

# DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) PARA ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE FESOTERODINA

Bárbara F. Salamon, Maximiliano S. Sangoi, Martin Steppe

Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade (LEPCQ) - Faculdade de Farmácia - UFRGS

## INTRODUÇÃO

A Fesoterodina (Figura 1) é um antimuscarínico que atua como uma pró-droga no tratamento da síndrome da bexiga hiperativa. A Fesoterodina não consta em nenhuma farmacopéia e não há relatos de métodos analíticos para análise quantitativa do fármaco na presença de seus produtos de degradação. O objetivo deste trabalho é desenvolver e validar o método de CLAE para análise qualitativa e quantitativa em sua forma farmacêutica, bem como realizar estudos da sua estabilidade.

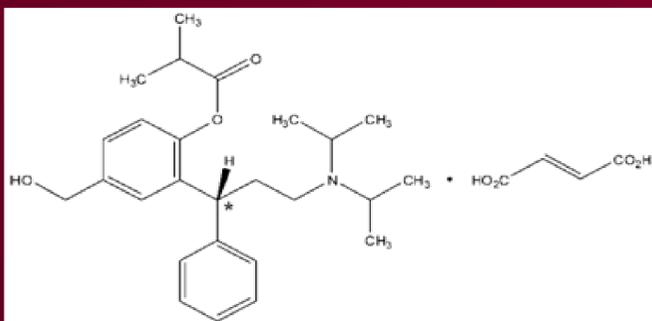


Figura 1. Fumarato de Fesoterodina

## MATERIAL E MÉTODOS

As condições cromatográficas encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Condições cromatográficas

Equipamento	Shimadzu LC system (Kyoto, Japão)
Deteção	Detector UV – DAD (208 nm)
Coluna	Phenomenex Inc Onyx C18 (100x4,6 mm id)
Fase móvel	ACN:metanol 30mM: acetato de amônio (30:15:55, v/v/v) (pH 3,8)
Fluxo	2,4 ml/min
Volume de injeção	10 µl
Temperatura	45°C

### ⇒ Especificidade

A especificidade do método foi avaliada frente a interferência dos excipientes da forma farmacêutica e a degradação forçada (ácida, alcalina, oxidativa, fotolítica e térmica).

### ⇒ Linearidade

A linearidade do método foi avaliada através da construção de curva padrão da fesoterodina substância química de referência (SQR) na faixa de concentração de 5 - 150 µg/ml. Foram preparadas três soluções para cada concentração e cada uma foi analisada em triplicata.

### ⇒ Precisão

Foram verificadas a repetibilidade (intra-dia) e a precisão intermediária (inter-dias), através da análise de seis amostras com concentração de 50 µg/ml. Os resultados foram expressos em termos dos desvios padrão relativos (DPR).

### ⇒ Exatidão

A exatidão do método foi determinada através do teste de recuperação, pela adição de SQR às soluções de placebo nas concentrações de 40, 50 e 60 µg/ml. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de recuperação.

### ⇒ Robustez

A robustez foi avaliada através da modificação isolada das seguintes condições cromatográficas: fluxo (2,3 – 2,5 mL/min), tampão (28 e 32mM), pH (3,6; 3,8 e 4,0), tampão (53, 55 e 57%) e temperatura (43, 45 e 47°C).

### ⇒ LD e LQ

O ruído de fundo foi obtido após a injeção da fase móvel, observado ao longo de uma distância igual a 20 vezes a largura, a meia altura do pico em um cromatograma obtido pela injeção de 50 µg/ml da substância de referência. A relação sinal ruído aplicada foi de 10:1 para o LQ e 3:1 para LD.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ✓ Especificidade

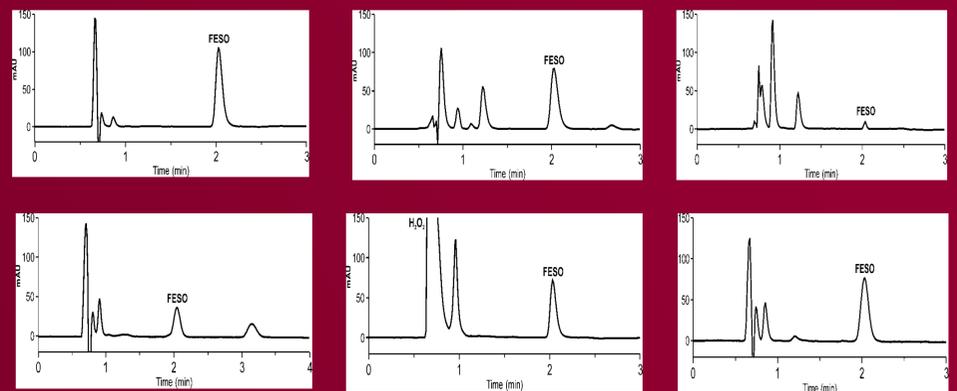


Fig. 3. (a) Amostra; (b) Degradação ácida (HCl 2M, 6h – 32%); (c) Degradação básica (NaOH 0,01M, 10 min – 95%); (d) Degradação fotolítica (UV-C 45 min – 60%); (e) Degradação oxidativa (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 6h – 10%); (f) Degradação térmica (60°C, 36h – 17%);

### ✓ Linearidade

A curva padrão do fumarato de fesoterodina SQR, encontra-se representada na Figura 2.1

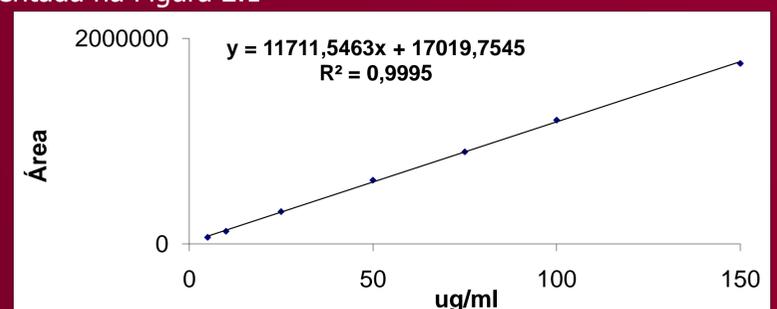


Figura 2: Curva padrão de Fumarato de Fesoterodina SQR por CLAE.

### ✓ Precisão

A repetibilidade do método resultou em um DPR = 1,48% (n = 6). A precisão intermediária apresentou valor médio de 99,27%, com valor de DPR 1,05% (n = 24).

### ✓ Exatidão

As porcentagens de recuperação encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3: Porcentagens de recuperação obtidas no teste de recuperação por CLAE.

Concentração Nominal (µg/mL)	Média das concentrações (µg/mL)	DPR (%)	Exatidão (%)
40	39.50	0.41	98.75
50	49.05	0.12	98.10
60	60.92	0.35	101.54

### ✓ Robustez

As modificações provocadas nas condições cromatográficas, não causaram variações significativas na simetria do pico, no fator de retenção e nos pratos teóricos. Demonstrando a robustez do método.

### ✓ LD e LQ

O LD e o LQ calculados foram 0,41 e 1,37 µg/mL, respectivamente. Experimentalmente, o LD foi de 0,49µg/mL e o LQ foi de 1,50 µg/mL, com precisão abaixo de 5% e exatidão de ± 5%.

## CONCLUSÃO

O método por CLAE desenvolvido para a análise do fumarato de fesoterodina demonstrou-se ser específico, linear, preciso, exato, sensível e robusto nas condições estudadas, sem interferência dos excipientes e dos produtos de degradação. Sendo de fácil aplicação para o controle de qualidade da Fesoterodina.

## REFERÊNCIAS

- TOVIAZ® (Fesoterodine fumarate). **Full Prescribing Information**, Pfizer Inc., New York, USA, 2007.
- J. Ermer, H.J. Ploss, Validation in pharmaceutical analysis, J. Pharm. Biomed. Anal. 37 (2005) 859-870.