



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO
POR CLAE-UV/VIS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR E
IMPUREZAS ORGÂNICAS DO INSUMO FARMACÊUTICO
DESLORATADINA**

Lucas Marcelo Scheuer

**Toledo – PR
2022**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO
ANALÍTICO POR CLAE-UV/VIS PARA DETERMINAÇÃO
DO TEOR E IMPUREZAS ORGÂNICAS DO INSUMO
FARMACÊUTICO DESLORATADINA**

Lucas Marcelo Scheuer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/*Campus* de Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

**Orientador(a): Cleber Antônio Lindino
Coorientador(a): Maria Cristina Milinsk**

**Toledo – PR
2022**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Scheuer, Lucas
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-UV/VIS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR E IMPUREZAS ORGÂNICAS DO INSUMO FARMACÊUTICO DESLORATADINA / Lucas Scheuer; orientadora Cléber Lindino; coorientadora Maria Milinsk. -- Toledo, 2023.
39 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Toledo) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2023.

1. Desenvolvimento de método analítico por cromatografia líquida. 2. Validação de método analítico por cromatografia líquida. I. Lindino, Cléber , orient. II. Milinsk, Maria , coorient. III. Título.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-UV/VIS PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR E IMPUREZAS ORGÂNICAS DO INSUMO FARMACÊUTICO DESLORATADINA

Lucas Marcelo Scheuer

Resumo

A desloratadina é um insumo farmacêutico derivado metabólico da loratadina, obtido pela descarboxilação hidrolítica. Pertence à classe dos anti-histamínicos, sendo assim um potente antagonista seletivo dos receptores periféricos H-1 da histamina, de ação prolongada, indicado para tratar sintomas associados à rinite alérgica. Para atestar a segurança e eficácia de um medicamento se faz necessário um controle de qualidade do mesmo por meio de métodos analíticos, os quais identificam e quantificam as impurezas e o teor do ativo. Desta forma, o objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método analítico para doseamento e impurezas orgânicas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-VIS para a matéria prima de desloratadina. A análise foi realizada em um sistema isocrático, a fase móvel foi constituída de uma mistura de dodecil sulfato de sódio na concentração de $0,003 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 2,5 e acetonitrila na proporção 56:44, respectivamente. A coluna utilizada foi a GL Science Inertsil ODS-3. As condições de operação foram com fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura de forno de $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e tempo de corrida de 40 minutos. Os compostos foram avaliados com o comprimento de onda de 279 nm. A desloratadina foi submetida às condições de estresse de degradação oxidativa, ácida, básica, hidrolítica, térmica e fotolítica. Foi observado degradação significativas em condições oxidativas e estáveis em condições de degradação ácida, básica, hidrolítica, térmica e fotolítica. O método analítico desenvolvido se mostrou seletivo, preciso, exato, robusto e linear na faixa de concentração 64 a $96 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ de desloratadina e na faixa de concentração 0,04 a $0,21 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$ para as impurezas de síntese de desloratadina. Desta forma, o método é adequado para a determinação do teor e impurezas orgânicas de desloratadina.

Palavras chave: cromatografia; degradação; isocrático

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NEW ANALYTICAL METHOD BY HPLC-UV/VIS FOR THE QUANTIFICATION OF DESLORATADINE AND RELATED IMPURITIES

Lucas Marcelo Scheuer

Abstract

Desloratadine is a metabolic derivative of loratadine, obtained by hydrolytic decarboxylation. It is a long-action antihistamine and is highly selective histamine₁-receptor antagonist. Desloratadine is indicated to treat allergic rhinitis symptoms. To prove the safety and efficacy of a drug is necessary to perform a quality control through analytical methods, which will identify and quantify the active pharmaceutical ingredient and its impurities. Thus, the aim of this study was to develop and validate an analytical method by high-efficiency liquid chromatography with UV-VIS detection. The method was developed using GL Science Inertsil ODS-3 column in an isocratic system with mobile phase containing a mixture of sodium dodecyl sulfate at a concentration of 0.003 mol L⁻¹ at pH 2.5 and acetonitrile in the proportion 56:44, respectively. The operating conditions were with a flow of 1.0 mL min⁻¹, an oven temperature of 35 °C and a run time of 40 minutes. The eluted compounds were monitored at 279 nm. Desloratadine was subjected to the stress conditions of oxidative, acid, base, hydrolytic, thermal and photolytic degradation. Desloratadine was found to degrade significantly in oxidative and stable in acid, base, hydrolytic, thermal and photolytic degradation conditions. The results showed that the analytical method is selective, precise, accurate, robust and linear in the concentration range 64 to 96 µg.mL⁻¹ of desloratadine and in the concentration range 0.04 to 0.21 µg.mL⁻¹ for impurities related. Thus, this method is suitable for the assay determination of desloratadine and for quantify its impurities.

Keywords: chromatography; degradation; isocratic

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

USP – Farmacopeia Americana

BP – Farmacopeia Britânica

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

CG – Cromatografia Gasosa

EDF – Estudo de Degradação Forçada

UV-Vis – Ultravioleta Visível

ANOVA – Análise de Variância

TR – Tempo de Retenção

TGA – Análise Termogravimétrica

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do funcionamento de um cromatógrafo líquido [13]	18
Figura 2 – Cromatograma da solução Mix contendo o IFA desloratadina e as impurezas A e B, geradas na síntese do IFA.	24
Figura 3 – Espectro de absorção na região UV-Vis para produto na solução amostra de desloratadina.	25
Figura 4– Sobreposição dos cromatogramas da solução branco (diluente) e solução amostra contendo o ativo desloratadina as impurezas A e B.	26
Figura 5 – Cromatograma das soluções teste degradadas por estresse oxidativo por H ₂ O ₂ 0,1% v/v por 3 minutos.....	28
Figura 6 – Reações de oxidação em meio contendo peróxido e estrutura dos produtos de degradação [15].....	29
Figura 7 – Curva termogravimétrica da desloratadina. Varredura entre 30,0°C e 400,0°C, a 10°C min ⁻¹ e fluxo de N ₂ a 30 mL min ⁻¹	29
Figura 8 – 1ª derivada da curva termogravimétrica. O pico indica a temperatura de 327,25 °C.	30
Figura 9 – Calorimetria de varredura diferencial, obtida da curva termogravimétrica. O pico 1 é em 157,4 °C e o pico 2 é 329,4 °C.	30

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da desloratadina [10].....	16
Tabela 2 – Nome, nomenclatura química e estrutura química das impurezas oriundas do processo de síntese do IFA.	17
Tabela 3 – Condições de estresse no estudo de degradação forçada.....	27
Tabela 4 - Resultados das soluções em estresse ácido, básico, íons metálicos, fotolítico, térmico e climático	27
Tabela 5 - Resultados de análises térmicas encontradas na literatura	30
Tabela 6 - Resumo do estudo da linearidade para desloratadina, impureza A e impureza B.	31
Tabela 7 – Resultados de repetibilidade e de precisão intermediária para a quantificação de desloratadina e impurezas orgânicas.....	33
Tabela 8 – Resultados de exatidão para a quantificação de desloratadina e impurezas orgânicas.	34
Tabela 9 – Razão Sinal/ruído para desloratadina e impurezas específicas no limite de quantificação.....	34
Tabela 10 – Avaliação quantitativa da robustez para a desloratadina	35

SUMÁRIO

1	Introdução	11
2	Justificativa.....	13
3	OBJETIVOS	14
3.1	Objetivo geral	14
3.2	Objetivos específicos	14
4	Revisão de literatura	15
4.1	Insumo farmacêutico ativo	15
4.2	Desloratadina	16
4.3	Cromatografia líquida de alta eficiência	18
5	MATERIAIS E MÉTODOS	20
5.1	Equipamentos	20
5.2	Reagentes, padrões e amostras	20
5.3	Sistema cromatográfico.....	20
5.4	Parâmetros de validação.....	20
5.4.1	Seletividade.....	21
5.4.2	Linearidade	22
5.4.3	Precisão	22
5.4.4	Exatidão	23
5.4.5	Limite de quantificação.....	23
5.4.6	Robustez	23
6	Resultados e discussão.....	24
6.1	Desenvolvimento.....	24
6.2	Validação do método analítico	26
6.2.1	Adequabilidade do sistema	26
6.2.2	Seletividade.....	26
6.2.3	Linearidade	31
6.2.4	Precisão	32
6.2.5	Exatidão	33
6.2.6	Limite de quantificação.....	34
6.2.7	Robustez	35
7	CONCLUSÃO	36
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

O controle de qualidade da área farmacêutica é constantemente atualizado devido ao avanço tecnológico e científico e as atualizações das Resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e de compêndios oficiais como a Farmacopeia Americana (USP) e Farmacopeia Britânica (BP). Estas atualizações ressaltam maior criticidade no que se refere a aprovação de métodos analíticos, tendo como principal objetivo, comprovar e atestar a qualidade dos medicamentos e insumos farmacêuticos, o que promove o aumento da segurança ao consumidor final.

Para atestar a eficácia de um método analítico realiza-se sua validação, com parâmetros de mérito analítico como, por exemplo, precisão, exatidão e linearidade, que tem como objetivo demonstrar a capacidade do método em quantificar e qualificar o ativo e suas potenciais impurezas, desde o limite de quantificação (menor quantidade de analito presente em uma amostra que pode ser quantificada com confiabilidade), até 120 % da especificação do princípio ativo e das impurezas desconhecidas e as impurezas conhecidas [1].

Conforme a legislação vigente da ANVISA, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 166/2017, torna-se possível compreender a complexidade de itens que devem ser seguidos para o deferimento do medicamento, como atender inúmeras especificações de qualidade da parte analítica, as quais devem ser comprovadas por metodologias validadas que atendam as mesmas especificações estabelecidas pelo órgão regulador, dentre elas a de impurezas orgânicas provenientes de síntese ou processos produtivos de medicamentos ou de insumos farmacêuticos ativos e também a de teor do ativo [1].

Neste contexto, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido amplamente utilizada para avaliar as impurezas orgânicas e o teor do insumo farmacêutico ativo (IFA). Com a constante atualização e o crescimento do uso da cromatografia em determinações analíticas, os compêndios de farmacopeias como a USP, cada vez mais referenciam métodos cromatográficos como a técnica utilizada para a quantificação e liberação de diversas análises de IFA [2].

A cromatografia é classificada como método físico químico de separação de compostos/substâncias em uma mistura, a qual ocorre por meio de duas fases divididas como fase móvel, cujo objetivo é mover os compostos a serem

separados permeando na fase estacionária, e a fase estacionária, que é responsável pelas interações químicas, quanto maior afinidade dos compostos com a fase estacionária maior a sua atração e retenção conseqüentemente, entretanto para que seja possível a separação, a atração entre os compostos com a fase estacionária a serem separados precisam ser diferentes [3].

Após o desenvolvimento inicial, a utilização da cromatografia se expandiu rapidamente e se especializou em duas áreas específicas de grande utilização, sendo elas, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG) [4].

Conforme a classificação de SKOOG et al. (2006) p. 924

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o tipo mais versátil e mais amplamente empregado de cromatografia por eluição. Essa técnica é utilizada pelos químicos para separar e determinar espécies em uma grande variedade de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos.

Por essas características, a cromatografia líquida tem ampla abrangência nas análises de controle de qualidade em indústrias farmacêuticas, utilizada para análises de liberações de doseamento e impurezas orgânicas, sendo adotadas em IFA e produto acabado e, por este motivo, é a técnica selecionada para aplicação nesta pesquisa.

O presente estudo descreve o desenvolvimento e a validação de método por cromatografia líquida de alta eficiência como indicativo de estabilidade, isto é, capaz de detectar e mensurar, ao longo do tempo o teor do insumo farmacêutico ativo, os produtos de degradação e outros componentes de interesse, sem interferência para a determinação do teor de desloratadina e de suas potenciais impurezas orgânicas, de acordo com a legislação vigente. O método desenvolvido é aplicado em análise de rotina do insumo farmacêutico de desloratadina.

2 JUSTIFICATIVA

Para um medicamento chegar ao consumidor final, ele passa por várias etapas, desde a síntese do IFA até a liberação do produto acabado em um laboratório analítico de controle de qualidade. Esta última etapa ocorre por meio de métodos analíticos, os quais avaliam a amostra em relação ao conteúdo do ativo e das impurezas orgânicas. Para garantir a eficácia do método utilizado, é realizado a validação analítica, a qual visa comprovar que este é capaz de detectar, identificar e quantificar o ativo e suas potenciais impurezas.

Conforme parágrafo único do artigo 252 da RDC nº 301 de 21 de agosto de 2019, que trata das diretrizes de boas práticas de fabricação, os métodos analíticos devem ser validados. O artigo 4º do Capítulo II da RDC 166 de 24 de julho de 2017, que trata dos critérios para a validação de métodos analíticos, estabelece que a validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se, além disso, a RDC 53/2015, que trata dos parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação, preconiza que os métodos analíticos devem ser indicativos de estabilidade, ou seja, capazes de detectar e quantificar o ativo e suas potenciais impurezas nas mais variadas condições de estresse. Tal exigência é cumprida por meio do estudo de degradação forçada (EDF), o qual submete o IFA as seguintes condições de degradação: aquecimento, umidade, solução ácida, solução básica, solução oxidante, exposição fotolítica e íons metálicos [5, 6, 7].

Portanto, o desenvolvimento e validação de um método analítico indicativo de estabilidade, por meio da cromatografia líquida de alta eficiência, além de cumprir a legislação, assegurar o teor do ativo e as impurezas dentro da especificação, corrobora para a definição das condições às quais o IFA ou medicamento é particularmente sensível, a fim de alertar quanto a cuidados específicos que devem ser tomados no desenvolvimento, na produção, manipulação e conservação deste medicamento, como, por exemplo, não expor o produto à luz ou à temperatura elevada.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

Desenvolver e validar método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-VIS;

3.2 *Objetivos específicos*

Desenvolver método seletivo para as principais impurezas de síntese e produtos de degradação de desloratadina;

Identificar e quantificar as principais impurezas de síntese de desloratadina e os produtos de degradação relacionados ao estudo de degradação forçada;

Realizar estudo de degradação forçada de desloratadina;

Validar a metodologia desenvolvida de acordo com as normas da Anvisa.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 *Insumo farmacêutico ativo*

Insumo farmacêutico ativo (IFA) é o termo utilizado para o princípio ativo dos medicamentos, a principal matéria-prima para a produção dos medicamentos [1]. A eficácia, qualidade e segurança de qualquer medicamento estão diretamente relacionados a qualidade do IFA utilizado, portanto, sua etapa de síntese é de suma importância.

Segundo a (ANVISA, 2017),

Insumo farmacêutico ativo (IFA): insumo farmacêutico que, quando administrado a um paciente, atua como componente ativo, podendo exercer atividade farmacológica ou efeito direto no diagnóstico, cura, tratamento ou prevenção de uma doença ou ainda afetar a estrutura e funcionamento do organismo humano

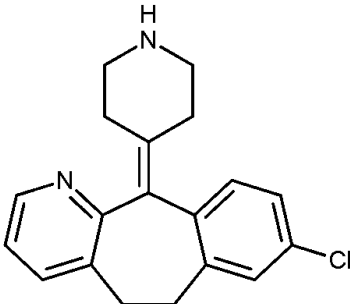
Os medicamentos são produzidos, resumidamente, em duas etapas: matérias-primas são transformadas em IFA e, em seguida, são convertidos em medicamentos. A obtenção de IFA poderá ser por meio de processos de síntese química, extração ou biotecnológica, podendo haver ainda a combinação deles, sendo, a indústria farmoquímica responsável por esta etapa. Na síntese química, a molécula em questão é formada por meio do emprego de reações químicas que viabilizam sua formação. Na extração, solventes ou outros materiais são empregados para extrair substâncias específicas de fontes biológicas. Na biotecnológica, microorganismos são utilizados para a obtenção da substância de interesse [8].

A indústria farmacêutica, responsável pela segunda etapa da produção de um medicamento, utiliza os princípios ativos sintetizados pela indústria farmoquímica para a produção de medicamentos, portanto, o controle e o monitoramento da qualidade do IFA são essenciais para produção de um medicamento com eficácia, qualidade e segurança para os consumidores [8].

4.2 Desloratadina

A desloratadina é um IFA obtido da descarboxilação hidrolítica da molécula de loratadina. Pertence à classe dos anti-histamínicos, sendo um potente antagonista seletivo dos receptores periféricos H-1 da histamina, de ação prolongada, sendo indicado para tratar sintomas associados à rinite alérgica como: coriza, espirros e prurido nasal, ardor e prurido ocular, lacrimejamento, prurido do palato e tosse [9]. As propriedades físico-químicas da desloratadina podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da desloratadina [10].

Propriedades	Desloratadina
Estrutura química	
pKa (Strongest basic)	9,73
LogP	3,969
Solubilidade	Muito pouco solúvel ou praticamente insolúvel em água, muito solúvel em etanol (96 por cento), pouco solúvel ou muito pouco solúvel em heptano.
Descrição	Pó branco
Fórmula Molecular	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₂
Massa molar	310.83 g.mol ⁻¹
Composição	C (73.42%), H (6.16%), Cl (11.41%), N (9.01%)

CAS	100643-71-8
Nomenclatura IUPAC	8-chloro-6,11-dihydro-11-(4-piperidilydene)-5H-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-β]pyridine

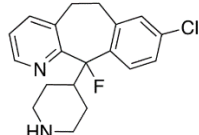
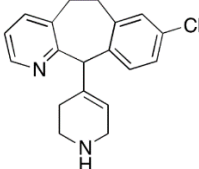
Além de ser um anti-histamínico não sedativo, a desloratadina também evita muitos efeitos colaterais adversos associados à loratadina. De acordo com a literatura, é 2,5 a 4 vezes mais ativa por via oral do que a loratadina e a atividade anti-histamínica dura aproximadamente 24 horas [11].

Os compostos anti-histamínicos são denominados segundo o receptor para histamina com o qual interagem. Assim, aqueles que atuam preferencialmente em receptores H1, H2, H3 e H4, são nomeados, respectivamente, anti-H1, anti-H2, anti-H3 e anti-H4. Destes, os anti-H1, são os compostos mais utilizados para o tratamento de doenças alérgicas [12].

Após a administração oral, concentrações plasmáticas de desloratadina podem ser detectadas aproximadamente em 30 minutos e o pico por volta de 3 horas, sendo metabolizada pelo metabólito ativo 3-hidroxi desloratadina [11].

Durante a síntese de desloratadina, há a possibilidade de formação de impurezas, as quais são controladas pelo fabricante, contudo, na última etapa de síntese, somente duas impurezas são possíveis de ser formadas, impureza A e impureza B, as quais são controladas pelo fabricante e necessitam do controle pela indústria farmacêutica. Na Tabela 2 estão descritos o nome, nome químico e estrutura química das impurezas citadas.

Tabela 2 – Nome, nomenclatura química e estrutura química das impurezas oriundas do processo de síntese do IFA.

Nome	Nome Químico	Estrutura Química
Impureza A	4-[(11RS)-8-chloro-11-fluoro-6,11-dihydro-5H-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-b]pyridin-11-yl] piperidine	
Impureza B	(8-chloro-11-(1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl)-6,11-dihydro-5H-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-b]pyridine	

4.3 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica analítica de separação de compostos químicos não voláteis, a qual permite identificar e quantificar, de forma individual, os compostos presentes em uma mistura, por meio das diferentes interações que ocorrem da fase móvel com a fase estacionária. A execução da técnica ocorre nos cromatógrafos, os quais são constituídos por um reservatório de fase móvel, sistema de bombeamento, sistema de injeção, coluna cromatográfica, detector, sistema para aquisição de dados e descarte de resíduos [4]. A Figura 1 demonstra o esquema de funcionamento de um cromatógrafo líquido.

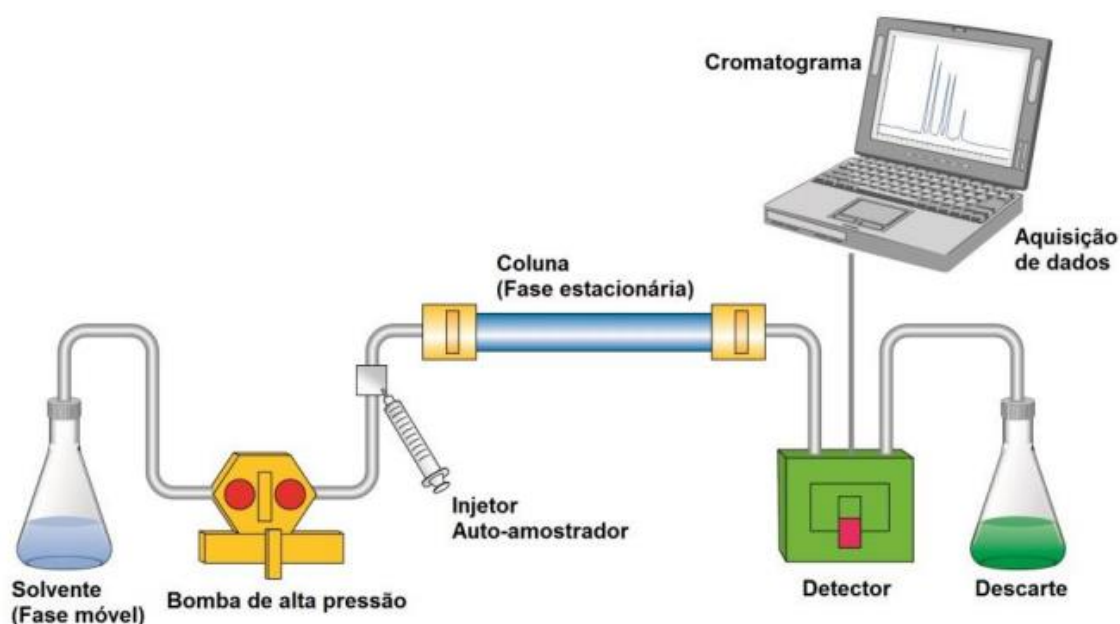


Figura 1 – Esquema do funcionamento de um cromatógrafo líquido [13]

Como demonstrado na Figura 1, a fase móvel migra por todo o sistema cromatográfico por meio de um sistema de bombeamento, o qual opera sob alta pressão. Por meio do sistema de injeção, a amostra é introduzida juntamente com a fase móvel e é deslocada até a coluna cromatográfica, onde ocorre a separação dos compostos. Após esta etapa, a amostra é direcionada para um detector, e, por meio de um sistema para tratamento de dados, é possível identificar e quantificar cada composto presente na mistura através de um cromatograma. Como consequência da diferença de interação de cada composto com a coluna, o tempo de eluição será distinto, desta forma, é possível

identificá-los e quantificá-los de forma isolada [3]. Existem vários detectores que podem ser utilizados, os principais são: detector de índice de refração, detector de fluorescência e detector ultra-violeta/visível (UV-Vis). O índice de refração é considerado universal, pois consegue detectar qualquer tipo de amostra, seja ela polar, apolar e até mesmo sem grupamento cromóforo, porém, é altamente sensível a qualquer alteração de temperatura, não permite a utilização de gradiente e baixa sensibilidade. O detector de fluorescência possui sensibilidade de 10 a 1000 vezes maior que os detectores UV-vis e é altamente seletivo, o mesmo é amplamente utilizado para análises de aminoácidos, vitaminas e corantes. O detector UV-vis é o mais utilizado para a cromatografia líquida, pois apresenta baixo custo, aceita o uso de gradiente, não são tão afetados pelas pequenas mudanças de temperatura e fluxo, possuem sensibilidade e 10 a 1000 vezes maior que o índice de refração. O mesmo consiste em um espectrofotômetro que mede a absorção de luz de cada composto em um determinado comprimento de onda, compreendido entre as regiões visível e ultravioleta [3].

A cromatografia líquida de alta eficiência pode ser dividida em fase normal e fase reversa. A fase normal é caracterizada pelo emprego de uma fase estacionária polar e uma fase móvel apolar sendo utilizada para análise de compostos polares. Já na fase reversa, a fase estacionária é apolar e a fase móvel polar, sendo utilizada para análise de compostos apolares. A fase normal possui esse nome, devido a ser a primeira a ser desenvolvida, porém, atualmente a maioria dos métodos são desenvolvidos em fase reversa, já que os custos dos solventes são menores, facilidade de manipulação, o dano ao equipamento é menor e principalmente pela maioria dos compostos serem compatíveis com essa fase [4].

Como grande parte dos compostos não são voláteis, sua aplicação é muito vasta, principalmente para as análises realizadas nas indústrias farmacêuticas, por meio da identificação e quantificação dos insumos farmacêuticos ativos e dos medicamentos, assim como, para o doseamento de impurezas orgânicas e produtos de degradação em matérias-primas e produtos acabados. Neste estudo, será utilizado a fase reversa com a utilização do detector UV-vis [4].

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Equipamentos

Utilizou-se os seguintes equipamentos: cromatógrafo a líquido Shimadzu LC 2030, balança analítica modelo Excellence Plus XP 26 do fabricante Mettler Toledo, aparelho de ultrassom modelo Elmasonic P do fabricante Elma e sistema de purificação de água modelo Elix Technology Inside Integral 5 do fabricante Merck.

5.2 Reagentes, padrões e amostras

Os reagentes utilizados foram dodecil sulfato de sódio grau para análise (P.A., Synth) , acetonitrila grau HPLC (Biograde), ácido trifluoroacético grau P.A. (Merck), ácido clorídrico concentrado grau P.A.(Synth), hidróxido de sódio grau P.A. (Neon), peróxido de hidrogênio grau P.A. (Neon), sulfato de cobre II (Synth). A matéria-prima de desloratadina, lote 1235834, validade 06/2023, foi fabricada e fornecida pelo fabricante Morepen Laboratories Limited. O padrão de desloratadina, lote DSC8028, foi caracterizado pelo laboratório Labmass. Os padrões das impurezas A e B, lotes R123Y0 e F04040, respectivamente, foram fornecidos pela farmacopeia americana (USP).

5.3 Sistema cromatográfico

A fase móvel foi constituída de uma mistura de dodecil sulfato de sódio na concentração de 0,003 mol L⁻¹ em pH 2,5 e acetonitrila na proporção 56:44, respectivamente. Foi utilizada uma coluna de fase reversa GL Science Inertsil ODS-3 com 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro e 5 µm de tamanho de partícula. As condições de operação foram com fluxo de 1,2 mL min⁻¹, temperatura de forno de 35 °C e tempo de corrida de 40 minutos.

5.4 Parâmetros de validação

5.4.1 Seletividade

A seletividade foi determinada por meio do preparo de solução com a substância química de referência do ativo na concentração de $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e as impurezas conhecidas nas concentrações conforme especificação preconizada na USP $0,16 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (impureza A) e $0,29 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (impureza B) utilizando a fase móvel como diluente. No estudo de degradação forçada, foram preparadas amostras na concentração de $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$, duas amostras controle sem a adição de agente degradante, a fim de utilizá-la como referência para o decaimento de teor e formação de impurezas nas condições estresse estudadas. As amostras com as condições de estresse foram preparadas na mesma concentração das amostras controle, contudo, foram solubilizadas com a fase móvel, e, em seguida, foi adicionado quantidade suficiente de cada agente degradante.

Para o estudo de degradação química, na hidrólise básica, as amostras foram submetidas em solução a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, por 10 dias à temperatura ambiente. Para a hidrólise ácida, as amostras foram submetidas em solução a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, por 10 dias a temperatura ambiente. Para o estresse oxidativo, as amostras foram submetidas em solução a $0,1 \%$ v/v de H_2O_2 , por 3 minutos a temperatura ambiente. Para o estresse por íons metálicos, as amostras foram submetidas em solução a $0,5 \text{ mM L}^{-1}$ de CuSO_4 , por 24 horas a temperatura ambiente. Para o estudo de degradação física (estresse fotolítico, térmico e úmido) submeteu-se o pó do IFA as condições de estresse, em seguida foram preparadas amostras em solução na concentração de $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$ utilizando a fase móvel como diluente. Para o estresse fotolítico as amostras foram expostas a $2,4$ milhões lux h^{-1} durante 80 horas.

Para o estresse térmico, as amostras foram submetidas a temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 dias. Para o estresse úmido as amostras foram submetidas a temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ com umidade relativa de 75% , por 10 dias. A homogeneidade espectral do pico de desloratadina foi avaliada em todas as condições de estresse estudadas, por meio do emprego do *autothreshold* – ferramenta que determinar a pureza do pico por meio da avaliação dos ângulos de pureza e de limite – com absorção espectral inferior a 1 mAU .

5.4.2 Linearidade

A avaliação da linearidade para as impurezas inespecíficas e impurezas específicas foi realizada mediante a obtenção de três curvas analíticas com cinco níveis de concentração de $0,04 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $0,29 \mu\text{g.mL}^{-1}$, compreendendo o intervalo de 0,05 % a 0,36 % m/v da concentração nominal da solução amostra, abrangendo, desta forma, o intervalo de limite de desconsideração até 120 % da maior especificação das impurezas (0,30 %). O método dos mínimos quadrados foi utilizado para obtenção da equação da reta e o cálculo do coeficiente de correlação linear. A análise estatística dos resultados obtidos dados foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA), testes t e F com nível de confiança de 95%. A avaliação estatística foi realizada por meio do Sistema Action Stat 3.7.

5.4.3 Precisão

A repetibilidade foi avaliada por meio de 6 amostras contendo desloratadina na concentração nominal da solução amostra ($80 \mu\text{g.mL}^{-1}$). A repetibilidade para a quantificação de impurezas inespecíficas foi avaliada por meio de 9 amostras, preparadas a partir do padrão de desloratadina, em três níveis de concentrações: $0,04$, $0,08$ e $0,12 \mu\text{g.mL}^{-1}$, correspondendo, respectivamente, aos níveis 0,05 %, 0,10 % e 0,15 % m/v em relação à concentração nominal da solução amostra.

A repetibilidade para a quantificação das impurezas específicas foi avaliada por meio de nove amostras do ativo a $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$, contaminadas com alíquotas de soluções estoques padrão das impurezas específicas em três níveis de concentração, desde o limite de desconsideração até 120 % da especificação de cada impureza: $0,04$, $0,16$ e $0,21 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para a impureza A, correspondendo, respectivamente, aos níveis 0,05 %, 0,20 % e 0,26 % m/v e $0,04$, $0,24$ e $0,29 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para a impureza B, correspondendo, respectivamente, aos níveis 0,05 %, 0,30 % e 0,36 % m/v. A precisão intermediária foi avaliada da mesma forma que a repetibilidade, contudo, os ensaios ocorreram em dias distintos e com analistas diferentes.

5.4.4 Exatidão

A exatidão para a quantificação de desloratadina foi avaliada por meio de 9 amostras preparadas a partir do padrão de desloratadina, em três níveis de concentração: 64, 80 e 96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, correspondendo, respectivamente, aos níveis 80 %, 100 % e 120 % m/v em relação à concentração nominal da solução amostra, com três réplicas em cada nível. A exatidão para a quantificação das impurezas inespecíficas foi avaliada de forma semelhante à repetibilidade. A exatidão para a quantificação das impurezas específicas foi avaliada de forma semelhante à repetibilidade.

5.4.5 Limite de quantificação

O limite de quantificação para este método foi de 0,05 % m/v da concentração nominal da amostra ($0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$) para as impurezas inespecíficas e específicas, correspondente a 0,05 % da concentração nominal da amostra.

5.4.6 Robustez

Os critérios testados na robustez foram o lote da coluna, o tempo de extração e a estabilidade das soluções padrões e amostra. Desta forma, avaliou-se a capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros no método analítico proposto. Estas alterações possibilitaram analisar a confiança durante o uso na rotina laboratorial

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Desenvolvimento

Para separar e quantificar o teor de desloratadina e de suas potenciais impurezas orgânicas presentes no IFA, primeiramente testou-se o método isocrático usando o reagente dodecil sulfato de sódio na concentração de $0,003 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 2,5 ajustado com ácido trifluoroacético e acetonitrila na proporção 57:43, respectivamente, como fase móvel, coluna 250 mm x 4,6 mm x $5,0 \mu\text{m}$ com fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e temperatura de forno de $35 \text{ }^\circ\text{C}$. A solução mix, contendo o ativo desloratadina e as impurezas A e B, as quais são geradas na rota de síntese do IFA, conforme indicado pelo fabricante, foram injetadas no equipamento. A Figura 2 demonstra o cromatograma obtido com a solução mix.

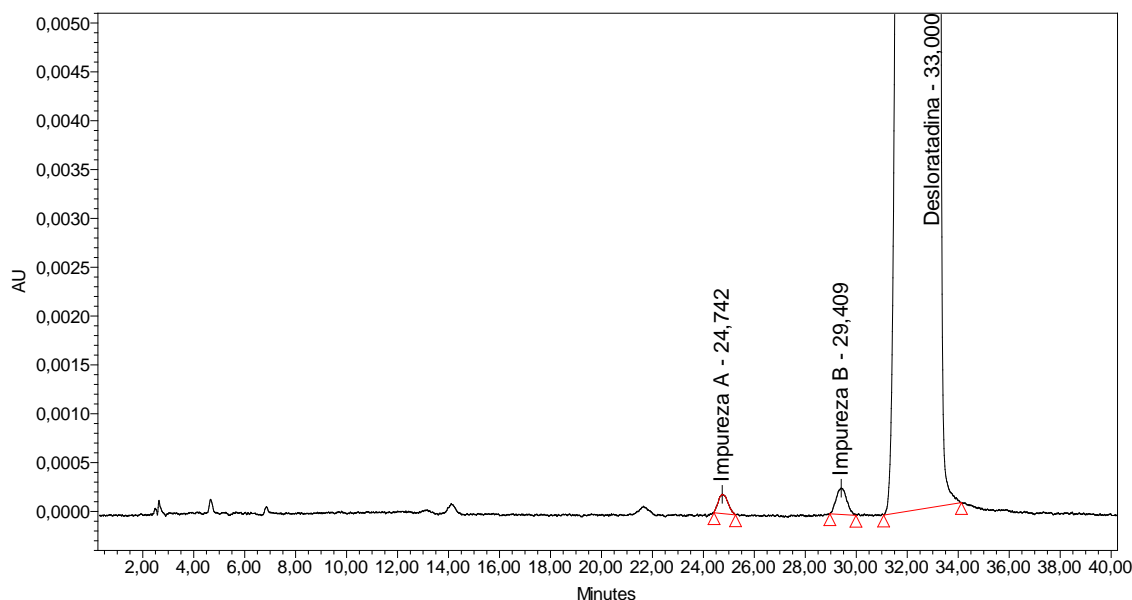


Figura 2 – Cromatograma da solução Mix contendo o IFA desloratadina e as impurezas A e B, geradas na síntese do IFA.

Conforme observado na Figura 2, na condição proposta, os analitos eluíram em tempos de retenção (TR) diferentes obtendo picos gaussianos e resolução de 2,4 entre a impureza B e a desloratadina, o que atende a especificação preconizada pela farmacopeia americana que é de no mínimo 2,0. Contudo, o TR da desloratadina ocorreu em torno de 33 minutos, e para proporcionar menor tempo de corrida avaliaram-se as alterações de fluxo para $1,5 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura da coluna para $45 \text{ }^\circ\text{C}$ e a proporção da fase móvel para 52:48. Todas

as condições propostas foram testadas de forma isoladas, a fim de avaliar o impacto de cada alteração no método.

Com o aumento do fluxo e da temperatura, o TR do ativo diminuiu aproximadamente para 17 minutos, todavia, a razão sinal ruído para a amostra no limite de quantificação ficou muito baixo, aproximadamente 15, se comparado ao primeiro teste que obteve sinal ruído de 35. A alteração na proporção de fase móvel provocou coeluição do pico da desloratadina com a impureza B.

Mediante os resultados obtidos, foram testadas as seguintes condições no mesmo sistema cromatográfico: fluxo 1,2 mL minuto⁻¹, temperatura de 45 °C e proporção de fase móvel 56:44. Nestas condições, a desloratadina apresentou tempo de retenção de 18 minutos aproximadamente, e os picos das impurezas A e B apresentaram resolução entre si e o ativo: 4,19 entre a impureza A e impureza B e 2,37 entre a impureza B e a desloratadina. Conforme o espectro demonstrado na Figura 3 de absorbância da desloratadina, o comprimento de onda escolhido foi 279 nm.

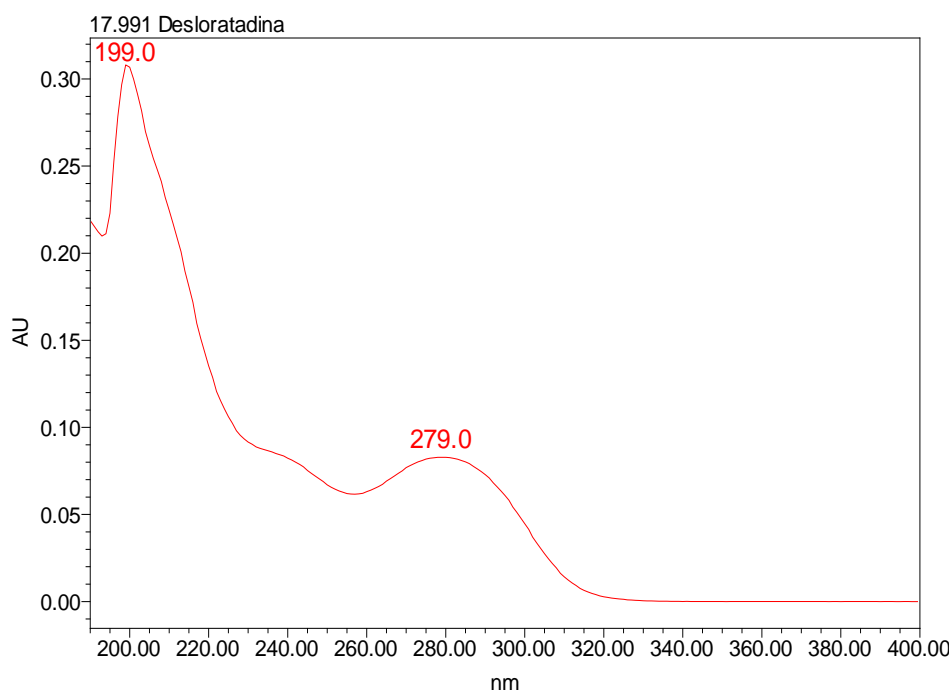


Figura 3 – Espectro de absorção na região UV-Vis para produto na solução amostra de desloratadina.

6.2 Validação do método analítico

6.2.1 Adequabilidade do sistema

Anteriormente a cada análise, a adequabilidade do sistema foi verificada de acordo com o método analítico, comprovando-se que todos os parâmetros cromatográficos foram satisfatórios, uma vez que atingem resolução, fator de cauda e desvios padrão relativos especificados no método analítico. Tal avaliação também foi feita para os controles, garantindo que o sistema se manteve constante durante ou até o final da análise.

6.2.2 Seletividade

De acordo com a RDC 166/2017, a seletividade do método analítico 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 no diluente ou na amostra, como impurezas.

Inicialmente verificou-se a interferência do diluente da amostra na identificação e quantificação dos analitos de interesse. Na Figura 4, é possível observar que não há picos oriundos do diluente no tempo de retenção da desloratadina ou das impurezas conhecidas, assim, o método demonstrou-se capaz de identificá-los e quantificá-los sem qualquer interferência do diluente.

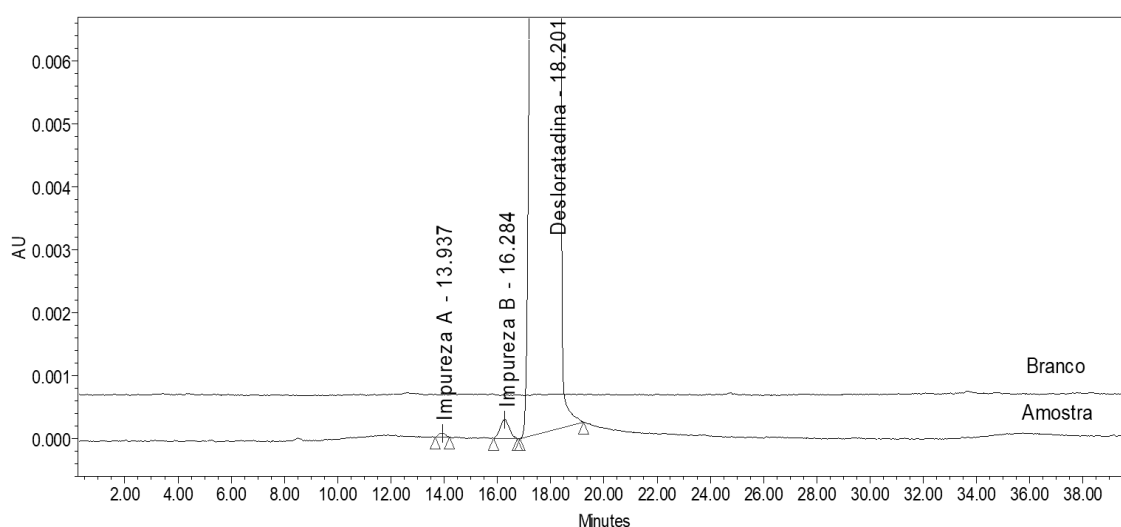


Figura 4– Sobreposição dos cromatogramas da solução branco (diluente) e solução amostra contendo o ativo desloratadina as impurezas A e B.

Após a verificação da interferência do diluente na seletividade do método, as amostras foram submetidas as condições de estresse conforme apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Condições de estresse no estudo de degradação forçada.

Tipo de estresse	Condição de estresse	Tempo de exposição
Controle	-	-
Degradação ácida	HCl 0,01 mol L ⁻¹	10 dias
Degradação alcalina	NaOH 0,01 mol L ⁻¹	10 dias
Degradação oxidativa	H ₂ O ₂ 0,1% v/v	3 minutos
Degradação por íons metálicos	CuSO ₄ 0,5 mmol L ⁻¹	1 dia
Degradação térmica	60 °C	10 dias
Degradação úmida	40°C / 75% U.R.	10 dias
Degradação fotolítica	2,4 milhões lux hora ⁻¹	2 ciclos

Conforme preconizado pela RDC 53/2015, na condição de estresse em que a molécula se demonstrar susceptível, a degradação do pico principal deve ser de pelo menos 10 %. Durante o período avaliado, a degradação de desloratadina nas condições de estresse citadas acima foi inferior a 10 %, não sendo observado também formação de impurezas. Portanto, a molécula de desloratadina demonstrou-se estável nas condições de estresse por hidrólise ácida, básica, íons metálicos, fotolítico, térmico e úmido. Os resultados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados das soluções em estresse ácido, básico, íons metálicos, fotolítico, térmico e climático

Estresse/Condição	Teor (%)	Impurezas (%)	Balanço de massas (%)	Recuperação (%)	
- Controle	100,42	0,10	100,52	-	
Químico	Ácida	100,38	0,10	100,48	99,96
	Básica	99,41	0,11	99,52	99,01
	Oxidativo	76,38	20,87	97,25	96,75
	Íons metálicos	98,75	0,10	98,85	98,34
	Fotolítico	98,12	0,11	98,23	97,72
Físico	Térmico	100,23	0,11	100,34	99,82
	Úmido	98,66	0,10	98,76	98,25

A única condição em que houve degradação da desloratadina acima de 10 % foi a degradação oxidativa, resultando na formação de sete impurezas inespecíficas, sendo que a majoritária foi a com tempo de retenção relativo de 1,083 obtida com 17,24 % e o decaimento do teor do ativo foi aproximadamente de 25 %. O cromatograma apresentando o perfil de degradação nesta condição pode ser observado na Figura 5.

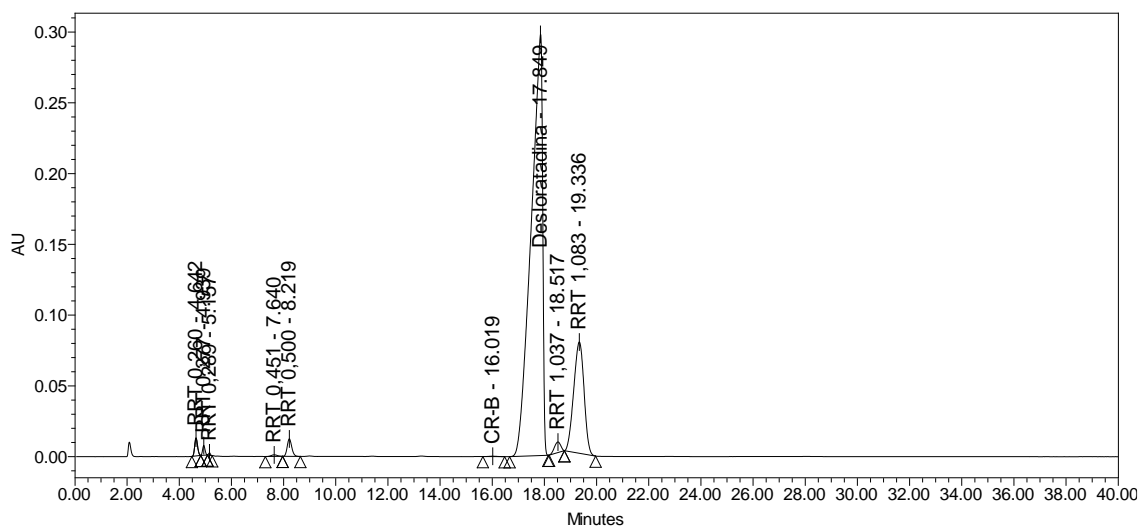


Figura 5 – Cromatograma das soluções teste degradadas por estresse oxidativo por H_2O_2 0,1% v/v por 3 minutos.

Os resultados obtidos corroboram com o encontrado na literatura, pois segundo Brown (2013), os grupamentos amina e olefina presentes na estrutura molecular da desloratadina são susceptíveis à oxidação mediada por peróxido, com conseqüente formação das impurezas N-óxido, via oxidação do nitrogênio da piridina ou da piperidina. Além das duas N-oxidações, também é possível formar o epóxido na olefina que conecta os quatro anéis da estrutura. A Figura 6 apresenta o mecanismo com a formação desses possíveis produtos de degradação.

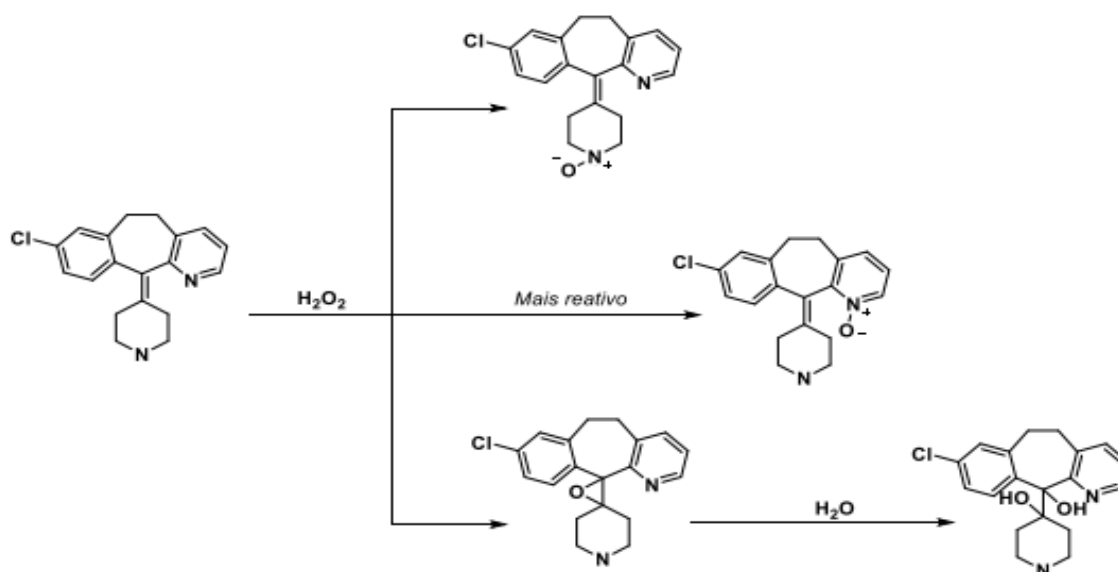


Figura 6 – Reações de oxidação em meio contendo peróxido e estrutura dos produtos de degradação [14].

A fim de complementar o estudo de degradação térmico, a estabilidade térmica da desloratadina foi estudada por análise termogravimétrica (TGA) num equipamento Perkin Elmer modelo STA 6000. A massa da amostra inserida no cadinho de porcelana foi de 7,267 mg, a faixa de temperatura utilizada foi de 30°C a 400°C com razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 30 mL min⁻¹. A Figura 7 demonstra a curva termogravimétrica de desloratadina.

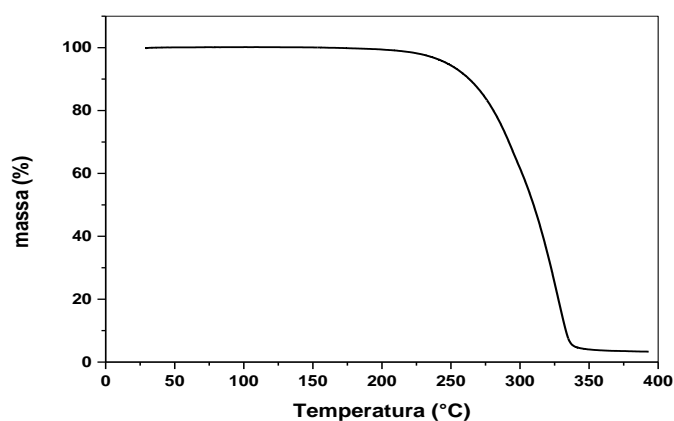


Figura 7 – Curva termogravimétrica da desloratadina. Varredura entre 30,0°C e 400,0°C, a 10°C min⁻¹ e fluxo de N₂ a 30 mL min⁻¹.

A perda de massa foi de 96,5% e, conforme demonstrado na Figura 8, a primeira derivada da curva termogravimétrica apresenta pico que indica a temperatura de 327,25 °C.

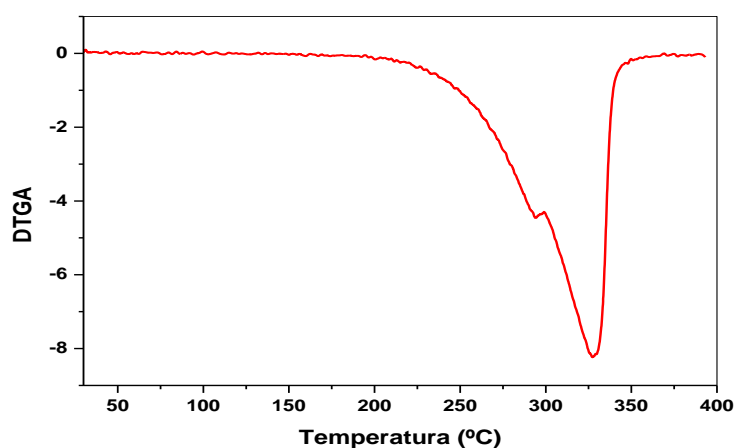


Figura 8 – 1ª derivada da curva termogravimétrica. O pico indica a temperatura de 327,25 °C.

Os resultados da calorimetria de varredura diferencial estão demonstrados na Figura 9.

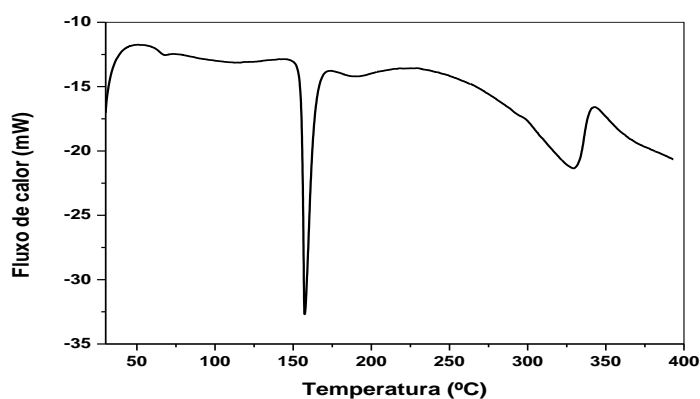


Figura 9 – Calorimetria de varredura diferencial, obtida da curva termogravimétrica. O pico 1 é em 157,4 °C e o pico 2 é 329,4 °C.

A Tabela 5 demonstra alguns autores que também realizaram o estudo de análises térmicas em desloratadina.

Tabela 5 - Resultados de análises térmicas encontradas na literatura

Parâmetro	Este trabalho	Ref. 1 ^a	Ref. 2 ^b	Ref. 3 ^c
Perda de massa	96,5 %	97,1 %	95,0 %	97,1 %
Temperatura de fusão	157,4 °C	158,4 °C	155,3 °C	158,4 °C
Temperatura de degradação	329,4 °C	340,8 °C	-	305,6 °C

^a Veronez et al (2014).

^b Shi et al (2020).

^c Bissa (2013).

Conforme demonstrado na Tabela 5, os resultados da perda de massa das referências citadas ficaram muito próximos ao encontrado neste estudo, com a variação de $\pm 0,6\%$, sendo que, Veronez et al. [22] e Bissa [23] submeteram a amostra até a temperatura de $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, e, Shi et al. [24] não informaram a temperatura. Veronez et al. [22] e Shi et al. [24], observaram um pico endotérmico bem definido com característica de fusão com a temperatura de $158,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, já Bissa [23], com temperatura de $155,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, não observou perda de massa. Para Veronez et al. [22] e Shi et al. [24], um segundo pico endotérmico foi observado com temperatura $340,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $305,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente, os quais coincidem com a perda de massa encontrada na curva de TGA. Ambos picos foram encontrados neste trabalho, desta forma, indicando que os resultados da estabilidade térmica de desloratadina corroboram com os encontrados na literatura

6.2.3 Linearidade

A avaliação da linearidade para desloratadina, impureza A e impureza B foi realizada mediante a obtenção de curva analítica com cinco níveis de concentração e três réplicas em cada nível, compreendendo o intervalo de $0,05\%$ a $0,36\%$ m/v da concentração nominal da solução amostra, abrangendo, desta forma, o intervalo de limite de desconsideração até 120% da maior especificação das impurezas ($0,30\%$).

Os resultados obtidos para as curvas de linearidade nos intervalos de concentração estabelecidos foram avaliados estatisticamente. O resumo do estudo da linearidade para desloratadina, impureza A e impureza B está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Resumo do estudo da linearidade para desloratadina, impureza A e impureza B.

Teste	p-valor		
	Desloratadina	Impureza A	Impureza B
Coeficiente angular	0,0000	0,0000	0,0000
Coeficiente linear	0,1456	0,7542	0,1180
Teste de Normalidade dos Resíduos	0,4026	0,6479	0,1762

Teste de Homocedasticidade	0,2493	0,4786	0,4487
Teste de independência das observações	0,6117	0,0794	0,4585
R			
Coefficiente de correlação de Pearson	0,9991	0,9986	0,9993

Conforme demonstrado na Tabela 6, em todos os analitos avaliados, no teste do coeficiente angular, como o p-valor do teste F da ANOVA obtido foi menor que 0,05, a significância do modelo linear não foi rejeitada (coeficiente angular igual a zero). No teste do coeficiente linear (teste do intercepto), o p-valor foi maior que 0,05, portanto, o intercepto foi considerado igual a zero. Como o p-valor na avaliação do teste de normalidade dos resíduos foi maior que 0,05, a distribuição dos resíduos foi considerada normal.

Para o teste de independência das observações (Teste de Durbin-Watson) foi obtido p-valor maior que 0,05, logo a hipótese de independência das observações ao nível de significância de 5% não foi rejeitada. Como o p-valor (0,2493) do teste de homocedasticidade (Teste de Breusch Pagan) é maior que 0,05 (conforme proposto), não rejeita-se a hipótese de igualdade das variâncias ao nível de significância de 5%, sugerindo modelo homocedástico. No coeficiente de correlação de Pearson (R), os valores obtidos foram maiores que 0,99, o que demonstra relação linear adequada. Além disto, não foram detectados valores extremos ou pontos de alavanca.

A análise estatística demonstrou cumprimento dos critérios estabelecidos para o parâmetro de linearidade para desloratadina, impureza A e impureza B. Desta forma, pode-se considerar o método linear, homocedástico, normal, independente nas observações e sem valores extremos (*outliers*). Considera-se, então, o método linear para quantificação de impurezas inespecíficas, impureza A e impureza B de desloratadina na faixa de 0,04 a 0,29 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ estabelecida para o método.

6.2.4 Precisão

A repetibilidade e a precisão intermediária foram avaliadas por meio de amostras contendo desloratadina na concentração nominal da solução amostra (80 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e nas concentrações 0,04, 0,08 e 0,12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, correspondendo, respectivamente, aos níveis 0,05 %, 0,10 % e 0,15 % m/v em relação à

concentração nominal da solução amostra. As impurezas específicas foram avaliadas com o ativo na concentração nominal da solução amostra, contaminado com as impurezas em três níveis de concentração diferentes, desde o limite de desconsideração até 120 % da especificação de cada impureza. Os ensaios ocorreram em dias distintos e com analistas diferentes. Os resultados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados de repetibilidade e de precisão intermediária para a quantificação de desloratadina e impurezas orgânicas.

Composto	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Repetibilidade		Precisão Intermediária		DPR (%)
		Média (%)	DPR (%)	Média (%)	DPR (%)	
Desloratadina	80	98,88	0,4	99,00	0,1	0,3
	0,04	99,00	2,6	98,96	5,0	4
Desloratadina	0,08	101,03	1,6	96,29	1,5	1
	0,12	96,01	1,5	96,17	1,2	1
Impureza A	0,04	96,11	4,4	104,95	2,3	6
	0,16	98,17	2,2	100,87	2,2	2
	0,21	99,48	1,3	99,70	2,6	2
Impureza B	0,04	102,60	2,5	96,12	3,7	5
	0,24	98,76	1,5	96,29	1,6	2
	0,29	98,58	0,9	98,40	1,2	1

Conforme os resultados apresentados na Tabela 7, o método proposto é preciso, pois obtiveram-se valores de desvio padrão relativo (DPR) de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos pela *Association of Official Analytical Collaboration* (AOAC) que é de 1,3 % para a concentração $80 \mu\text{g.mL}^{-1}$, 5,3 % para a concentração $0,04 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e 3,7 % para as concentrações $0,08 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,12 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

6.2.5 Exatidão

A exatidão da metodologia para teor foi avaliada em três níveis de concentração: 80 %, 100 % e 120 % da concentração nominal da amostra, em três réplicas. Os resultados da exatidão são mostrados na Tabela 8.

Os resultados de exatidão para as impurezas específicas e inespecíficas estão demonstrados na Tabela 7, uma vez que o parâmetro foi avaliado juntamente com a repetibilidade.

Tabela 8 – Resultados de exatidão para a quantificação de desloratadina e impurezas orgânicas.

Composto	Concentração (µg.mL ⁻¹)	Média (%)	DPR (%)
Desloratadina	64	99,35	0,7
	80	100,00	0,2
	96	100,82	1,9

Conforme os resultados apresentados na Tabela 7 e Tabela 8, o método foi considerado com alta exatidão, visto que todos os resultados estão de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos pela AOAC que é de 90 % a 107 % para a concentração 0,04 µg.mL⁻¹, 95 % a 105 % para as concentrações 0,08 µg.mL⁻¹ e 0,12 µg.mL⁻¹, e 98 % a 102 % para a concentração 80 µg.mL⁻¹.

6.2.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação para este método foi de 0,05 % da concentração nominal da amostra (0,04 µg mL⁻¹) para as impurezas inespecíficas e específicas. A Tabela 9 descreve os valores da razão sinal/ruído para os picos de desloratadina, impureza A e impureza B obtidos no parâmetro de exatidão, sendo os valores obtidos superiores à 10.

Tabela 9 – Razão Sinal/ruído para desloratadina e impurezas específicas no limite de quantificação.

Nível (%)	Identificação	Razão Sinal/ruído	
0,05	Desloratadina	1	22
		2	24

	3	27
Impureza A	1	19
	2	28
	3	24
Impureza B	1	47
	2	65
	3	61

6.2.7 Robustez

A robustez do método foi avaliada a partir da solução teste teor. Em todas as variações os resultados obtidos cumpriram com os critérios definidos para a exatidão na quantificação do ativo. A Tabela 10 apresenta os resultados quantitativos das modificações propostas na robustez.

Tabela 10 – Avaliação quantitativa da robustez para a desloratadina

Condição	Solução Teste	
	Teor (%)	Rec. (%)
Sem Alteração 0 horas	101,4	-
4 minutos de ultrassom	101,6	100,2
Sem ultrassom	100,5	99,1
Lote de coluna	102,0	100,6
Sem alteração 193 horas	100,9	99,5
Critério de aceitação	98 – 102%	

Em todas as variações obteve-se uma resolução maior que 2,0 entre os analitos de interesse, e o pico de desloratadina apresentou pureza espectral. Assim, o método proposto foi robusto em todos os parâmetros avaliados demonstrando que o método foi uma excelente alternativa na quantificação de desloratadina e impurezas orgânicas.

7 CONCLUSÃO

O método proposto demonstrou-se seletivo, apresentando resolução entre a desloratadina e suas impurezas de síntese, preciso, exato, robusto e linear na faixa de concentração 64 a 96 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de desloratadina e na faixa de concentração 0,04 a 0,21 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para as impurezas de síntese, permitindo o seu uso no controle de qualidade de matérias-primas para a quantificação de desloratadina e suas impurezas de síntese.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº. 166 - Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências, 24 de julho de 2017
2. The United States Pharmacopeia, USP 44. United States Pharmacopeial Convention Inc, Rockville, 2021.
3. COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: Editora da UNICAMP, página 277-384, 2006.
4. SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006, capítulo 32, página 924-945.
5. Guia Nº 04/2015 – Versão 01, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. MINISTÉRIO da Saúde.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 301 de 21 de agosto de 2019.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 53, de 04 de dezembro de 2015 - Parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares.
8. MITIDIERI, T. L. et al. Há espaços competitivos para a indústria farmoquímica brasileira? Reflexões e propostas para políticas públicas. Complexo Industrial da Saúde, página 45-52, 2015.
9. QI, M. et al. Determination of desloratadine in drug substance and pharmaceutical preparations by liquid chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, página 355-356, 2005.
10. CHEMICALIZE. Desloratadine. Disponível em: <<https://chemicalize.com/app/calculation/desloratadine> >. Acesso em: 28 de setembro de 2022.

11. GEHA, R. S., MELTZER, E. O. Desloratadine: A new, nonsedating, oral antihistamine. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, página 752-761, 2001.
12. CARONICA, G. W., BLAISS, M. Antihistaminic, Anti-Inflammatory, and Antiallergic Properties of the Nonsedating Second-Generation Antihistamine Desloratadine: A Review of the Evidence. *WAO Journal*, página 47-49, 2011.
13. PLOÊNCIO, L. A. S. Desenvolvimento e Validação de Um Método Para Determinação de Sacarose em Mel por Cromatografia Líquida De Interação Hidrofílica Acoplada à Espectrometria de Massas. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química, página 14, 2016.
14. ACD Chems sketch 2012. Versão 12.0
15. PATEL, R.B., PATEL, M.R., MEHTA, J.B. Validation of stability indicating high performance liquid chromatographic method for estimation of Desloratadine in tablet formulation. *Arabian Journal of Chemistry*. S644-S645, 2017.
16. KREUTNER W., HEY J. A., ANTHES J., BARNETT A. YOUNG S. TOZZI S. Preclinical Pharmacology of Desloratadine, a Selective and Nonsedating Histamine H1 Receptor Antagonist. *Arzneimittelforschung* 2000; 50(4): 345-352.
17. Guia Nº 04/2015 – Versão 01, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. MINISTÉRIO da Saúde.
18. ICH, International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH Harmonized Tripartite Guideline, Impurities in new drug substances – Q3A.
19. AOAC INTERNATIONAL, Guidelines for standard method performance requirements. AOAC official methods of analysis – 2016.
20. BROWN, W.H., IVERSON B.L., ANSLYN E., FOOTE C.S. Organic Chemistry 7th Edition. Cengage Learning, página 967 -1019, 2013.
21. ICH, International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH, ICH Harmonized Tripartite

Guideline, Photostability Testing of New Active Substances and Medicinal Products– Q1B.

22. VERONEZ, I. P. et al. Characterization and compatibility study of desloratadine. J Therm Anal Calorim, página 2408-2410, 2014.
23. BISSA, I. P. V. Estudos de Pré-Formulação em Formas Farmacêuticas Sólidas de Uso Oral Para os Fármacos Desloratadina e Etinilestradiol. Universidade Federal de Alfenas, Ciências Farmacêuticas, página 63-33, 2013.
24. SHI, Z. et al. Molecular Origin of the Distinct Tableability of Loratadine and Desloratadine: Role of the Bonding Area – Bonding Strength Interplay, Pharm Res, página 2-6, 2020.