00	98
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Controle	99,34	-	0,00	-
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Foto	101,35	-2,01	0,00	102
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Controle	100,63	-	0,00	-
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Foto	100,21	-0,42	0,00	100
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Controle	99,15	-	0,12	-
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Foto	99,35	0,20	0,00	100
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Controle	99,38	-	0,08	-
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Foto	100,04	0,66	0,00	101

A **Figura 28** se refere ao cromatograma da degradação fotolítica da amostra PA 100 mg – ZHEJIANG-18E18G por 10 dias.

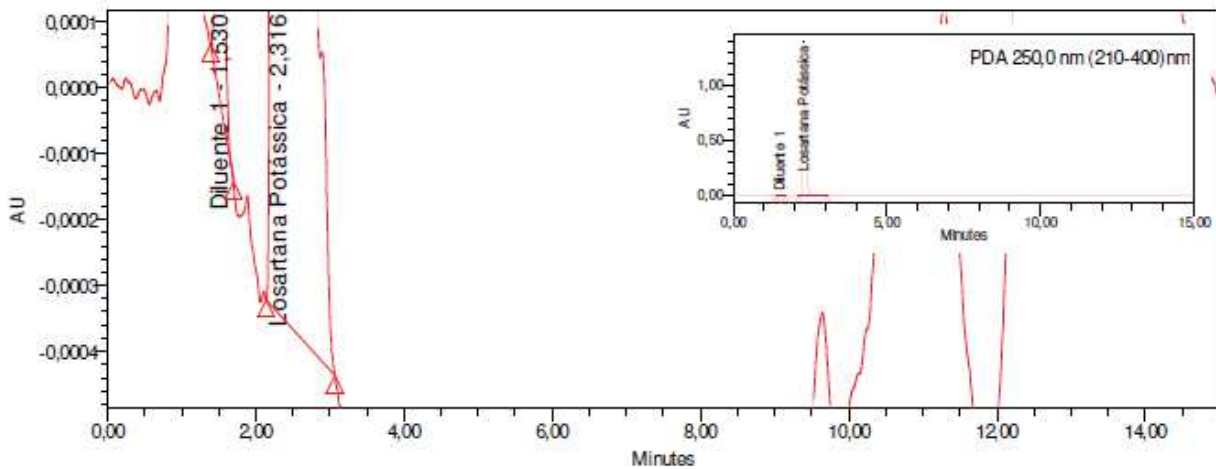


Figura 28. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG-18E18G exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.

Em estudos conduzidos por Seburg R. A. 2006²⁷, o autor averiguou a estabilidade da losartana potássica a condições de degradação fotolítica. Nestes estudos pode-se concluir que a molécula de losartana potássica apresentou maior tendência a degradação quando exposta a radiação ultravioleta em solução, ocorrendo um aumento da estabilidade da molécula quando disposta em formulações de suspensão. O autor justifica que a degradação da molécula de losartana potássica seja em virtude da presença de oxigênio singlete no meio reacional, a qual proporciona a oxidação e subsequente destruição do anel imidazólico. Além disso, reações de cicloadição [4 + 2] e [1 + 4] podem ser verificadas, levando a produtos de degradação múltiplos. Na **Figura 29** é apresentado uma proposta mecânica de formação de produtos de degradação via reação de cicloadição [1 + 4] na presença de oxigênio singlete.

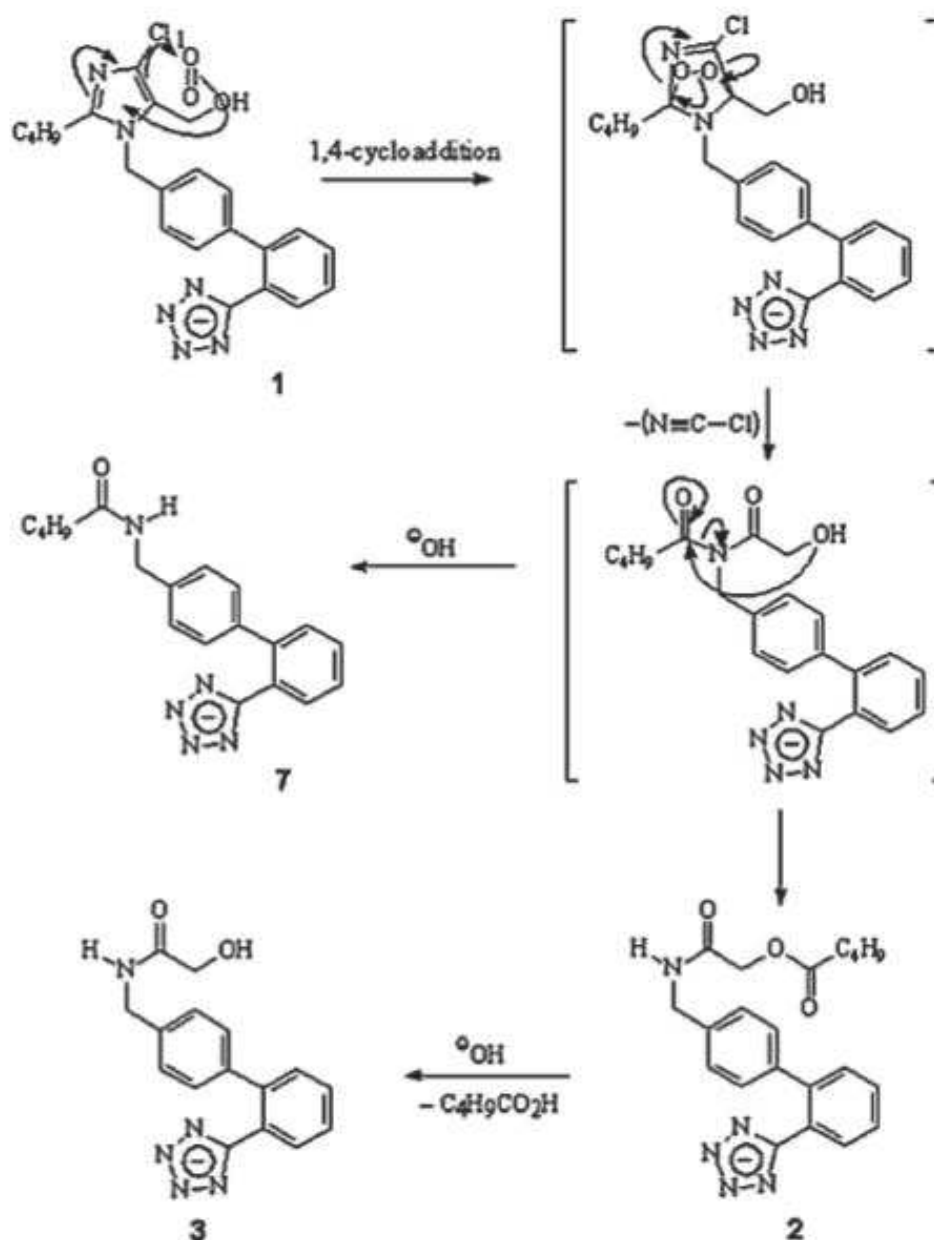


Figura 29. Proposta de mecanismo de reação de degradação fotolítica da losartana potássica via reação de cicloadição [1 + 4] na presença de oxigênio singlete.²⁷

Estresse térmico

Os resultados obtidos a partir do estresse térmico comprova-se que o método proposto apresentou seletividade para quantificação de losartana potássica, demonstrando que a molécula é estável quando exposta a esta degradação térmica por período de 10 dias. Não houveram formações de impurezas com co-eluição a losartana potássica demonstrando que o ativo é estável a esta degradação, conforme demonstra os resultados da **Tabela 14**.

Tabela 14. Resultados das amostras em estresse térmico

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balço de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	100,34	-	0,00	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Térmico	100,56	0,22	0,00	100
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	100,61	-	0,02	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Térmico	99,57	-1,04	0,05	99
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Controle	99,34	-	0,00	-
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J (Zhejiang) - Térmico	96,39	-2,95	0,00	97
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Controle	100,63	-	0,00	-
Produto Acabado 1 100 mg - 18E18G (Zhejiang) - Térmico	100,99	0,36	0,00	100
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Térmico	99,15	-	0,12	-
Produto Acabado 2 50 mg - 18I976 (Zhejiang) - Térmico	100,18	1,03	0,13	101
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Controle	99,38	-	0,08	-
Produto Acabado 2 100 mg - 18A32E (Zhejiang) - Térmico	100,13	0,75	0,10	101

A **Figura 30** apresenta o cromatogramas referente à degradação térmica por 10 dias da amostra PA 50 mg - IPCA - 18I976.

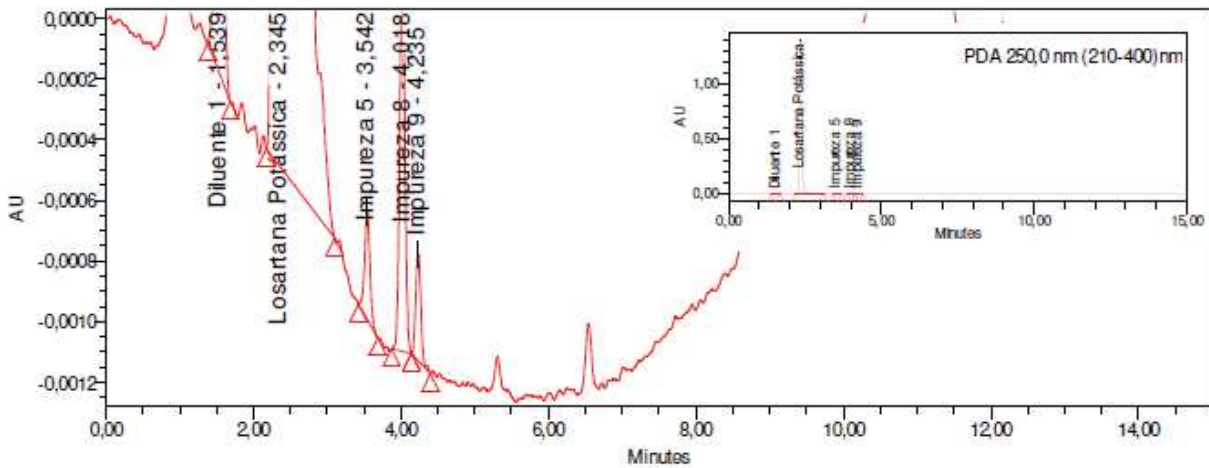


Figura 30. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA - 18I976, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.

Em estudos conduzidos por Ibrahim et. al (2015)²⁵, nas condições de estudo de amostra em estado sólido mantidas em frasco fechado sob aquecimento a 60 °C por 3 dias, a losartana potássica demonstrou-se estável as condições testadas, pois não apresentou decaimento de teor nem formação de picos secundários, resultados semelhantes aos adquiridos nesta validação de adequabilidade.

Estresse umidade

Os resultados obtidos a partir do estresse de umidade comprovam que o método proposto apresentou seletividade para quantificação de losartana potássica, demonstrando que quando exposta a esta degradação forçada em umidade por período de 10 dias. Não houve queda no teor das amostras e também não houveram formações de impurezas e nem indícios de co-eluição de picos de impureza junto a losartana potássica, conforme resultados da **Tabela 15**.

Tabela 15. Resultados das amostras em estresse por umidade.

Identificação	Teor (%)	Variação (%)	Impurezas (%)	Balanco de massas (97-103%)
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Controle	100,34	-	0,00	-
IFA 1 - 1036052 (Zhejiang) - Umidade	92,55	-7,79	0,02	101 ^a
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Controle	100,61	-	0,02	-
IFA 1 - 1031412 (IPCA) - Umidade	92,65	-7,96	0,04	101 ^b
Produto Acabado 1 50 mg - 18I79J	99,34	-	0,00	-

(Zhejiang) - Controle				
Produto Acabado 1				
50 mg – 18I79J	101,22	1,88	0,12	102
(Zhejiang) – Umidade				
Produto Acabado 1				
100 mg – 18E18G	100,63	-	0,00	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 1				
100 mg – 18E18G	100,34	-0,29	0,00	100
(Zhejiang) – Umidade				
Produto Acabado 2				
50 mg – 18I976	99,15	-	0,12	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 2				
50 mg – 18I976	99,49	0,34	0,13	100
(Zhejiang) – Umidade				
Produto Acabado 2				
100 mg – 18A32E	99,38	-	0,08	-
(Zhejiang) – Controle				
Produto Acabado 2				
100 mg – 18A32E	99,61	0,23	0,10	100
(Zhejiang) – Umidade				

a: Umidade (%) de 8,86%; b: Umidade (%) de 9,18%.

A **Figura 31** apresenta o cromatograma referente ao estresse de umidade aplicado amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J por 10 dias.

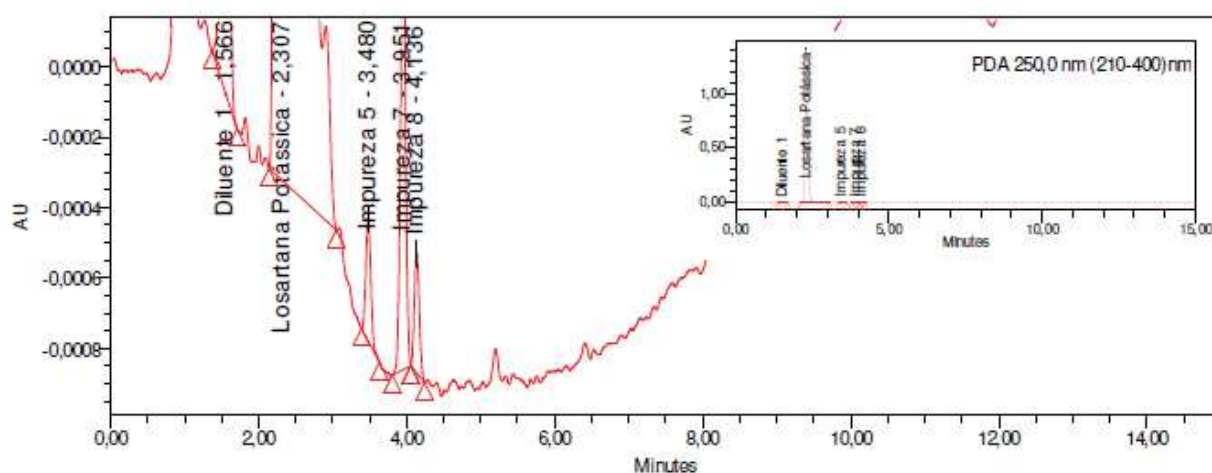


Figura 31. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18I79J, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R.) durante 10 dias.

Nesta degradação forçada as soluções de matéria-prima apresentaram decaimento significativo da área do pico de losartana, superior a 10%. No entanto, devido a característica higroscópica da molécula

investigou-se a hidratação das amostras. Para verificação, quantificou-se a umidade (%) presente nas amostras estressadas utilizando a técnica de titulação por reagente de *Karl Fischer*, conforme procedimento operacional padrão da indústria, CQ.05.20²⁸. Os resultados de umidade obtidos para as amostras 1036052 (ZHEJIANG) e 1031412 (IPCA) foram de: 8,86% e 9,18% respectivamente. Para a correção dos teores de matéria ativa para base seca, utilizou-se a **Equação 11**.

$$Teor_{BS} = \frac{Teor_{MA} \times 100}{100 - \%U}$$

Equação 11. Teor em base seca.

Realizada a correção de teor para base seca em função da umidade determinada, concluiu-se que não ocorreu decaimento do teor da losartana potássica frente ao estresse aplicado. Já nas soluções do produto acabado 50 e 100 mg submetidas a exposição climática, não verificou-se decaimento significativo da área do pico de losartana, inferior a 10%.

Em estudos conduzidos por Lusina et al. (2005)²⁹, nas condições de estudo em que a amostra foi mantida em 50 ± 2 °C, umidade relativa do ar (UR%) de $80 \pm 5\%$ durante o período de 4 semanas, a losartana potássica demonstrou-se estável as condições aplicadas, por não apresentar mudanças relevantes de teor, resultados semelhantes ao obtido nesta validação de adequabilidade.

4.2. Precisão e exatidão

A precisão avalia a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado, sendo expressa por meio da repetibilidade e da precisão intermediária. Para análise de substâncias relacionadas é mais interessante a avaliação com níveis: baixo, médio e alto, pois avalia-se e certifica-se se a faixa de trabalho do método se enquadra até os níveis mais baixos de impurezas, podendo quantificá-las.

Para determinação da precisão do método, primeiramente avaliou-se a adequabilidade do sistema de acordo com a metodologia analítica. Para repetibilidade, verificou-se o teor do ativo por meio do cálculo de teor de losartana nas seis soluções teste e calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) dos teores dos seis preparos. Para precisão intermediária também verificou-se teor do ativo por meio do cálculo do teor de losartana potássica nas seis soluções teste, calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) dos teores dos seis preparos e calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) dos teores dos doze preparos (seis preparos do primeiro dia mais os seis do segundo dia) de cada nível.

Todos os parâmetros da avaliação da adequabilidade do sistema foram atendidos. Os desvios padrões relativos (DPR) entre os três preparos do mesmo nível para a repetibilidade e precisão intermediária encontraram-se de acordo com o especificado.³⁰

Os resultados obtidos para precisão I, 1º dia, referente a 50 e 100 mg estão dispostos na **Tabela 16 e Tabela 17**.

Tabela 16. Resultados da Precisão/Exatidão I (repetibilidade) – 50 mg - para impurezas inespecíficas³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Especif. (%)	DPR (%)	Especif. (%)
	1º dia (%)	Média (%)		Comparativo	
Nível 0,10%	102	102	90-107	1,0	≤ 5,3
	102				
	104				
Nível 0,50%	102	103	95-105	1,1	≤ 3,7
	102				
	104				
Nível 0,60%	101	101	95-105	3,7	≤ 3,7
	96				
	105				

Tabela 17. Resultados da Precisão/Exatidão I (repetibilidade) – 100 mg - para impurezas inespecíficas³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Especif. (%)	DPR (%)	Especif. (%)
	1º dia (%)	Média (%)		Comparativo	
Nível 0,10%	103	102	90-107	0,5	≤ 5,3
	101				
	102				
Nível 0,50%	105	103	95-105	1,9	≤ 3,7
	101				
	104				
Nível 0,60%	105	104	95-105	1,4	≤ 3,7
	102				
	104				

Conforme os resultados apresentados nas tabelas acima, os valores individuais, as médias de recuperação e o desvio padrão relativo (DPR%) entre os preparos das amostras de losartana potássica

nas concentrações avaliadas estão de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro de exatidão e precisão (repetibilidade). Sendo assim, o método analítico possui exatidão e precisão (repetibilidade) adequada nos níveis de concentração entre 0,25 µg/mL a 1,50 µg/mL para as impurezas inespecíficas em losartana potássica 50 e 100 mg comprimido revestido.

Os resultados obtidos para precisão 2º dia 50 e 100 mg estão dispostos na **Tabela 18** e **Tabela 19**.

Tabela 18. Resultados da Precisão/Exatidão II (intermediária) – 50 mg - para impurezas inespecíficas³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Especif. (%)	DPR (%)	Especif. (%)
	1º dia (%)	Média (%)		Comparativo	
Nível 0,10%	96	97	90-107	1,6	≤ 5,3
	97				
	99				
Nível 0,50%	99	101	95-105	1,3	≤ 3,7
	102				
	103				
Nível 0,60%	101	103	95-105	1,8	≤ 3,7
	105				
	103				

Tabela 19. Resultados da Precisão/Exatidão II (intermediária) – 100 mg - para impurezas inespecíficas³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Especif. (%)	DPR (%)	Especif. (%)
	1º dia (%)	Média (%)		Comparativo	
Nível 0,10%	96	98	90-107	1,1	≤ 5,3
	98				
	98				
Nível 0,50%	96	99	95-105	2,6	≤ 3,7
	99				
	102				
Nível 0,60%	99	102	95-105	1,6	≤ 3,7
	103				
	103				

Como pode ser observado, o desvio padrão relativo e as médias de recuperação entre as amostras se mostraram menor que o critério de aceitação estabelecido.

Na **Tabela 20** e **Tabela 21** é demonstrada a avaliação entre os experimentos de precisão do 1º e 2º dia nas concentrações de 50 e 100 mg, realizados em dias diferentes e por analistas diferentes.

Tabela 20. Resultados da Precisão Intermediária – 50 mg³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Recuperação	DPR (%)	Especif.
	1º dia (%)	2º dia (%)	Média (%)	Comparativo	
Nível 0,10%	102	96	100	3	≤ 8
	102	97			
	104	99			
Nível 0,50%	102	99	102	1	≤ 6
	102	102			
	104	103			
Nível 0,60%	101	101	102	3	≤ 6
	96	105			
	105	103			

Tabela 21. Resultados da Precisão Intermediária – 100 mg³⁰

Identificação	Recuperação	Recuperação	Recuperação	DPR (%)	Especif.
	1º dia (%)	2º dia (%)	Média (%)	Comparativo	
Nível 0,10%	103	96	100	2	≤ 8
	101	98			
	102	98			
Nível 0,50%	105	96	101	3	≤ 6
	101	99			
	104	102			
Nível 0,60%	105	99	103	2	≤ 6
	102	103			
	104	103			

Conclui-se que o método é preciso uma vez que a proximidade dos resultados das duas precisões para impurezas inespecíficas (1º e 2º dia) cumpre com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro.

4.3. Robustez

O teste de estabilidade de amostra teve como objetivo avaliar se o analito degrada após o preparo em função do tempo de espera no equipamento. Este estudo determinou se nesse período o composto de interesse sofre redução significativa nas soluções padrões e se surgiu e/ou aumentou a quantidade de impurezas na solução teste. As soluções foram armazenadas ao abrigo da luz em vials acondicionados no rack do equipamento, e injetou-se periodicamente durante a validação.

Preparou-se duas soluções padrão conforme metodologia analítica e injetou-se imediatamente.

Avaliou-se a adequabilidade do sistema de acordo com o método analítico, item 3.6. Preparou-se duas soluções teste e injetou-se imediatamente. Calculou-se o teor médio de impurezas. Aguardou-se algumas horas do preparo e injetou-se novamente as soluções teste.

Tabela 22. Estabilidade/Recuperação da solução padrão

Tempo após preparo (horas)	Recuperação Padrão 1 (%)	Recuperação Padrão 2 (%)	Especificação (%)
0	101	100	
18	101	100	95-105
40	102	99	

Tabela 23. Estabilidade/Recuperação da solução teste

Tempo após preparo (horas)	Recuperação Amostra (%)	Especificação (%)
0	100	
18	101	95-105
40	101	

Os cromatogramas das múltiplas injeções da solução teste são apresentados na **Figura 32** e na **Figura 33** é apresentado a sobreposição dos cromatogramas entre a solução teste antiga e nova.

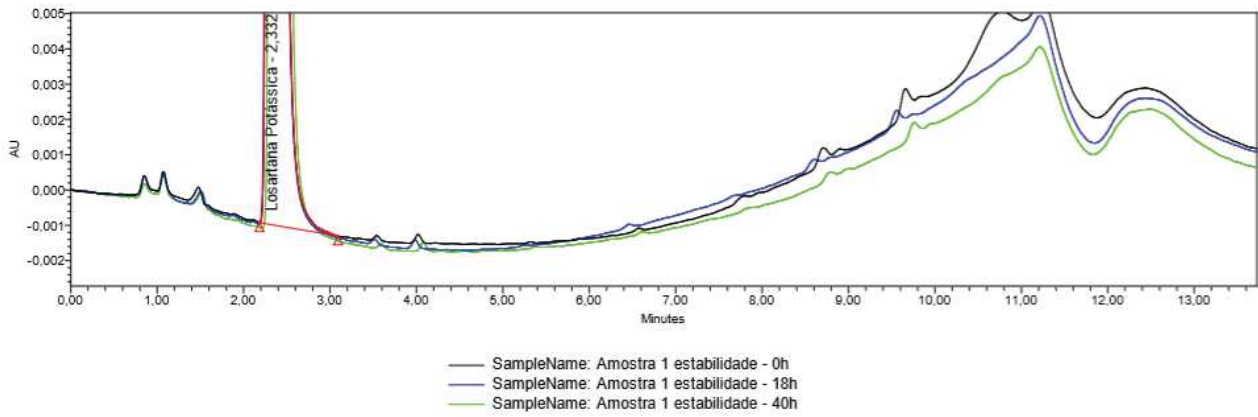


Figura 32. Sobreposição dos cromatogramas da solução teste, injetada no tempo de 0, 18 e 40 horas.

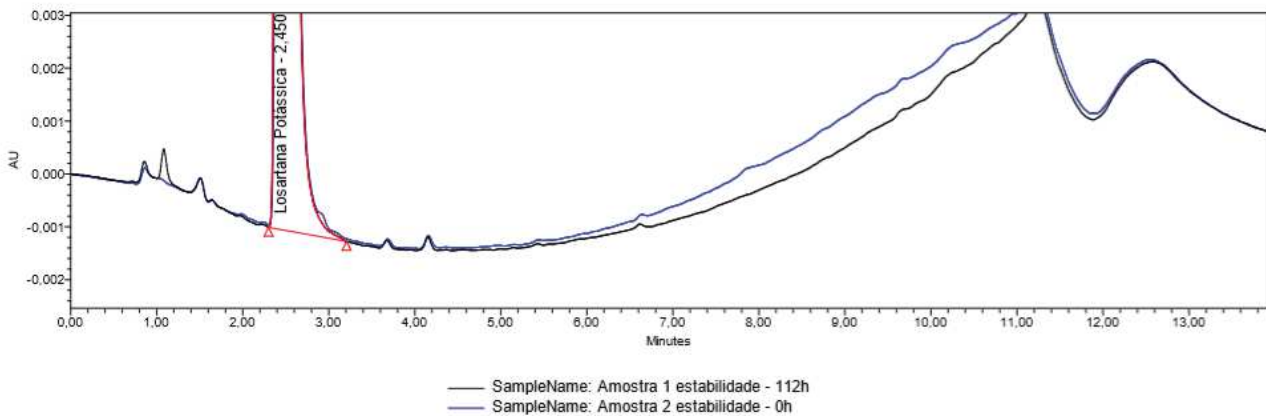


Figura 33. Sobreposição dos cromatogramas da solução teste antiga e nova.

Diante dos resultados apresentados foi possível concluir que as soluções padrão e amostra permaneceram estáveis até o período avaliado e a amostra não apresentaram formação de nenhum pico de degradação em até 112 horas.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nessa validação de adequabilidade comprova-se de que os picos quantificados nos cromatogramas das soluções teste de fato se referem aos analitos de interesse por meio dos tempos de retenção destes picos com os seus respectivos picos obtidos em soluções padrões preparadas com substâncias químicas de referência. Comprovou-se que nenhum pico de impureza conhecida apresenta coeluição com o pico de losartana potássica na solução teste e que nenhum pico de produto de degradação e/ou excipiente coeluem com o pico do ativo nas soluções teste através da análise das amostras de produto acabado e matéria-prima submetidas à degradação forçada nos meios ácido, básico, oxidativo, íons metálicos, térmico, fotolítico e umidade.

O ativo demonstrou característica higroscópica, pois quando a matéria prima foi submetida ao estresse por umidade apresentou um elevado teor de água na amostra. Já na condição oxidativa observou-se degradação do teor do ativo no período de 4 dias, não sendo viável dar continuidade no estudo devido a ocorrer degradações secundárias, provenientes da Impureza Inespecífica 9, o que poderia prejudicar a avaliação de homogeneidade espectral do ativo. A homogeneidade espectral foi avaliada nas soluções padrão, amostras controle e amostras estressadas, onde todos os valores médios de *purity angle* foram inferiores aos respectivos valores de *purity threshold* e também não apresentaram nenhuma intersecção entre as suas linhas no *purity plot*, demonstrando a homogeneidade espectral do ativo durante todo o estudo.

Ainda que não obteve-se um balanço de massas de 100%, obteve-se entre 99 e 100% de pureza de pico para os picos correspondentes aos fármacos em todas as amostras, mostrando que há seletividade para estes.

Nos cromatogramas referentes aos brancos e diluente utilizados na avaliação de seletividade não foram observados picos que afetassem a seletividade do método.

Na análise de seletividade foi possível concluir que o método se demonstrou seletivo, uma vez que não foi observada nenhuma coeluição de picos com os pico dos estresses aplicados (ácida, oxidativa, básica, íons metálicos, fotolítica, úmida e térmica), podendo assim fazer a quantificação de losartana potássica com exatidão.

A metodologia analítica foi capaz de obter respostas analíticas com exatidão e precisão comprovada nos níveis de concentração de 0,25 a 1,50 µg/mL para as impurezas inespecíficas de losartana potássica 50 e 100 mg. O método se demonstrou preciso e exato, devido a todos os resultados observados estarem dentro dos critérios de aceitação definidos, os quais estão de acordo com AOAC²⁹.

Tanto amostra quanto o padrão apresentaram resultados satisfatórios de estabilidade, quando armazenados em condições rotineiras de laboratório, no rack do equipamento ao abrigo da luz onde durante o período de 112 horas ambos não apresentaram surgimento de nenhum pico adicional. Sendo

assim, após realizadas todas as análises pertinentes a validação analítica, seguindo as normativas, conclui-se que o método proposto é adequado para a finalidade que se propõe, impurezas orgânicas de losartana potássica 50 e 100 mg comprimido revestido.

6. REFERENCIAS

- 1 - BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 17 de 16 de abril de 2010.
- 2 – S. VOGEL, E.J. HOORN, V. PAPADEMETRIOU. **Losartan in cardiovascular disease**. *Future Cardiol.*, 1 (2005), pp. 433-446
- 3 - MCINTYRE, M; CAFFE, S. E.; MICHALAK, R.A.; REID, J. L. Losartana, na orally active angiotensin (AT 1) receptor antagonista: a review of its efficacy and safety in essential hypertension. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 74, n. 2, p.181-194, 1997.
- 4 - QIU, F., & NORWOOD, D. L. Identification of Pharmaceutical Impurities. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, V 30(5-7), 2007, 877–935.
- 5 – BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. - Resolução RDC Nº 166 de 24 julho de 2017 – **Dispõe sobre validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 24 jul. 2017.
- 6 - SANTOS, E. C.; BARROS COSTA, D, A; OLIVEIRA, S. R. **Validação de métodos analíticos na indústria farmacêutica**. *Saúde & Ciência Em Ação*. Vol. 2, n.01, Jan-Julho, 2016, 93-113.
- 7 – FAVORETTO, L. B.; SOUZA, J. M. O.; BONFILIO, R.; AZEVEDO, R. C. P.; AREÚJO, M. B. **Validação de método espectrofotométrico na região do uv para quantificação de famotidina em cápsulas**. *Química Nova*, Vol. 33, No. 7, 2010, 1585-1589.
- 8 – BAERTSCHI, S. W.; ALSANTE, K. M.; REED, R. A. *Pharmaceutical Stress Testing Predicting Drug Degradation*. 2 ed. Londres: Informa Healthcare, 2011.
- 9 - BLESSY, M.; PATEL, R. D.; PRAJAPATI. P. N.; AGRAWAL, Y. K. **Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs - A review**. *J. Pharm. Anal*, v. 4, n. 3, p. 159-165, 2014.
- 10 - World Health Organization. WHO EXPERT COMMITTEE ON SPECIFICATIONS FOR PHARMACEUTICAL PREPARATIONS - Thirty-ninth report. v. 929, p. 139, Geneva, 2005.
- 11 - ROUSSEAC, F.; ROUSSEAC, A. **Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques**, University of Le Mans, France, 2007
- 12 - COLLINS, C. H.; BRAGA, G. I.; BONATO, P. S. *Fundamentos da cromatografia*. Campinas, 2006.
- 13 - SILVA, C. G. A.; COLLINS C. H.; **Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para estudos de poluentes orgânicos emergentes**. *Quim. Nova*, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011
- 14 - JIN, Yu et al. - **HPLC AND UPLC switch for TCM analysis**. *Mode Tradit Chin Med* (2008), 10(1), 80-84;

- 15 - PEDRAGLIO, S et al. - **New perspectives in bio- analytical techniques for preclinical characterization of a drug candidate: UPLC-MS/MS in in vitro metabolism and pharmacokinetic studies.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 44 (2007). 665-673.
- 16 - RODRIGUEZ-ALLER, M. et al. – **Coupling ultra high-pressure liquid chromatography with mass spectrometry: Constraints and possible applications.** Journal of chromatography A. 1292(2013). 2-18
- 17 - RAIMUNDO JR., Ivo M. and PASQUINI, Celio. **Espectrofotometria multicanal e arranjos de fotodiodos.** Quím. Nova [online]. 1997, vol.20, n.1, pp.83-88
- 18- AOAC INTERNATIONAL, Guidelines for standard method performance requirements. AOAC official methods of analysis – 2016.
- 19 - BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 166 de 24 de julho de 2017.
- 20 - ICH. Guidance for Industry. Q2B Validation of Analytical Procedures - Methodology: Rockville, 1996.
- 21 - THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP 40. United States Pharmacopeial Convention Inc, Rockville, 2017.
- 22 - ICH, International Conference on Harmonization of Technical Requirements For Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonized Tripartite Guideline, Impurities in new drug products – Q3B.
- 23 - WATERS, EMPOWER 3 ®. Empower Help, Calculating PDA peak purity, 2018.
- 24 - ELSHANAWANE A. A.; ABDELAZIZ L. M.; HAFEZ H. M.; **Stability Indicating HPLC Method for Simultaneous Determination of Several Angiotensin-II-Receptor Antagonists in Their Dosage Forms.** Pharmaceutica Analytica Acta, v3, p. 2 – 11, 2012.
- 25 - IBRAHIM M. M.; HEGAZY M. M.; ABD EL- GHANI M. A. **Application of a rp-hplc method for comparative study on the degradation behavior of two angiotensin II receptor antagonists, valsartan and losartan potassium.** International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences, v5, p. 417 – 426, 2015.
- 26 - SEBURG R. A.; BALLARD J. M.; HWANG T.; SULLIVAN C. M.; **Photosensitized degradation of losartan potassium in an extemporaneous suspension formulation.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v42, p. 411 – 422, 2006.
- 27 - LI M.; Organic Chemistry of Drug Degradation, *Royal Soc. Chem*, 2012.
- 28 – PRATI-DONADUZZI CIA LTDA, Procedimento operacional padrão CQ.05.20, Titulador automatico karl fischer, versão 6.

29 - LUSINA M.; CINDRIC T.; TOMAIC J.; PEKO M.; POZAIC L.; MUSULIN N.; **Stability study of losartan/hydrochlorothiazide tablets.** International Journal of Pharmaceutics, v291, p. 127 – 137, 2005

30 - AOAC INTERNATIONAL, Guidelines for standard method performance requirements. AOAC official methods of analysis – 2016.

7. APÊNDICE

Cromatogramas conforme relatório técnico da adequabilidade do método de impurezas orgânicas de losartana potássica 50 e 100 mg comprimido revestido realizado na indústria farmacêutica Prati-Donaduzzi.

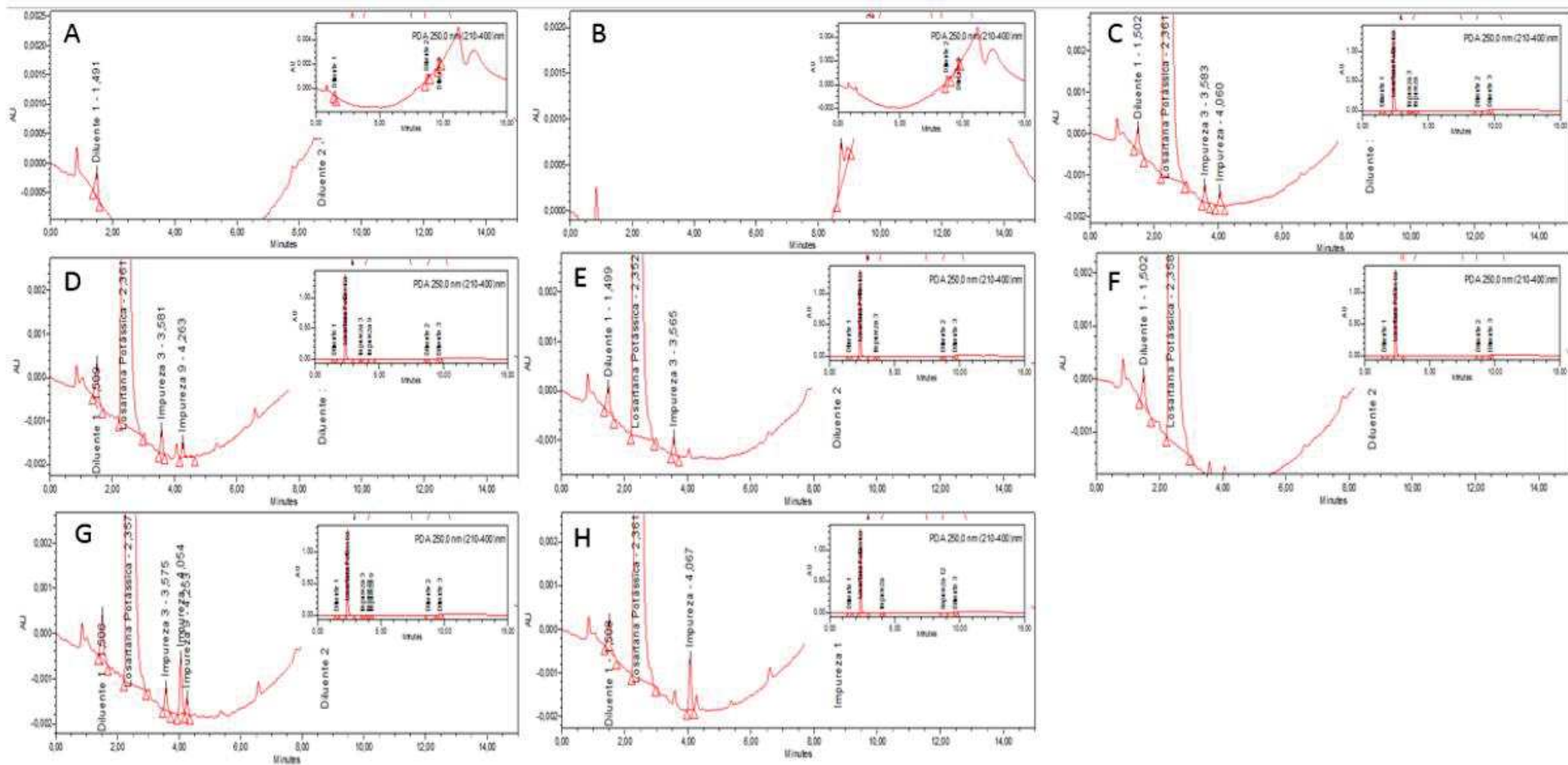


Figura 17 Cromatogramas das soluções controle I – Químicos (ácido, básico e íons metálicos): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18179J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IP

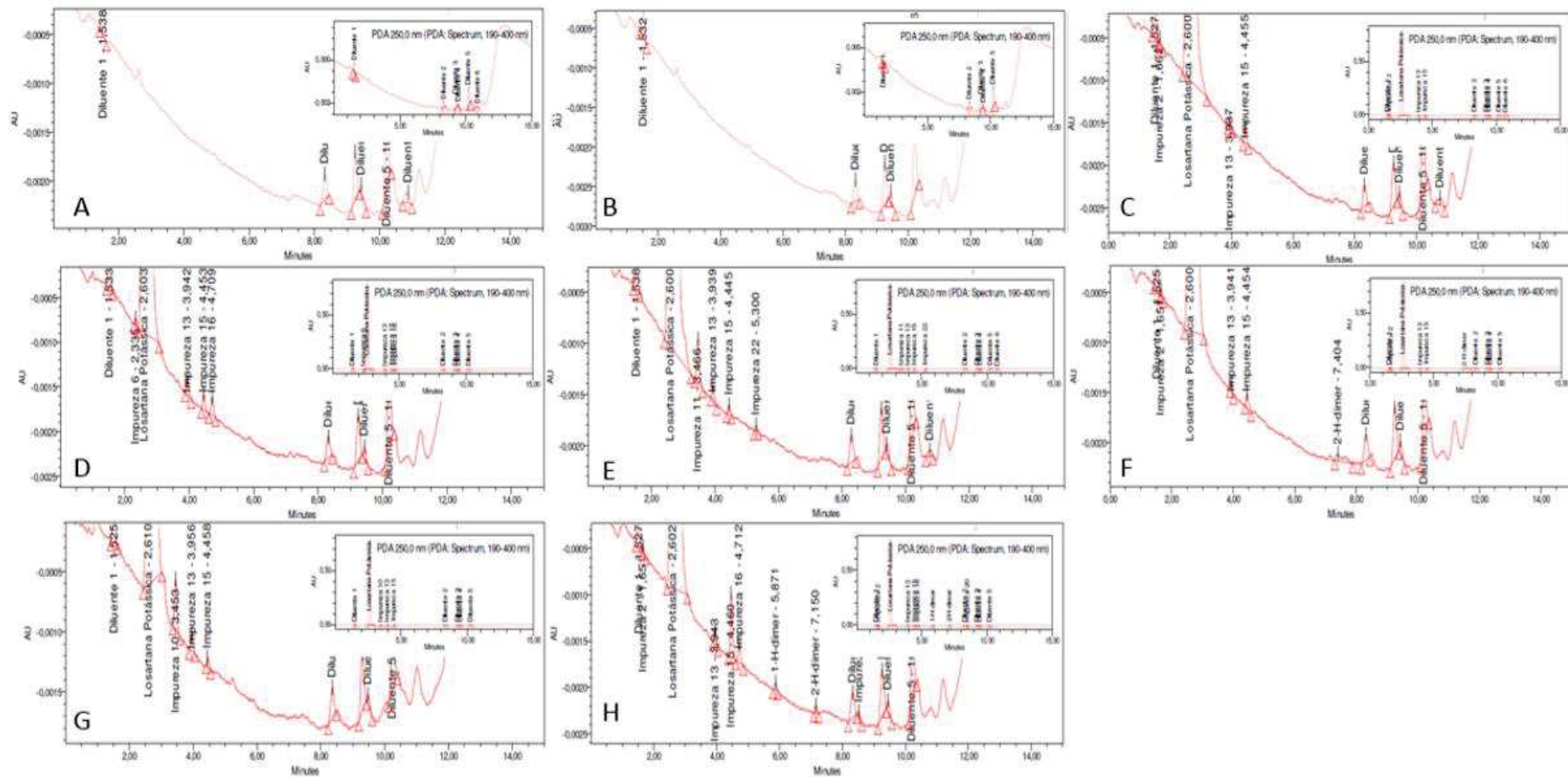


Figura 18. Cromatogramas das soluções controle II – Químicos (oxidativo): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA – IPCA; (E) PA 50 mg – ZHEJIANG (18179J); (F) PA 100 mg – ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg – IPCA (181976); (H) PA 1

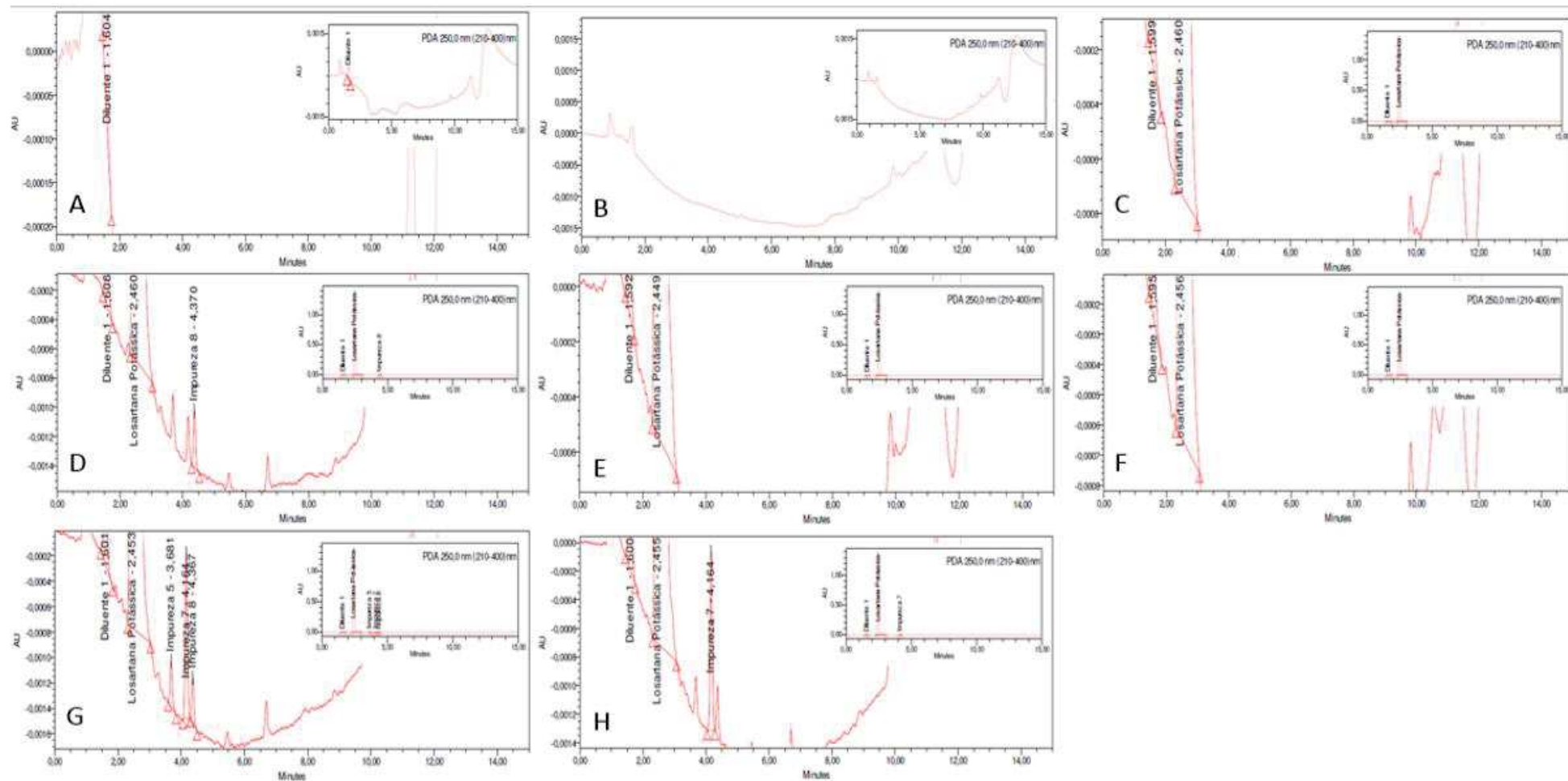


Figura 19. Cromatogramas das soluções controle – Físicos (foto, térmico, umidade): (A) PLA - 50 mg; (B) PLA - 100 mg. (C) IFA - ZHEJIANG; (D) IFA - IPCA; (E) PA 50 mg - ZHEJIANG (18179J); (F) PA 100 mg - ZHEJIANG (18E18G); (G) PA 50 mg - IPCA (18I976);

ESTRESSE ÁCIDO

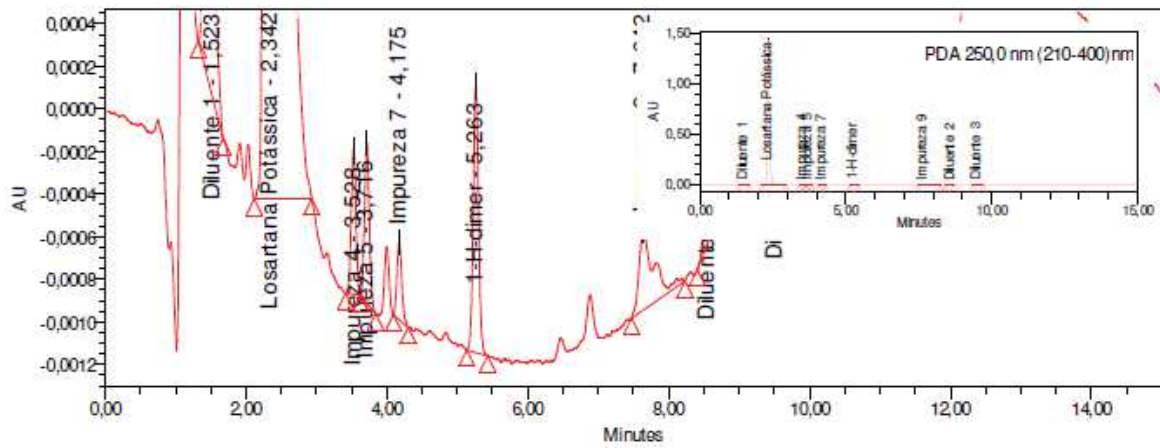


Figura 34. Cromatograma da solução amostra IFA 1 – ZHEJIANG, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

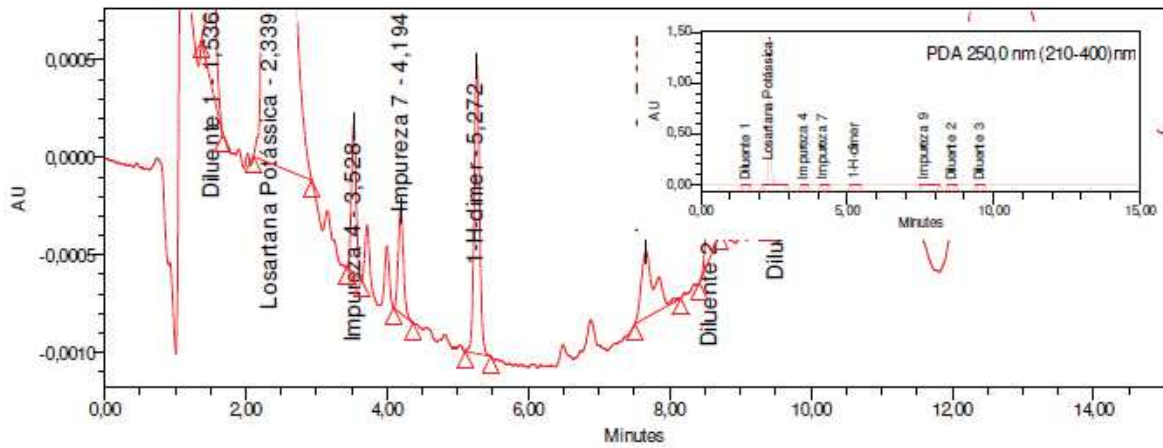


Figura 35. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

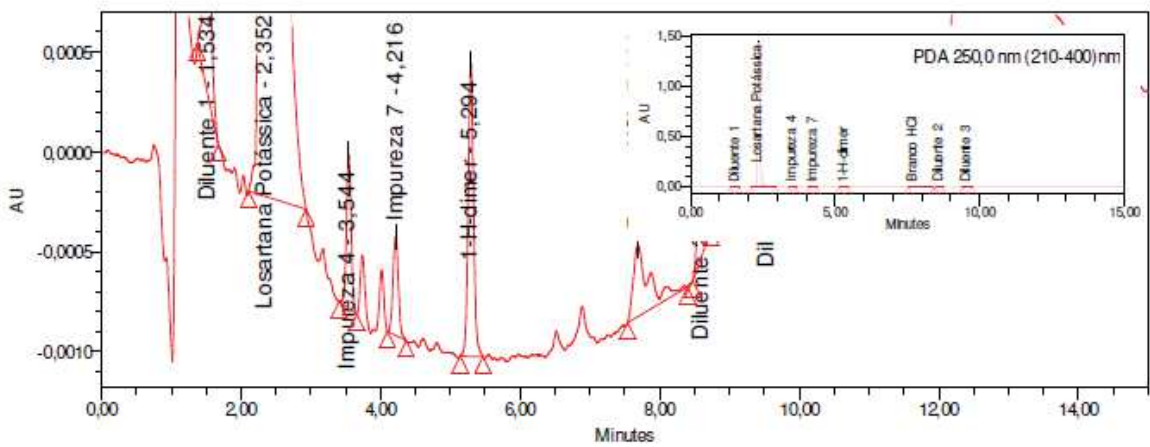


Figura 36. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG – 18179J, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

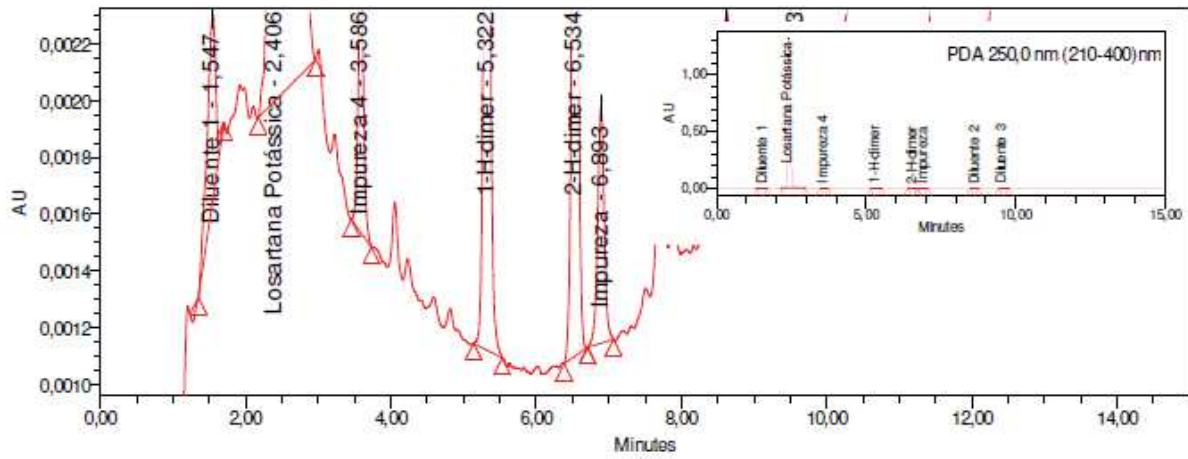


Figura 37. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 181976, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

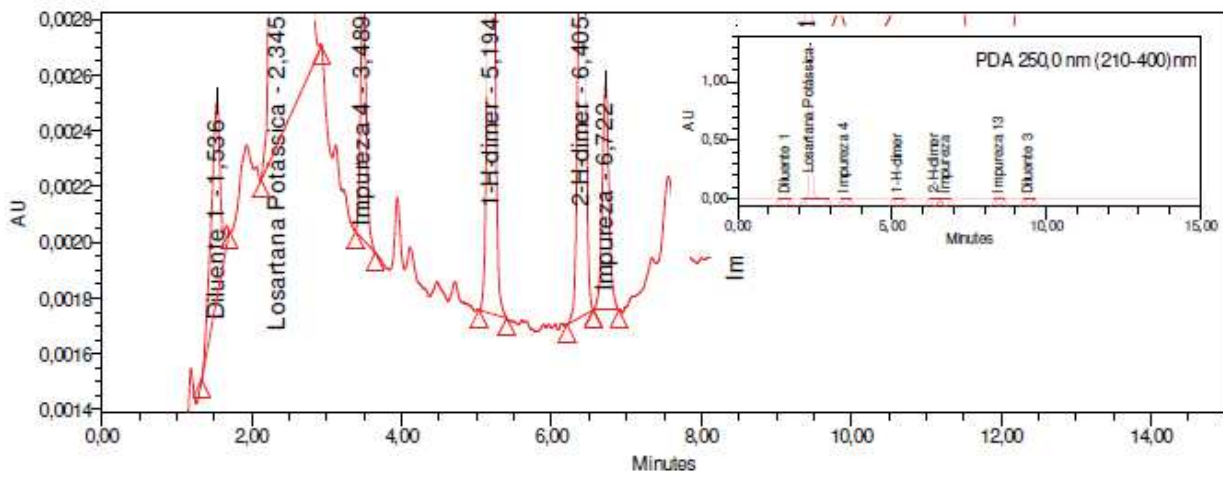


Figura 38. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG – 18E18G, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias.

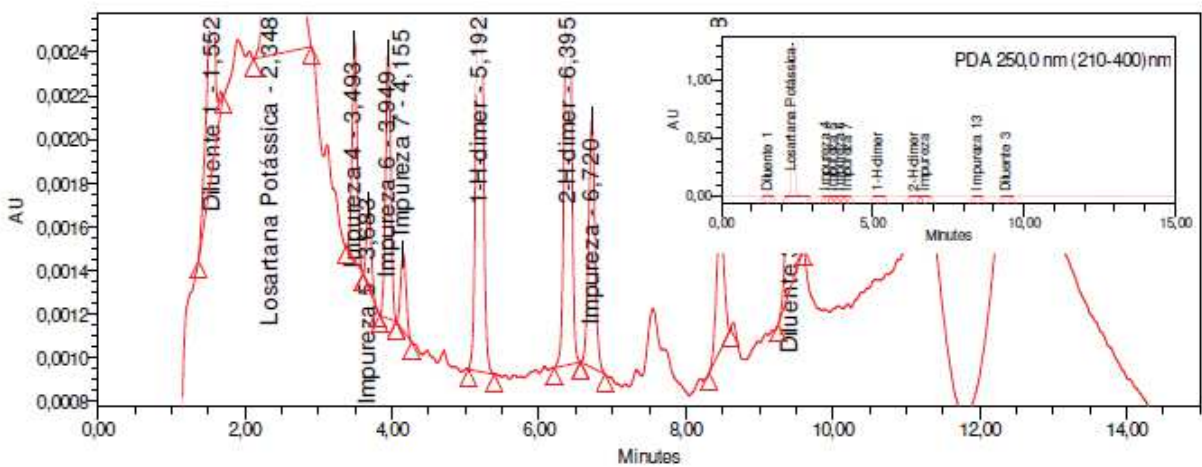


Figura 39. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA – 18A32E, exposta a degradação ácida (HCl 1,0 mol/L) durante 10 dias

ESTRESSE BÁSICO

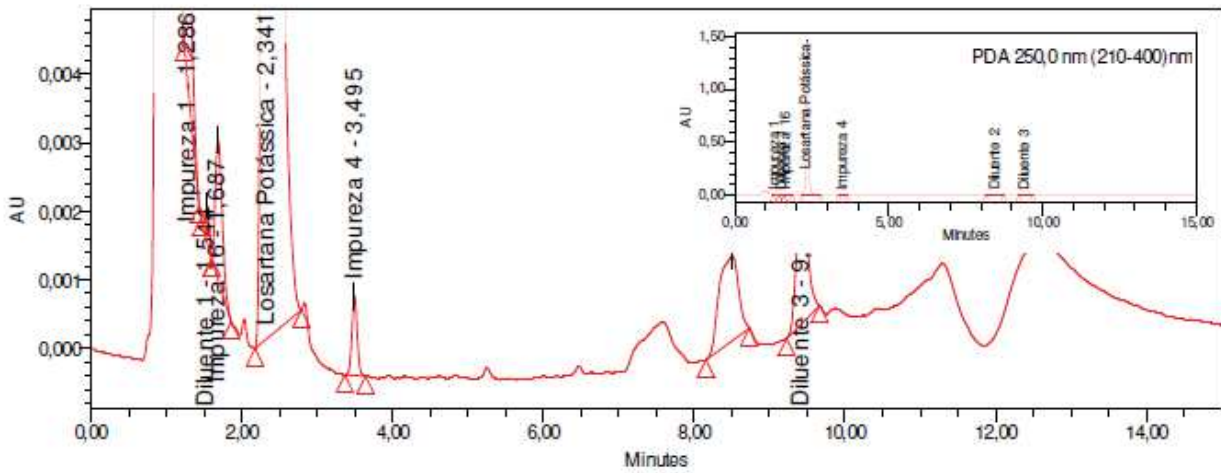


Figura 40. Cromatograma da solução amostra IFA 1 – ZHEJIANG, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

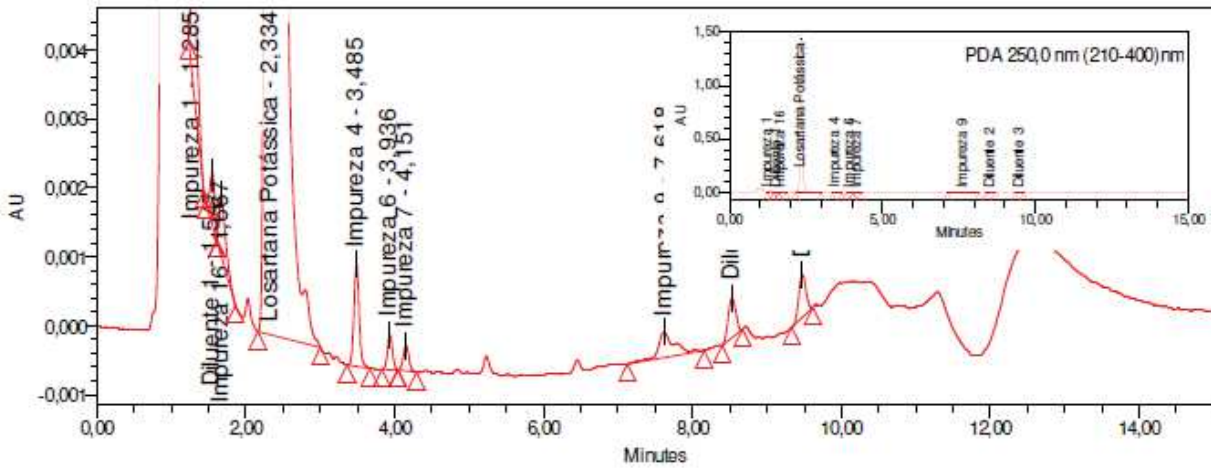


Figura 41. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

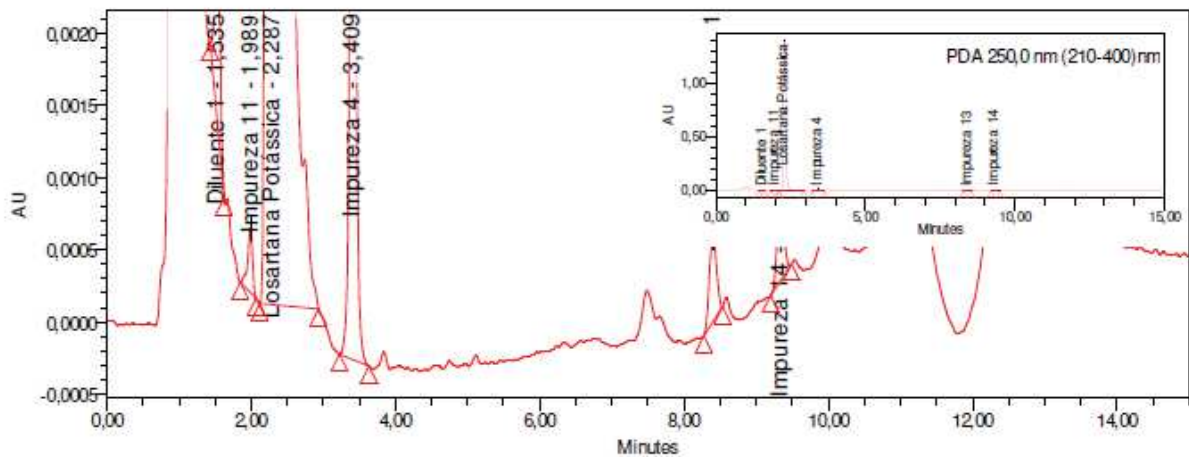


Figura 42. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18179J, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

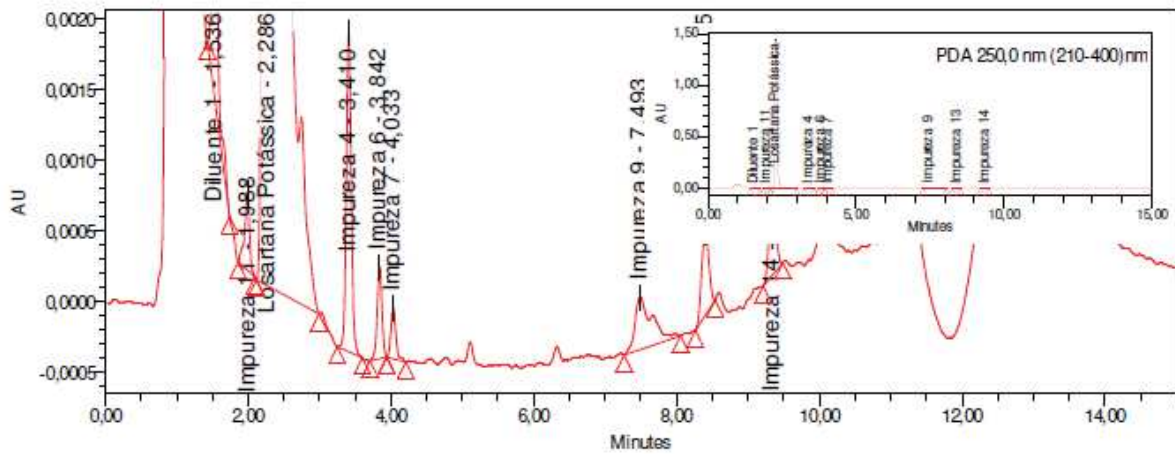


Figura 43. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA - 181976, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

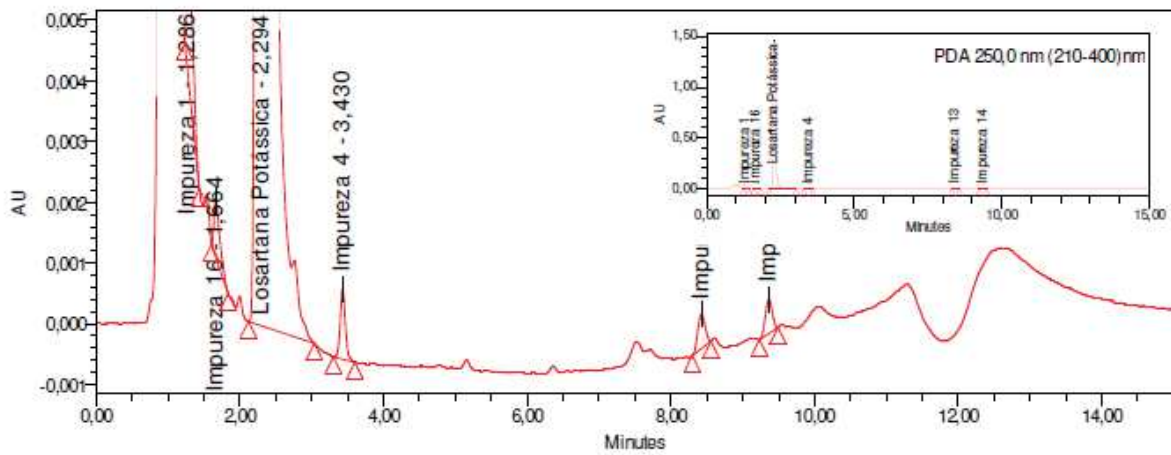


Figura 44. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

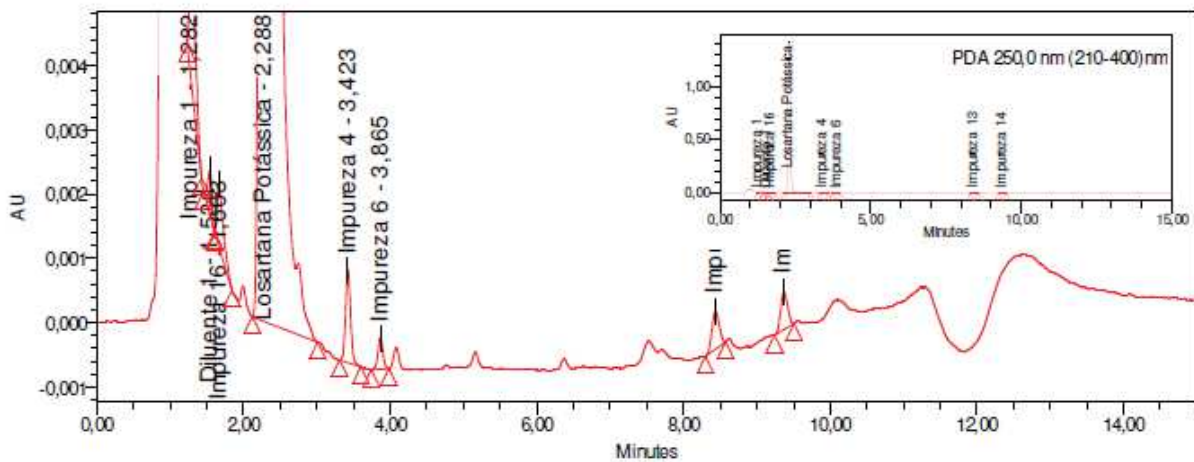


Figura 45. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação básica (NaOH 1,0 mol/L) durante 10 dias.

ESTRESSE ÍONS METÁLICOS

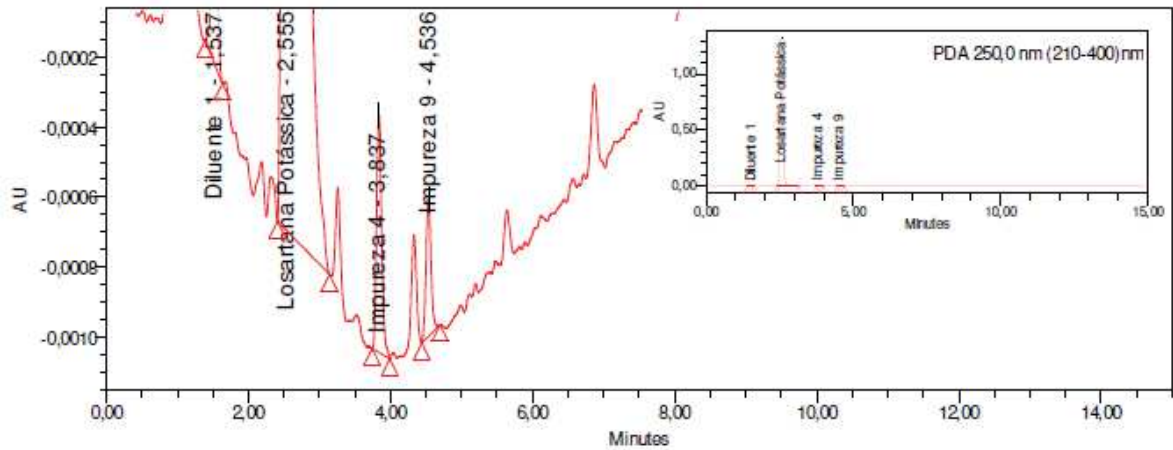


Figura 46. Cromatograma da solução amostra IFA 1- ZHEJIANG, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

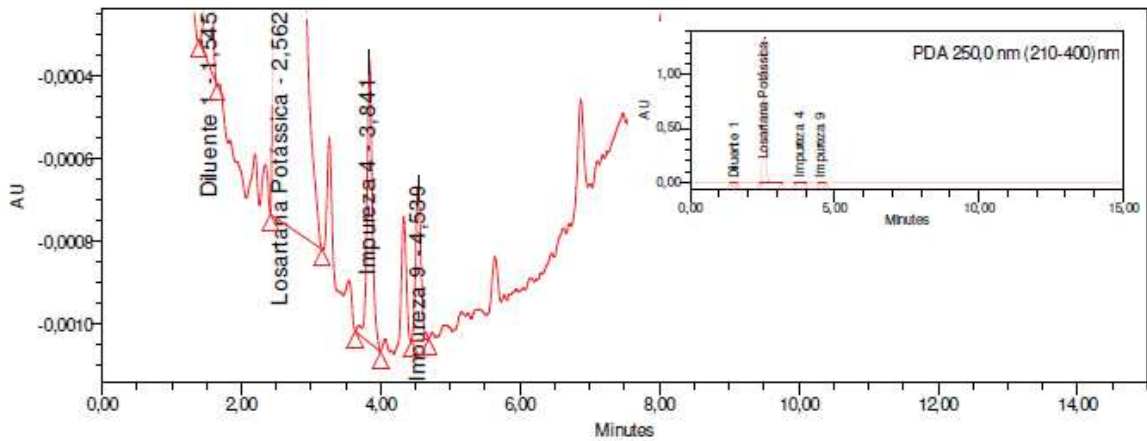


Figura 47. Cromatograma da solução amostra IFA 2 - IPCA, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

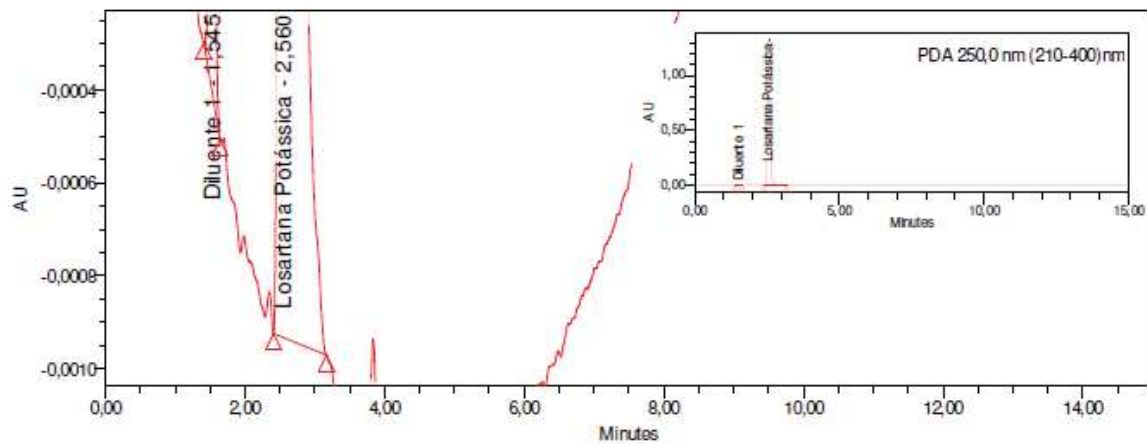


Figura 48. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg - ZHEJIANG - 18179J, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

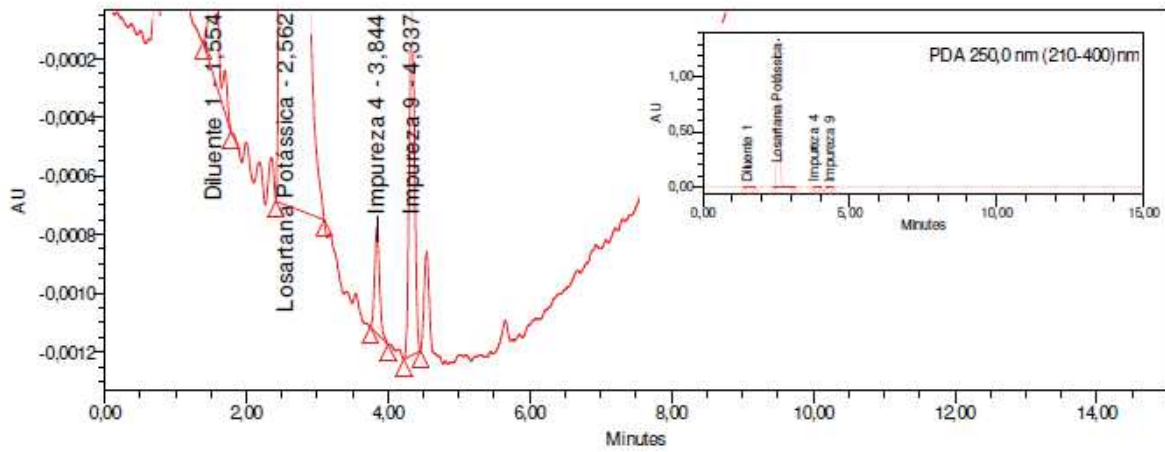


Figura 49. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 181976, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

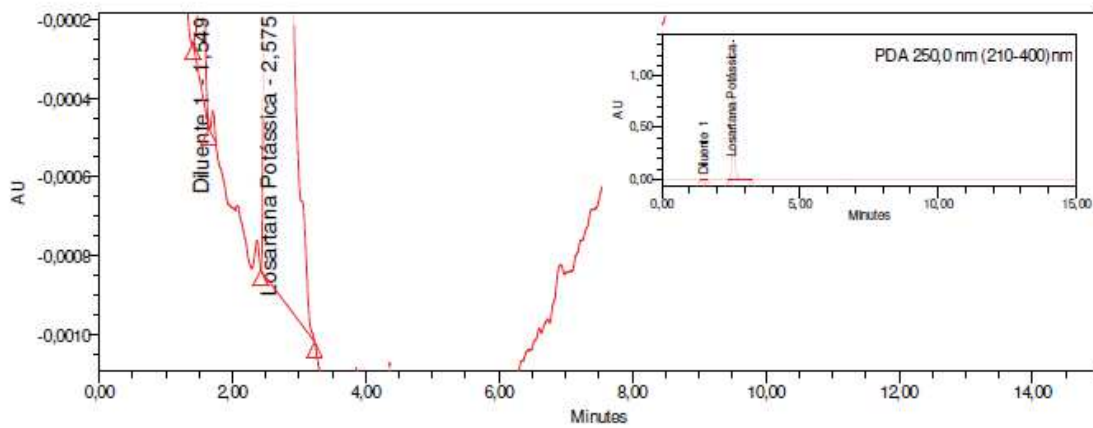


Figura 50. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

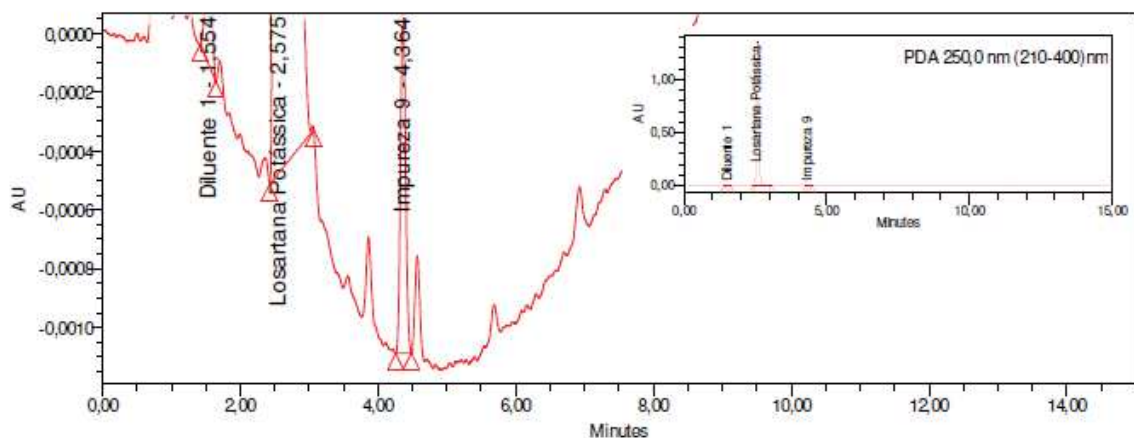


Figura 51. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação por íons metálicos (FeCl_3 0,05 mol/L) durante 24 horas.

ESTRESSE OXIDATIVO

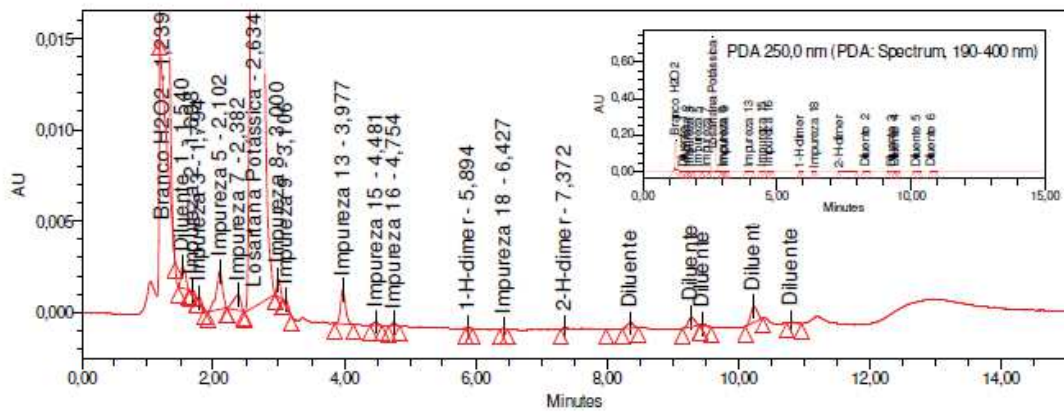


Figura 52. Cromatograma da solução amostra IFA 2 – IPCA exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 6 dias.

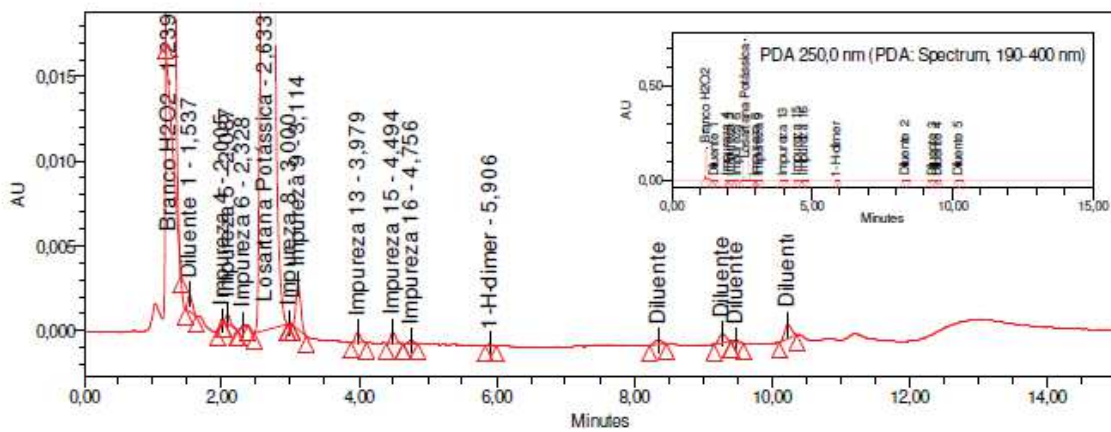


Figura 53. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 18179J, exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 6 dias.

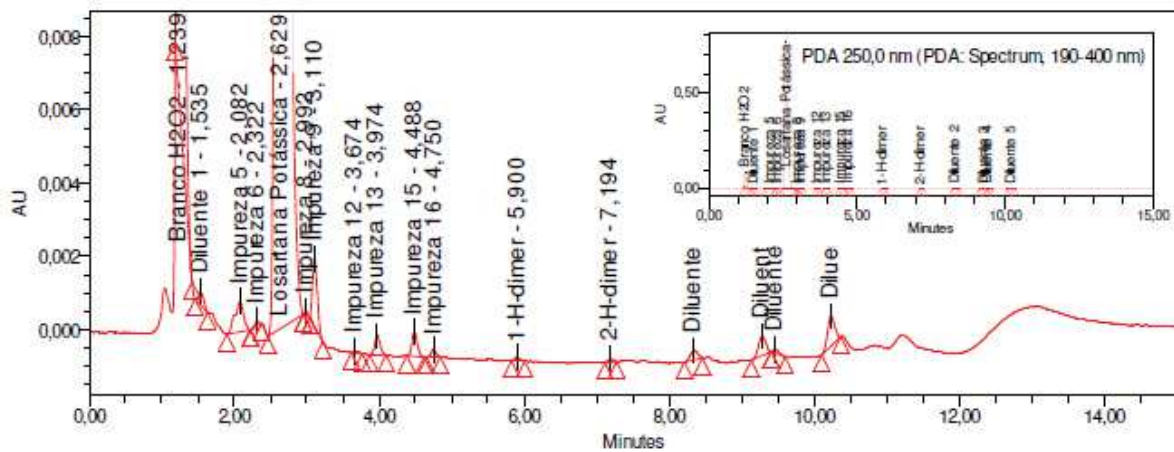


Figura 54. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA – 18E18G, exposta a degradação oxidativa (H_2O_2 0,3%) durante 6 dias.

ESTRESSE FOTOLÍTICO

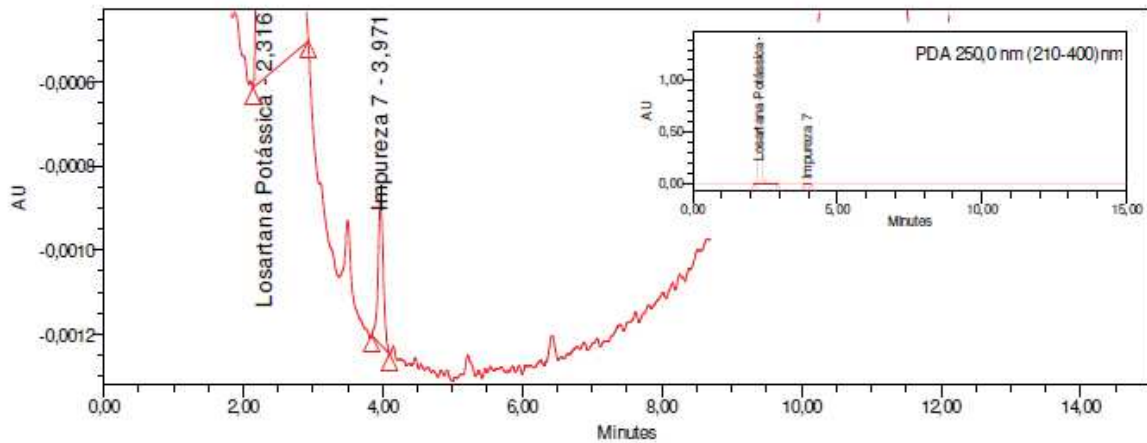


Figura 55. Cromatograma da solução amostra IFA – ZHEJIANG, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.

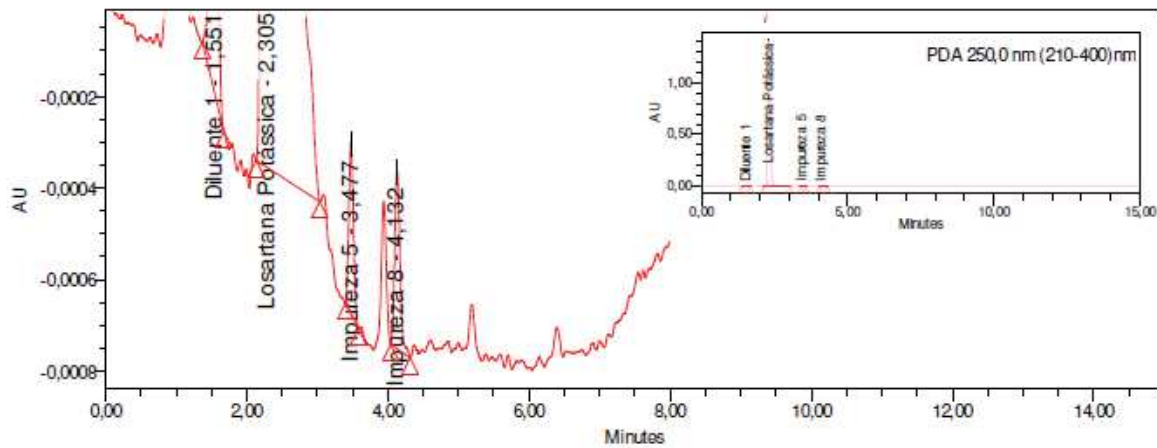


Figura 56. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18179J, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.

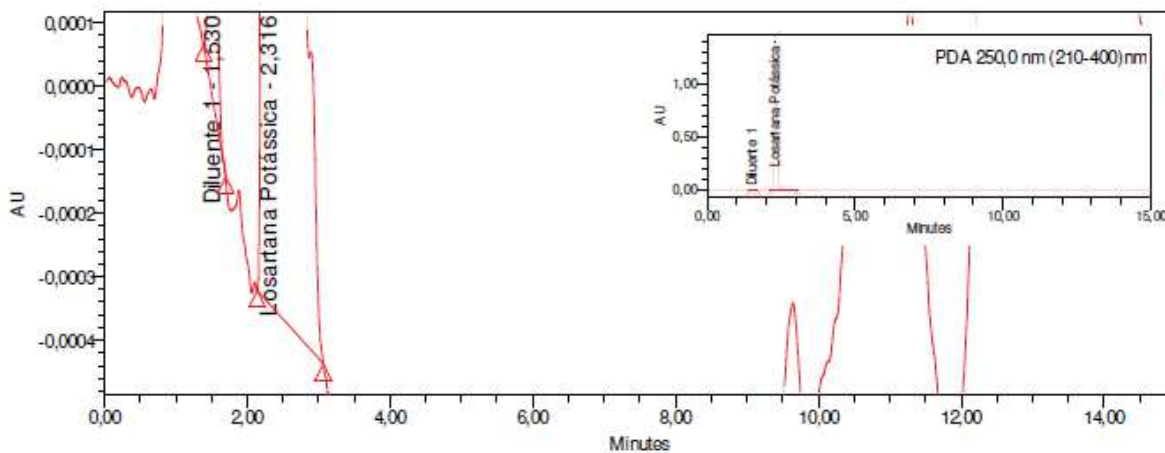


Figura 57. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação fotolítica (2 ciclos de 1,2 milhões lux/h) durante 10 dias.

ESTRESSE TÉRMICO

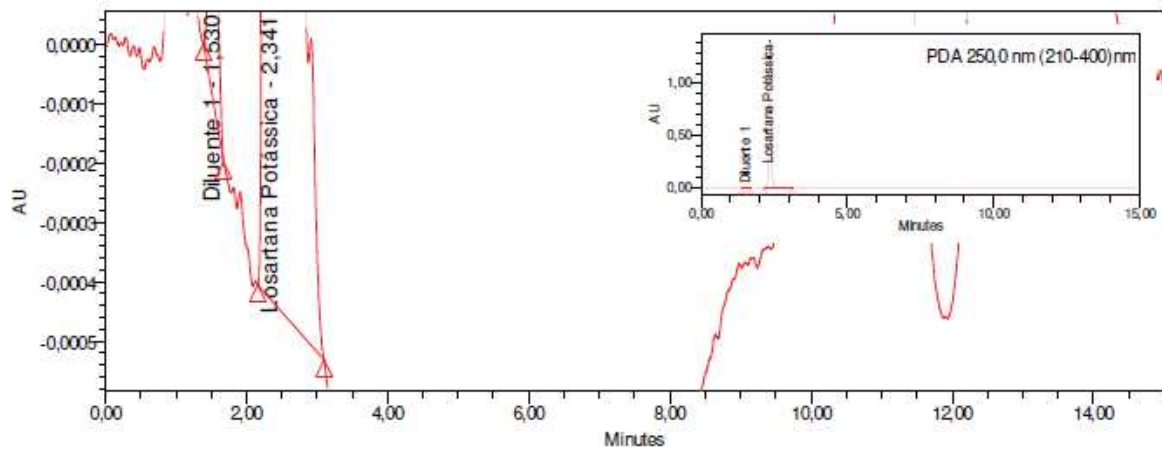


Figura 58. Cromatograma da solução amostra IFA – ZHEJIANG, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.

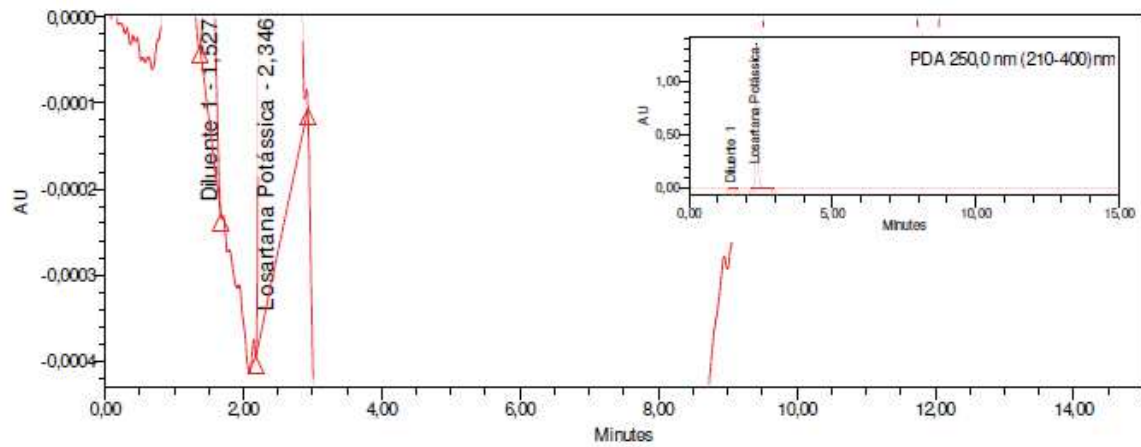


Figura 59. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – ZHEJIANG - 18179J, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.

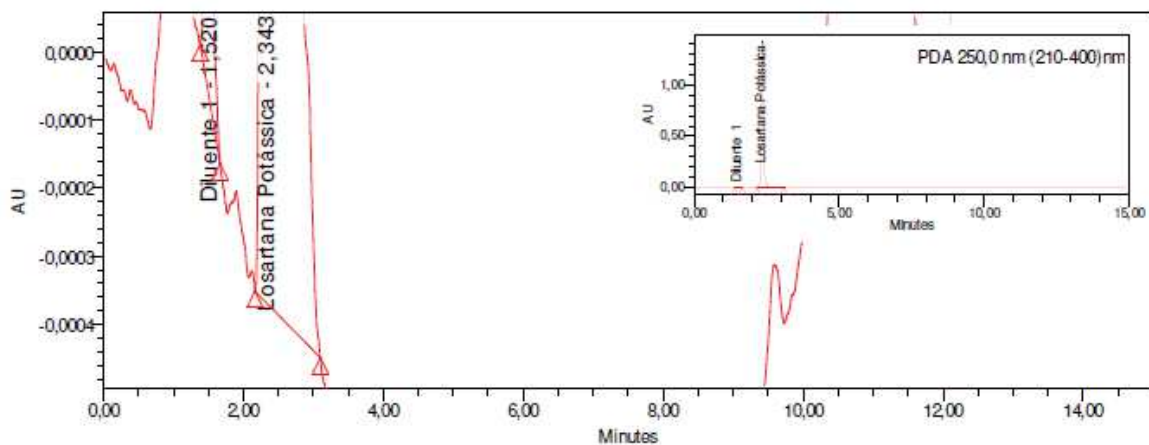


Figura 60. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – ZHEJIANG - 18E18G, exposta a degradação térmica (60°C) durante 10 dias.

ESTRESSE UMIDADE

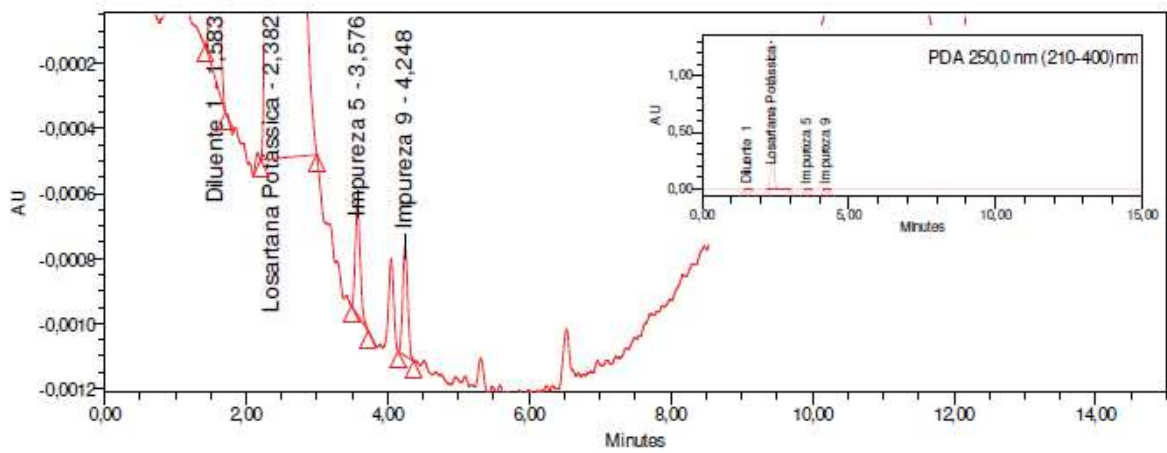


Figura 61. Cromatograma da solução amostra IFA – IPCA, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.

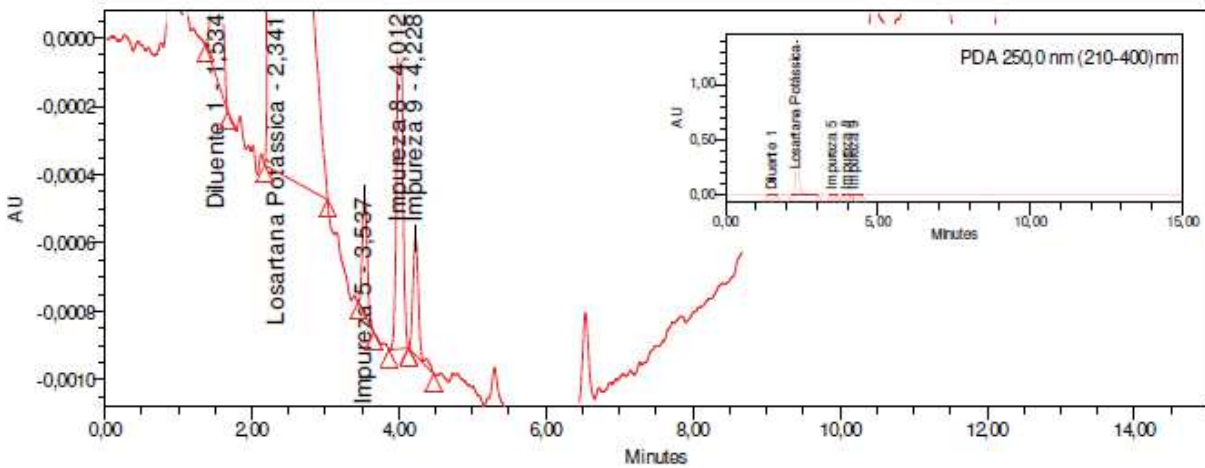


Figura 62. Cromatograma da solução amostra PA 50 mg – IPCA – 181976, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.

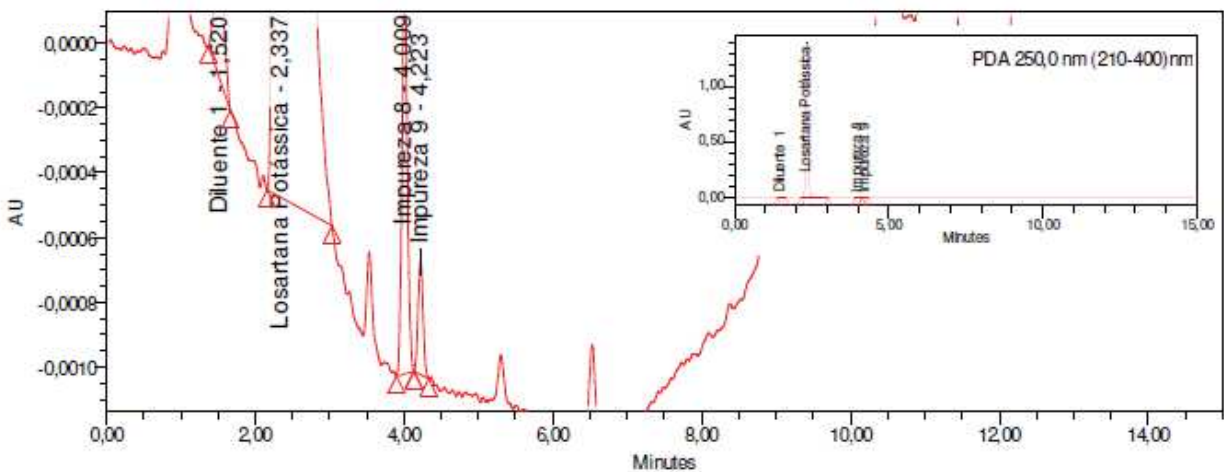


Figura 63. Cromatograma da solução amostra PA 100 mg – IPCA - 18A32E, exposta a degradação por umidade (40°C / 75% U.R) durante 10 dias.

8. GLOSSÁRIO

Empower – Software. Sistema operacional utilizado nas análises.

Max Plot – Ferramenta de varredura. Mostra a absorbância UV máxima de cada ponto de dado amostrado no pico, independente do comprimento de onda.

Noise Spectrum – Espectro de ruído

Peak Angle - Ângulo do pico

Peak Threshold – Limite máximo.

Processing Method – Parâmetros de integração

Purity Plot – Gráfico de pureza

Purity Threshold – Ângulo de limite

System suitability – Adequação do sistema