



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA– UnB

INSTITUTO DE QUÍMICA– IQ

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

Trabalho de conclusão de curso II

**Titulação condutométrica de losartana potássica em medicamentos:
Desenvolvimento e Aplicação**

Aluna: Dienefer Pádua Santos 16/0070121

Orientador: Prof. Dr. Carlos M. Infante Córdova

BRASÍLIA – DF

2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA– UnB
INSTITUTO DE QUÍMICA– IQ
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

**Titulação condutométrica de losartana potássica em medicamentos:
Desenvolvimento e Aplicação**

Trabalho de conclusão de curso
submetido ao curso de graduação em
Química da Universidade de Brasília
com requisito parcial para obtenção
do Título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos M.
Infante Córdova

BRASÍLIA – DF

2022

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha mãe, Sueleide, e aos meus irmãos, Darllon, Dieferson, Dierley e Dionathan, sem eles nada disto teria se tornado realidade.

Amo vocês!

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus pelo dom da vida e pelo amor incondicional, sendo assim possível meu aprendizado diário, desde pequenos erros a grandes oportunidades, permitindo desenvolver e propagar o conhecimento.

À minha família que esteve apoiando e incentivando meu desenvolvimento profissional e pessoal diariamente, que compartilharam momentos de dificuldades e indecisões.

Ao professor Dr. Carlos Martín Infante Córdova por todo apoio prestado nestes últimos meses, pelo seu incentivo, acolhimento e mentoria que moldaram este trabalho, agradeço profundamente.

Aos meus colegas e amigos de curso e laboratório que estiveram comigo nesta caminhada, compartilhando ensino e momentos da vida, principalmente a minha amiga Stefani do curso de enfermagem que durante todos estes anos esteve comigo todos os dias.

Por fim, quero agradecer a banca avaliadora Professor Dr. Mauro Vicentini e Dra. Taís Augusto Pitta Garcia Cotta pela disponibilidade. Assim como, agradeço ao Instituto de Química, à UnB, por possibilitar durante estes anos um bom aprendizado e a realização de um sonho.

“Troque suas folhas, mas não perca suas raízes. Mude suas opiniões, mas não perca seus princípios.”

- Victor Hugo

Resumo

O presente trabalho emprega a titulação condutométrica para o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de Losartana potássica em medicamentos, utilizados para prevenir e tratar doenças cardiovasculares e hipertensivas. Para a seleção da Losartana potássica foi considerado seu amplo uso pela população e a distribuição gratuita pelo SUS. Os métodos das farmacopeias Brasileira, Europeia e Americana, amplamente utilizados na indústria farmacêutica, empregam solventes e reagentes muito tóxicos, e precisam de padrões analíticos de alta pureza, e reagentes ou equipamentos de alto custo, sendo que poucas alternativas analíticas estão disponíveis em seus manuais. A química verde baseada em diversos princípios, pode e deve ser aplicada no desenvolvimento de métodos analíticos sustentáveis, pelo uso racional dos recursos, empregando o mínimo de reagentes possível para cada análise, sendo estes reagentes de preferência com baixa toxicidade, procurando uma diminuição de resíduos gerados, tanto em quantidade como em periculosidade. Para o método desenvolvido ser considerados opções para o controle de qualidade na indústria devem ser robustos, simples, reprodutíveis, e adicionalmente de custo baixo, para implantação e análises de rotina. Foram realizados estudos para o método desenvolvido mostraram que o melhor titulante foi o HCl na concentração $0,0100 \text{ mol L}^{-1}$. O preparo da amostra consiste só em triturar o medicamento e dissolver o pó obtido em água. A avaliação do ponto de equivalência foi feita partir de curva ajustadas antes e após do ponto de equivalência, eliminando a típica ambiguidade na avaliação do ponto final das titulações com indicador colorido. A validação dos métodos desenvolvidos seguiu recomendações de diversas organizações, com adaptações para a volumetria. As titulações aconteceram em triplicada, e para 50 mg de losartana potássica o desvio padrão foi 0,4604 mg e desvio padrão relativo 3,39%. O método foi linear na faixa de 25 a 150mg, com limite de detecção de 2,19 mg, apresentando robustez para variações de condutivimetro. Na análise de diversas amostras foram encontradas evidências de diferença significativa ao 95 de confiança em comparação com cromatografia líquida de alta eficiência.

Palavra-chave: Titulação condutométrica, Losartana Potássica, Análise de medicamentos, Validação de volumetria.

Abstract

The present work use conductometric titration for the development of analytical methods for the determination of Potassium Losartana in medications, used to prevent and treat cardiovascular and hypertensive diseases. For the selection of Potassium Losartana the wide use by the population and your free distribution by SUS were considerate. The methods of the Brazilian, European and American pharmacopoeias, widely used in the pharmaceutical industry, employ highly toxic solvents and reagents, and require high-purity analytical standards, and high-cost reagents or equipment, since few analytical alternatives are available. Green chemistry based on various principles, can and should be applied in the development of sustainable analytical methods, by rational use of two resources, employing the minimum of possible reagents for each analysis, these being preferred reagents with low toxicity, seeking a reduction in waste generated, both in quantity and in dangerousness. For the developed methods to be considered options for quality control in the industry, they must be robust, simple, reproducible, and additionally low cost, for routine implementation and analysis. The studies carried out show that the best titrant was HCl at a concentration of $0.0100 \text{ mol L}^{-1}$. The preparation of the sample consists only of crushing the medication and dissolving the powder obtaining it in water. The evaluation of the equivalence point as based on adjusted curves before and after the equivalence point, eliminating the typical ambiguity in the evaluation of the final point of qualifications with a colorful indicator. The validation of developed methods followed the recommendations of various organizations, with adaptations for the volumetry. The titrations occurred in triplicate, for 550 m of losartan potassium the standard deviation was 0.4604 mg and variation coefficient 3.39%. The method was linear in the range of 25 to 150 mg, with detection limit of 2.19 mg, presenting robust for variations of conductivimeter. In the analysis of various samples, was found evidence of significant difference at 95% confidence in comparison with high performance liquid chromatography.

Key words: Conductometric titration, Losartan Potassium, Drug analysis, Validation of volumetry

Lista de abreviatura e Siglas

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARA II	Antagonista do Receptor da Angiotensina II
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ECA	Enzima conversora da angiotensina
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FB	Farmacopeia Brasileira
IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
INCA	<i>Consorzio Interuniversitario Nazionale La Chimica per l'Ambiente</i>
LoD	Limite de detecção
LOS	Losartana
PE	Ponto de equivalência
PF	Ponto final
PGCC	<i>Presidentail Green Chemistry Challenge</i>
UV/VIS	Ultravioleta/Visível

Lista de Figuras

Figura 1– Métodos analíticos, classificações e subclassificações, adaptado (WILLARD, 1988).	16
Figura 2 – Curvas de titulação condutométrica (SOUSA, 2018).	19
Figura 3 – Comportamento de eletrólitos fracos e fortes (OHLWEILER, 1981).	20
Figura 4- Estrutura da losartana potássica (C ₂₂ H ₂₂ ClKN ₆ O), adaptada da USP (2020).	26
Figura 5- Distribuição dos artigos encontrados com termo losartan and determination. 28	
Figura 6- Distribuição dos artigos encontrados com termo losartan and determination nos últimos 5 anos.	29
Figura 7 –Configuração para a titulação condutométrica. A – condutivímetro, B – eletrodo, C – garra de bureta e suporte universal, D – béquer, E – chapa de agitação/aquecimento e F – bureta (desenhado pelos autores utilizando ACD/ChemSketch Freeware).	32
Figura 8 - Curvas de titulação condutométrica, condutividade vs volume de titulante. Massa equivalente a um comprimido de losartana potássica em 100mL de água destilada, titulante HCl 0,0097 mol L ⁻¹ . a) Curva com valor corrigido pela diluição; b) Curva com valor medido.	36
Figura 9 -Curvas de titulação condutométrica com diferentes titulantes. LOS 500mg L ⁻¹ . a) HCl= 0,0100 mol L ⁻¹ ; b) HNO ₃ = 0,0100 mol L ⁻¹ ; c) CH ₃ COOH= 0,0100 mol L ⁻¹	37
Figura 10- Curvas de titulação condutométrica para diferentes concentrações de titulante. LOS 500mg L ⁻¹ . a) HCl= 0,0200 mol L ⁻¹ ; b) HCl= 0,0100 mol L ⁻¹ e c) HCl = 0,0050.....	38
Figura 11 Reta para localizar o PE. LOS 500mg L ⁻¹ com HCl 0,0097 mol L ⁻¹	39
Figura 12 - Curvas de titulação para soluções com diferentes proporções água/etanol. a) água; b) 70/30 água/etanol; c) 50/50 água/etanol.	40
Figura 13– Estudo da Linearidade do método (volume de titulante vs massa da amostra).....	42
Figura 14- Curva de titulação condutométrica com valores de condutância corrigidos em triplicata.	43

Lista de Tabelas

Tabela 1- Parâmetros de validação de métodos das instituições.	22
Tabela 2- Tabela com valores das titulações para verificar linearidade.	41
Tabela 3- Tabela de titulação para a exatidão.	43
Tabela 4- Resultados obtidos para a titulação da losartana potássica em triplicata.	44
Tabela 5- Valores do primeiro dia.	44
Tabela 6- Valores do segundo dia.	44
Tabela 7- Valores estatísticos entre os resultados obtidos em dias diferentes.	45
Tabela 8- Titulação com equipamento alternativo.	45
Tabela 9- Titulação com equipamento corrente.	45
Tabela 10- Dados estatísticos entre os equipamentos.	45
Tabela 11- Titulação com uma bureta diferente.	46
Tabela 12- Titulação com equipamento diferente.	46
Tabela 13- Dados estatísticos entre os métodos.	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. Química Verde	14
2.2. Titrimetria (Clássica e Instrumental)	16
2.3. Condutometria (direta e titulação condutométrica)	18
2.4. Validação de métodos analíticos	21
2.5. Losartana	25
3. OBJETIVOS	31
3.1. Gerais	31
3.2. Específicos	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1. Materiais, reagentes, padrões e equipamentos	32
4.2. Procedimentos	33
4.2.1. Desenvolvimento do método	33
4.2.2. Validação do método	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. Desenvolvimento do método	36
5.1.1. Identificação do ponto de equivalência e avaliação da quantificação	36
5.1.2. Escolha do titulante	37
5.1.3. Escolha da concentração do titulante	38
5.1.4. Cálculos de concentração	39
5.1.5. Avaliação de solvente	40
5.2. Validação do método	41
5.2.1. Linearidade	41
5.2.2. Limite de detecção	42
5.2.3. Exatidão	43
5.2.4. Precisão	43
5.2.5. Robustez	46
5.3. Análise de amostras e comparação com métodos farmacopeicos	46
6. CONCLUSÕES	48
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	49
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFIAS	50

1. INTRODUÇÃO

Um rigoroso controle de qualidade, autenticidade e pureza de insumos farmacêuticos e medicamentos deve ser realizado para garantir a saúde da população ao consumir medicamentos. A hipertensão arterial está entre as doenças que mais afetam a população em geral e a losartana potássica é um insumo farmacêutico muito utilizado em medicamentos referência (possui eficácia e segurança cientificamente comprovada), genéricos (princípio ativo idêntico ao de referência, assegurado por teste da Anvisa) e similares (possui mesmo princípio ativo do de referência, mas com embalagem, rotulagem e tamanho do produto diferentes) para o tratamento desta doença, que uma vez diagnosticada usualmente leva ao consumo de medicamentos de controle pelo resto da vida, por este motivo um controle de qualidade adequado é imprescindível.

Os métodos de análise são imprescindíveis, para conseguir atestar produtos eficazes e adequados ao consumo humano, sendo que a base de sustentação de todo o processo analítico são métodos oficiais encontrados nas farmacopeias de cada nação.

Procurando por métodos oficiais para determinação da losartana potássica em medicamentos, as opções encontradas nas Farmacopeias resultam muito preocupantes por usar solventes tóxicos, é o caso da titulação clássica com indicador, mas em meio não aquoso que está presente na Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2019), a titulação potenciométrica em meio não aquoso utilizada na Farmacopeia Europeia (COUNCIL OF EUROPE, 2019) e em ambas farmacopeias e adicionalmente na Farmacopéia Americana (USP, 2020), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que necessita de um tratamento de amostras cuidadoso, compra e manutenção de equipamentos de alto custo, uso de padrões, reagentes e solventes com alto grau de pureza e elevada toxicidade. Embora diversos métodos podem ser apresentados pela academia, a temática ainda não está sendo desenvolvida com a intensidade que deveria. Considerando a grande quantidade de análises realizadas no controle de qualidade, um elevado volume de resíduos é gerado em todos os casos citados nos métodos oficiais, pelo que existe a necessidade de um gerenciamento de resíduos complexo, o que pode gerar danos ao meio ambiente e à saúde da população, e com a consequência do grande incremento do custo da análise.

A química estuda a matéria, suas transformações e as energias envolvida nestes processos, isoladamente e na interação com outras ciências vem contribuindo para a melhoria da qualidade de vida da humanidade ao longo dos anos, especialmente na área da saúde, especificamente no desenvolvimento e produção de medicamentos, no entanto,

o uso indevido desta ciência pode trazer consequências negativas tanto para o ser humano quanto para o meio ambiente, segundo podemos concluir a química analítica é chamada a contribuir para a minimização da geração de resíduos tóxicos e contaminante, algo que deve ser prioritário.

A química verde surge procurando minimizar os impactos gerados ao planeta e aos seres vivos, preconizando a utilização de substâncias com baixa toxicidade, baixo consumo de energia, diminuição na geração de resíduos tóxicos e/ou tratamento, entre outros princípios, auxiliando na minimização dos danos provocados.

O desenvolvimento de métodos analíticos em concordância com os princípios da química verde (métodos analíticos verdes), embora bastante considerado na academia, ainda não está totalmente consolidado em alguns setores da indústria, especialmente na indústria farmacêutica na qual o controle de qualidade em grande escala gera um grande volume de resíduos e os métodos de análise listados nas farmacopeias gera resíduos muito tóxicos, perigosos e contaminantes.

Este trabalho propõe o desenvolvimento de métodos analíticos simples e eficientes, em concordância à química verde, para determinação da losartana em medicamentos de referência, similares, e genéricos, empregando titulação condutométrica, favorável por apresentar baixo consumo de reagentes, alta sensibilidade, baixo tempo de análise, boa precisão, com instrumentação simples que precisa de pouca manutenção, provocando a diminuição geral do custo, requisito importante para as indústrias farmacêuticas, mas mantendo a qualidade na análise dos medicamentos, oferecendo em geral novas opções de métodos analíticos menos contaminantes e mais concordantes com a química verde.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Química Verde

A química verde (do inglês *Green Chemistry*) pode ter surgido em 1972 na conferência de Estocolmo sobre meio ambiente, na qual o direito ambiental teve o reconhecimento como um ramo judicial (JUNGSTEDT, 2002), no entanto é comumente considerado que o nascimento da química verde está relacionado à agência proteção ambiental norte americana EPA (*Environmental Protection Agency*) que em 1991 iniciou o programa nomeado “Rotas Sintéticas Alternativas para Prevenção de Poluição” no qual ocorreu o financiamento de projetos de pesquisas que priorizasse este objetivo. (LENARDÃO et al., 2003).

Ao longo dos anos diversas iniciativas colocaram em destaque a necessidade de uma nova visão sobre o desenvolvimento sustentável e a química verde. Em 1992, ocorreu a primeira conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento, também conhecida como Eco-92, nesta foi elaborada a agenda 21, os países presentes se comprometeram a acatar o desenvolvimento sustentável, diminuindo a exploração intensa de recursos naturais, assim como as atividades humanas devem ser executadas no sentido do progresso, um meio ambiente seguro e uma boa qualidade de vida faz parte desse progresso. O Brasil é assinante deste documento (DA SILVA, 2005). Em 1993 na Itália criou-se o Consórcio Universitário Química para o Ambiente (INCA) que tem como objetivo reunir grupos acadêmicos relacionados com química e ambiente na prevenção de poluição (DA SILVA, 2005), o INCA realiza a Escola Internacional de Verão em Química Verde todos os anos para 20 países diferentes da União Europeia com participação de jovens químicos(as), acontece na cidade de Veneza – Itália, todos os anos são abordados temas diferentes. Em 1995 o governo dos Estados Unidos deu início ao programa de premiação *The Presidential Green Chemistry Challenge* (PGCC) que galardoia indústrias com inovações tecnológicas que auxiliem na redução da produção de resíduos (DA SILVA, 2005).

Embora diversas definições possam ser encontradas, poderíamos considerar que em geral: “A química verde consiste na utilização de um conjunto de princípios que reduzem ou eliminam o uso ou geração de substâncias perigosas durante o planejamento, a manufatura e aplicação de produtos químicos.” (ANASTAS, 1998). Doze são os princípios a serem seguidos a fim de estabelecer a química verde em todos os projetos científicos e indústrias químicas que tenha como objetivo prevenir e preservar o meio ambiente:

- Prevenção
- Economia de átomos
- Síntese de produtos menos perigosos
- Desenho de produtos seguros
- Solventes e auxiliares mais seguros
- Busca pela eficiência de energia
- Uso de fontes renováveis de matéria-prima
- Evitar a formação de derivados
- Catálise
- Desenhos para degradação
- Análise em tempo real para a prevenção da poluição
- Química intrinsecamente segura para a prevenção de acidentes

Para a química analítica verde, além da redução de produtos químicos e materiais utilizados durante uma análise, a etapa de preparação, pré-tratamento e determinação da análise está voltada para utilização de substâncias não tóxicas e biodegradáveis. Dentro do contexto da química analítica verde foram propostos princípios para que modifique e revise os processos de análise (KAYA, 2022):

- Reduzir ou evitar etapas de pré-tratamento e usar métodos diretos
- Reduzir a quantidade e o número de amostras
- Usar métodos de análise *in situ*
- Combinar processos analíticos
- Aumentar a miniaturização e automação
- Menor consumo de energia
- Reduzir reagentes e resíduos
- Promover a detecção simultânea de múltiplos analitos
- Evitar produtos químicos tóxicos e usar reagentes renováveis
- Aumentar a segurança

Desse modo, é recomendado que a comunidade científica desenvolva conhecimentos voltados para preservação do meio ambiente com estratégias e vias mais sustentáveis, tendo relação com temas previstos na Agenda 21(CPDS, 1992), com o fortalecimento e aumento de conhecimento científico voltado para o desenvolvimento sustentável e a diminuição de resíduos.

Em concordância com a química analítica verde este trabalho visa reduzir o consumo de energia, reagentes, e resíduos, evitar produtos químicos tóxicos, e geração mínima de rejeitos, além de rapidez, simplicidade, confiabilidade, procurando resultados ambientais amigáveis para a análise de medicamentos.

2.2. Titrimetria (Clássica e Instrumental)

Historicamente os métodos analíticos podem ser classificados em clássicos e instrumentais, tendo diversas subclassificações como apresentado na figura 1.

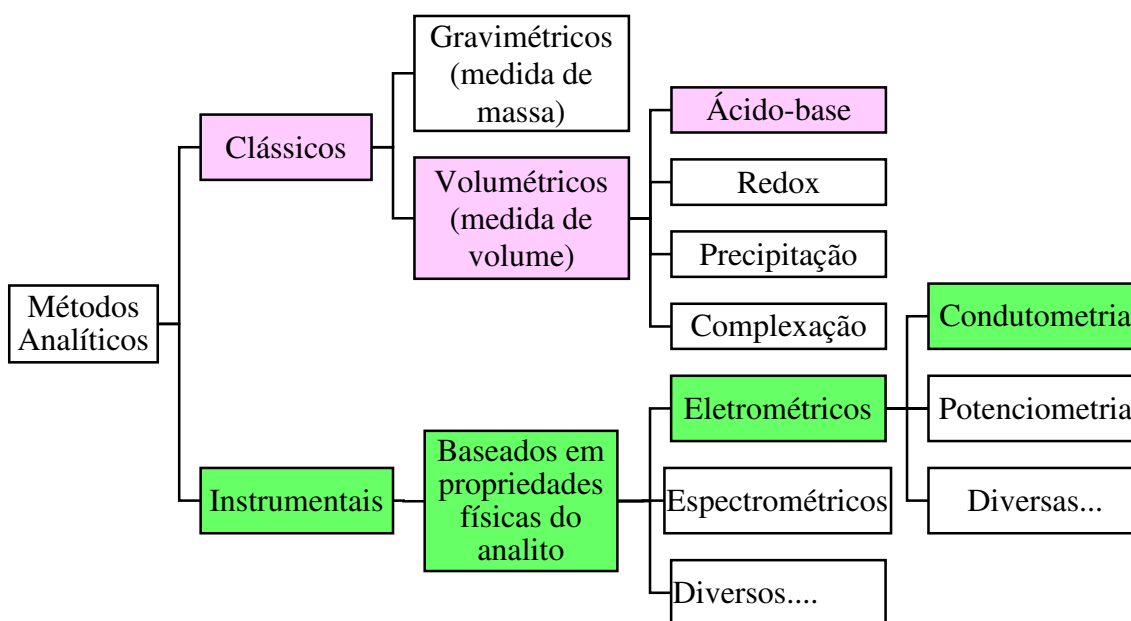


Figura 1– Métodos analíticos, classificações e subclassificações, adaptado (WILLARD, 1988).

Métodos clássicos podem por sua vez ser classificados em gravimétricos, que consistem na determinação da massa do analito ou do composto relacionado a ele, e volumétricos, que consistem na medida do volume de solução de reagente necessária para reagir completamente com analito, usualmente empregam reações ácido-base, redox, precipitação e complexação (HARRIS, 1999). Por outro lado, os métodos instrumentais estão baseados em propriedades físicas do analito, por exemplo, condutividade, absorção e emissão de luz, entre outros (HARRIS, 1999). Na figura 1 em “diversos” estão as técnicas de separação e métodos como espectrometria de massas, análise térmica, técnicas nucleares entre outros, já em “diversas” estão técnicas como voltametria, amperometria, entre outras. Equipamentos convencionais e modernos podem ser utilizados para as medidas, podendo ocorrer reações químicas no processo de análise. Quando comparados com os clássicos, métodos instrumentais são usualmente mais rápidos (HARRIS, 1999).

A análise volumétrica recebe diversos nomes em português, acredita-se que por causa da tradução de diversas línguas, nomes esses como: “titulação e volumetria, ou apenas titulação, ou titrimetria, ou volumetria e titulometria” (TERRA E ROSSI, 2005).

A titulação, a partir do volume ou massa, se baseia na determinação da concentração de uma espécie presente na amostra (analito), por meio de uma reação em solução com um titulante em concentração conhecida (solução padrão), usualmente pequenas adições de solução são feitas para que ocorra a reação com o analito na solução problema até o consumo total (SKOOG et al., 2010).

A volumetria vem sendo utilizada a mais de 200 anos para análise quantitativas, gerando métodos primários de análise, aplicados para autenticação de métodos secundários. Inicialmente proposta por volta do século XVIII, inicialmente não recebeu ampla aceitação no meio científico, porque eram utilizados unicamente indicadores visuais para a detecção do fim da análise, nesta época o princípio da equivalência não era claro, assim a volumetria foi utilizada principalmente na indústria pois havia uma necessidade de análises rápidas (TERRA E ROSSI, 2005). Em 1914 Niels J. Bjerrum publicou um livro no qual estabeleceu a teoria da titulação, apresentando a descrição de como obter curvas de titulação e como calcular o erro de titulação na determinação visual do ponto final, inspirando o trabalho do Izaak Maurits Kolthoff que gerou uma obra monumental sobre a titulação (Beck II, 1994). É considerado que no início do século XX foram utilizados os primeiros instrumentos na análises volumétrica, como por exemplo o acompanhamento da variação da condutividade elétrica de uma solução quando adicionado pequenos volumes de reagente, até o momento em que estabelecem a reação quantitativa com a solução (KÜSTER E GRÜTERS, 1903 apud SZABADVÁRY E CHALMERS, 1983), embora existam controvérsias sobre quem de fato iniciou o uso de titulação condutométrica em química analítica (SZABADVÁRY E CHALMERS, 1983), estes acontecimentos ajudaram a aceitação e aplicação da volumetria como técnica analítica no meio científico (TERRA E ROSSI, 2005)

Os métodos volumétricos podem ser classificados em quatro grupos com base nas reações envolvidas nas análises: titulação ácido-base, quando temos um titulante ácido ou alcalino que reage com um analito alcalino ou ácido respectivamente; de precipitação, quando analito e titulante reagem formando um composto de baixa solubilidade; redox, quando entre o analito e o titulante ocorre uma reação de óxido-redução; e complexométricas, quando na reação entre analito e titulante é formado um composto de coordenação metal-ligante (DE ANDRADE, 2020).

2.3. Condutometria (direta e titulação condutométrica)

A condutometria pode ser classificada dentro das técnicas eletroanalíticas não interfaciais, pois ocorre no seio da solução sem qualquer fenômeno interfacial eletrodo/solução acontecer. A condutividade está relacionada ao deslocamento de cátions e ânions na solução ao aplicar um campo eletrostático de corrente alternada, estratégia utilizada para evitar a eletrólise o que causaria a polarização dos eletrodos. Diversos fatores são capazes de alterar a condutância de uma solução iônica, a quantidade de íons na solução e sua locomobilidade estão ligadas diretamente ao valor de condutância observado (MONTEIRO et al., 2020), igual que suas cargas entre outros fatores (GOIS et al., 2019).

Quando aplicada uma corrente em solução iônica seus íons são acelerados rapidamente na direção do eletrodo de carga oposta, entretanto sua velocidade de migração é limitada pelo solvente (OHLWEILER, 1981). Esta velocidade de migração obedece à lei de Ohm:

$$i = \frac{E}{R} \text{ [Ampere, A]}$$

Onde: i é a corrente; E é a força eletromotriz e R é a resistência do meio.

A resistência do meio de uma solução iônica depende da natureza e dimensões do condutor:

$$R = \rho \left(\frac{l}{A} \right) \text{ [ohm, } \Omega \text{]}$$

Onde: l é o comprimento do condutor; A é a área da seção transversal, e “ ρ ” é a resistência específica.

A resistência específica ρ , também chamada de resistividade é uma constante de proporcionalidade característica do material em estudo e tem unidades de $\Omega \text{ cm}$.

Assim a condutância é definida como o inverso da resistência, e ambas se alteram com a temperatura.

$$L = G = 1/R = (A/l)(1/\rho) = (A/l) k \text{ [Siemens = S = } \Omega^{-1} \text{]}$$

Onde: L ou G são a condutância, l é o comprimento do condutor; A é a área da seção transversal, e “ ρ ” é a resistividade, e “ k ” é a condutância específica

A condutância específica ou condutividade é definida em função da resistividade e pode ser obtida ao calibrar a cela condutométrica:

$$k = 1/\rho \text{ } [\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}]$$

Onde: L ou G são a condutância, l é o comprimento do condutor; A é a área da seção transversal, e “ ρ ” é a resistividade.

A condutância específica de um íon depende de sua concentração em solução, para eletrólitos fortes a condutância específica tem um grande incremento, já para soluções diluídas o incremento acontece de forma quase linear (OHLWEILER, 1981).

A condutometria desde a perspectiva analítica pode ser dividida em duas: a condutometria direta e a titulação condutométrica, na primeira o valor de condutância da solução eletrolítica relaciona a concentração de um eletrólito com a locomoção da corrente elétrica em solução, sendo observada por apenas uma medida, tendo pouca aplicação devido ao seu caráter não seletivo em relação aos íons, uma vez que todos contribuem para o valor da condutividade (SOUSA, 2018). Por outro lado, a titulação condutométrica apresenta vasta aplicação uma vez que é registrada a alteração da condutância em virtude da modificação da concentração dos íons presentes em solução pelo acontecimento de uma reação química, sendo observada por várias medidas conforme ocorre a adição do titulante, a configuração dos eletrodos não deve mudar durante a titulação (GOIS et al., 2019).

Na figura 2 são apresentados três tipos de curvas de titulação condutométrica.

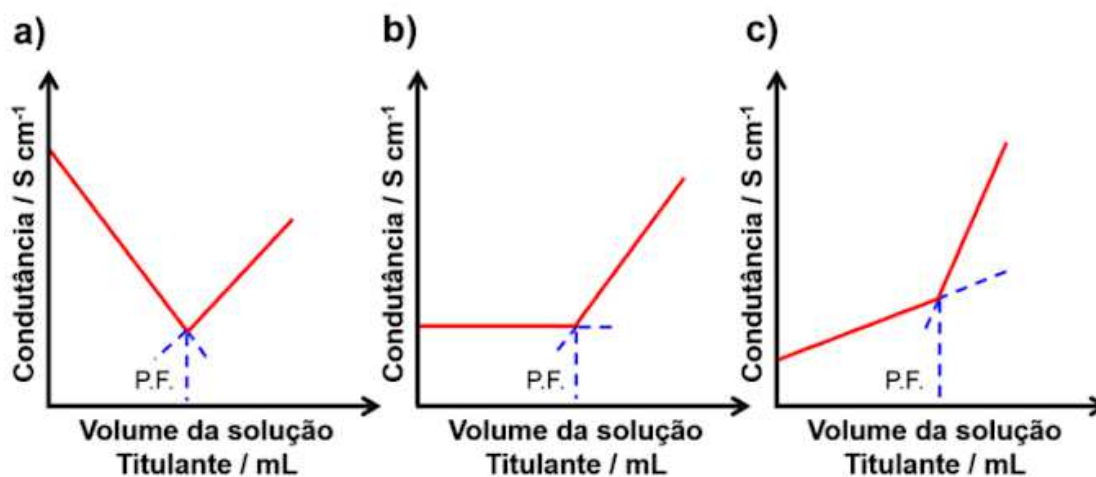


Figura 2 – Curvas de titulação condutométrica (SOUSA, 2018).

Na figura 2 a) a condutância decresce até o ponto final (PF) da titulação pois os íons em solução apresentam maior mobilidade do que os íons do titulante; em b) a condutância permanece constante pois a mobilidade dos íons em solução e do titulante são próximas; em c) a condutância aumenta devido à maior mobilidade dos íons do

titulante em comparação aos da solução (SOUSA, 2018). Os gráficos apresentam um aumento na condutância após o PF, pois contém um excesso de titulante em solução.

Outra variável a considerar na condutometria é a força do eletrólito, uma representação gráfica para dois eletrólitos típicos, ácido acético e cloreto de potássio, é apresentada na figura 3.

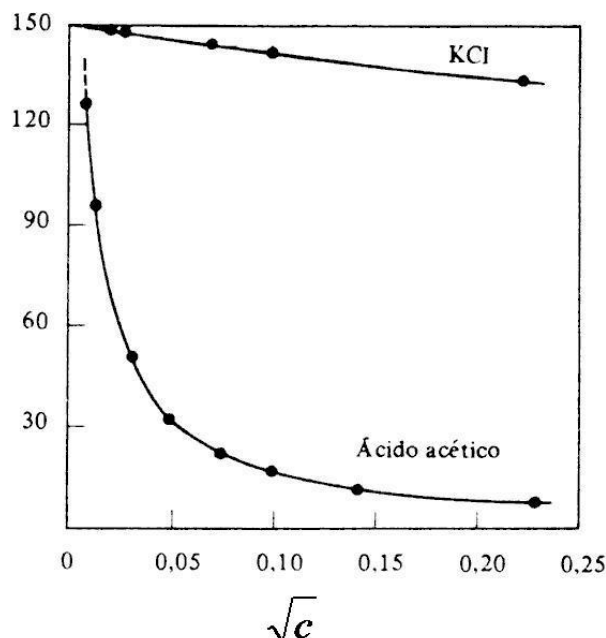


Figura 3 – Comportamento de eletrólitos fracos e fortes (OHLWEILER, 1981).

Quando temos um eletrólito forte, substância que se dissocia completamente em íons quando dissolvida em solução, o gráfico apresenta uma seção de linha reta, por outro lado, quando é um eletrólito fraco, substância que apresenta ionização parcial em solução, o gráfico é curvilíneo (OHLWEILER, 1981).

Nosso trabalho utilizaremos a titulação condutométrica, com reação ácido – base na qual nosso titulante é ácido padronizado e o analito um fármaco alcalino, empregando a condutometria, técnica instrumental eletroanalítica (Figura 1), para o monitoramento dos valores de condutividade ao longo da titulação. Para obtenção do ponto de equivalência aplicamos ajustes matemáticos em pontos antes e após o ponto de equivalência, definindo retas, que na sua interseção permitem encontrar o volume do ponto de equivalência, evitando as ambiguidades típicas do uso de indicadores coloridos.

2.4. Validação de métodos analíticos

Diversas definições de validação podem ser encontradas na literatura dependendo da área de trabalho dos métodos analíticos, como por exemplo:

A validação tem como objetivo certificar que os métodos analíticos são adequados para sua aplicação (EMA, 1995).

Dados analíticos não confiáveis podem gerar danos irreparáveis, por isso, para assegurar a confiabilidade de um novo método analítico utilizamos a validação (RIBANI, 2004).

“A validação completa de um método analítico geralmente é realizada para examinar e compreender as características de desempenho de um método em um estudo de métodos Inter-laboratoriais, também conhecidos com estudos colaborativos ou ensaios colaborativos” (IUPAC, 2002). Para isto, os laboratórios devem ter acreditação para trabalhar em conjunto a fim de comprovar a eficácia ou não do método.

“Comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos.” (INMETRO, 2003), por meio de dados gerados ser possível comprovar que o método é adequado para o que foi proposto.

“Validação de métodos analíticos é o processo que estabelece, por estudos laboratoriais, que as características de desempenho do método atendem aos requisitos para as aplicações analíticas pretendidas.” (USP, 2006). Portanto na validação devem ser gerados dados e realizada uma exaustiva compilação em função de parâmetros estabelecidos.

“A validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos.” (ANVISA, 2017), definição muito similar com aquela da USP.

Os parâmetros utilizados para a validação de métodos analíticos são diversos e variam dependendo das instituições seus protocolos de validação, e finalidade pretendida, como mostrado na tabela 1.

Tabela 1- Parâmetros de validação de métodos das instituições.

ANVISA ^a	IUPAC ^b	USP ^c	INMETRO ^d
Seletividade	Especificidade ou Seletividade	Especificidade Teste de identificação Teste de pureza	Especificidade ou Seletividade
Faixa de trabalho	-	-	Faixa de trabalho e Faixa linear de trabalho
Linearidade	Calibração/Linearidade	Linearidade	Linearidade
Limite de detecção	Limite de detecção	Limite de detecção	Limite de detecção
Limite de quantificação	Limite de quantificação	Limite de quantificação	Limite de quantificação
-	Sensibilidade	-	Sensibilidade
Exatidão Substância de pureza conhecida Método de adição Comparação de métodos		Exatidão Padrão de referência Comparação de métodos	Exatidão Materiais de referência certificados Programas interlaboratoriais Comparação de métodos
Precisão Repetibilidade Reprodutibilidade Precisão intermediária	Precisão Recuperação	Precisão Reprodutividade Repetitividade Precisão intermediária	Precisão Repetitividade Reprodutibilidade Precisão intermediária Comparação da precisão entre métodos Recuperação
Robustez	Robustez	Robustez	Robustez
Efeito de matriz	Varição da matriz	-	-
-	Incerteza de medição	-	Incerteza de medição
-	Gama	Gama	-
-	Veracidade	-	-
-	Variedade	-	-

a: (Anvisa, 2017), b: (IUPAC, 2002), c: (USP, 2022a), d: (INMETRO, 2003).

Dentre os parâmetros apresentados na tabela 1 os selecionados para nosso trabalho são: linearidade, limite de detecção, exatidão, precisão e robustez, que serão discutidos em maior profundidade.

Linearidade

Expressa se um método analítico é capaz de obter resultados proporcionais à concentração do analito, dentro de uma faixa de concentrações (SKOOG, 2010).

Para qualquer técnica instrumental que utilize curva de calibração a linearidade é descrita pela equação da reta apenas se as medidas estiverem relacionadas a massa ou concentração (RIBANI,2004).

$$y = ax + b$$

Onde: y é a variável dependente; a é a inclinação da curva analítica; x é a variável independente; b corresponde à interseção com o eixo y quando x=0.

Uma reta pode ser definida por meio de dois pontos, entretanto para análise de linearidade deve ser definido por no mínimo cinco pontos com exceção do ponto zero na curva, pelos possíveis erros associados. A qualidade da curva obtida, no caso da reta, é indicada pelo coeficiente de correlação no qual verifica se existe uma relação linear entre as variáveis x_i e y_i :

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{\frac{1}{2}}}$$

Quanto mais próximos de 1,0 menor a incerteza e a dispersão do conjunto de dados (RIBANI, 2004). A depender da instituição consultada é recomendado um coeficiente de correlação igual a 0,99 (ANVISA,2017), ou 0,90 (INMETRO, 2003).

Para as titulações, a linearidade pode ser avaliada variando a massa (ABDALGADER, et al.,2016), (RELE, 2018), concentração (m/m%) (EGURROLA, 2021), ou em geral variando o tamanho da amostra (METTLER TOLEDO, 2021), e observando o coeficiente de correlação para a faixa de valores avaliada.

Limite de detecção (LoD)

Pode ser definido como a menor concentração de analito que pode ser detectado pelo método analítico proposto com um nível de confiança pré-estabelecido (SKOOG, 2010), não significando que pode ser quantificado.

O LoD é estimado por meio de análises de soluções conhecidas. Os resultados são analisados de diferentes formas, sendo os métodos mais usuais: visual, relação sinal-ruído e baseados em parâmetros da curva analítica (RIBANI, 2004).

No método visual se adiciona concentrações conhecidas da substância estudada à matriz, até diferenciar ruído e sinal analítico pela visualização da menor concentração.

O método da relação sinal-ruído é utilizado apenas em análises que apresenta ruído da linha base, isto é, que a linha base (ausência de analito) encontre desvios leves, fazendo a comparação dos sinais da amostra em baixas concentrações conhecidas e um branco, encontrando assim a mínima concentração da substância pode ser detectada.

No método baseado em parâmetros da curva analítica é necessário obter a curva analítica utilizando a matriz com o composto de interesse na concentração próxima do limite de detecção, sendo obtido como:

$$LoD = 3,3 \times \frac{s}{S}$$

Onde: s é a estimativa do desvio padrão da resposta e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica.

Em volumetria é possível usar esta definição e a curva construída para avaliar a linearidade para estimar valores do LoD (EGURROLA, 2021). Usualmente isto é feito por meio de titulações quantitativas decrescentes da amostra. Outros meios utilizados são verificar a reprodutibilidade com pequenas quantidades da amostra (METTLER TOLEDO, 2021).

Exatidão

Estima o grau de concordância entre os resultados individuais obtidos em um ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.

Um processo utilizado para determinação da concentração é o ensaio de recuperação (RIBANI, 2004). As amostras com concentrações conhecidas são preparadas por meio das massas predeterminadas. Para o cálculo da recuperação (R), utiliza-se a seguinte equação:

$$R(\%) = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100$$

Onde: m_1 corresponde a massa teórica do analito; m_2 corresponde a massa real do analito na amostra;

Similar estudo é proposto para o caso da titulação, aplicando métodos de recuperação para amostras com diferentes níveis de padrão (ABDALGADER, et al., 2016). Também pode ser observado que a avaliação da exatidão é feita pelas titulações com uma series de padrões ou soluções com concentrações conhecidas, estimando a exatidão pela diferença entre o valor medido e o valor real (METTLER TOLEDO, 2021).

Precisão

Indica quão próximo um resultado está dos demais resultados encontrados nas mesmas condições (SKOOG, 2010).

A precisão é a avaliação da dispersão de resultados entre ensaios repetidos, de amostras iguais ou padrões em concentrações conhecidas (ANVISA, 2017). Estes ensaios

são divididos em três, a repetibilidade – que são realizadas em condições idênticas e um pequeno intervalo de tempo; reprodutibilidade – que são realizadas em colaboração com outro laboratório ou em equipamentos diferentes; e a precisão intermediária – que são realizadas em dias diferentes ou com operadores diferentes (METTLER TOLEDO, 2021).

Nos artigos de titulações podemos encontrar a avaliação da precisão dos resultados encontrados na forma de: reprodutibilidade, precisão intermediária e repetibilidade. A reprodutibilidade pode ser estimada com análises da mesma amostra, mas em laboratórios diferentes. A precisão intermediária pode ser avaliada por dois analistas diferentes em dias diferentes. A repetibilidade pode ser avaliada em diferentes situações, no caso do sistema são utilizadas diferentes concentrações de uma solução padrão, a repetibilidade do método é avaliada de forma similar, mas com amostras (EGURROLA, 2021).

Robustez

Mede a estabilidade do método quando submetido à pequenas variações nos seus parâmetros de operação, para ser considerado robusto as pequenas variações no método não devem interferir no resultado da análise. Quanto maior a robustez de um método maior a confiança desse relacionado a sua precisão (INMETRO, 2003). Para a titulação podemos encontrar a proposta de diversas estratégias para avaliar a robustez como:

Empregar duas buretas diferentes para realizar análise (ABDALGADER, 2016). Variar as condições normais dos testes, mudando os laboratórios de análise, diferentes analistas ou lote de reagente (RELE, 2018).

Modificar a velocidade de agitação, incrementos de titulante e quantidades de solvente para diluição (METTLER TOLEDO, 2021).

Também é possível utilizar o teste de Youden–Steiner quando é necessário avaliar a influência de diferentes variáveis simultaneamente (EGURROLA, 2021).

2.5. Losartana

No Brasil entre 22% e 44% da população sofre de hipertensão arterial sistêmica, e este número chega a ser maior que 50% na população com idades entre 60 e 69 anos e 75% em pessoas com mais de 70 anos (MINISTERIO DA SAÚDE, 2013).

Os anti-hipertensivos são medicamentos capazes de reduzir a pressão arterial ao atuar na resistência periférica, que consiste na dificuldade que o sangue encontra para

circular no sistema vascular, ou no débito cardíaco, que consiste na quantidade de sangue bombeada pelo coração durante um minuto. Os volumes menores que 4 litros de sangue por minuto são considerados um débito diminuído e possível presença de hipertensão (BRUNTON, 2012).

Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) realizam o bloqueio da transformação da angiotensina I em II no sangue e nos tecidos, pois a angiotensina II contribui com o aumento da contratilidade miocárdica, retenção de sódio e água, elevando a pressão arterial (QUEIROZ et al., 2018). A ação dos antagonistas dos canais de cálcio ocorre em diferentes canais do sistema cardiovascular, diminuindo a concentração de cálcio nas células musculares lisas vasculares (V DIRETRIZES, 2006).

A losartana (LOS) (sal de potássio de 2-butil-4-cloro-1[[2'-(2*H*-tetrazol-5-il) [1,1'-bifenil] -4-il] metil] -1*H*-imidazol-5-metanol) (C₂₂H₂₂ClKN₆O), é um anti-hipertensivo moderno que pertence à classe dos antagonistas do receptor da angiotensina II (ARA II) ou seja, tem ação vasodilatadora pelo bloqueio de angiotensina II sendo eficaz em manter a função renal em pacientes com diabetes (ANVISA, 2019).

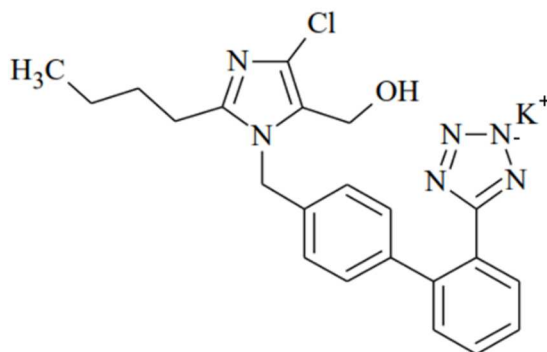


Figura 4- Estrutura da losartana potássica (C₂₂H₂₂ClKN₆O), adaptada da USP (2020).

A molécula de LOS foi descoberta em março de 1986, sendo a primeira droga da classe ARA II, entretanto apenas em abril de 1995 seu uso comercial foi aprovado pela FDA dos Estados Unidos. Em 2005 a losartana estava gerando mais de US\$ 3 bilhões anuais, montante esse associado à sua potência, longa duração e efeitos colaterais leves (BHARDWAJ, 2006). Responsável por muitas ações no organismo humano, como aumento dos níveis da pressão arterial por vasoconstrição, reprodução celular entre outras ações, a classe dos ARA II tem grande sucesso no controle da hipertensão (FILHO, 2007).

Entre os anos 2015 a 2020, a LOS ficou entre os 20 primeiros princípios ativo mais vendidos no Brasil na classe dos genéricos (ANVISA, 2021), sendo a 2^a substância mais vendida com 50 e 250 milhões de apresentações no período 2019/2020, e em

associação (quando presente em um medicamento em combinação com outra substância), mais comercializada nos anos 2019 e 2020 (SIMÕES et al., 2021).

Pela grande demanda comercial e de produção, faz-se necessário um controle de qualidade rigoroso, mas os métodos de análise existentes nas farmacopeias (ANVISA, 2019), (COUNCIL OF EUROPE, 2019), (USP, 2020), usualmente apresentam elevada geração de resíduos, incrementada devido à inúmera quantidade de análises realizadas. Por esse motivo, desenvolver métodos analíticos para determinação e controle de qualidade mais eficientes, econômicos em comparação com métodos existentes, diminuindo ou eliminando os resíduos contaminantes é indispensável.

Na farmacopeia Brasileira são encontrados dois métodos para a determinação de losartana com princípios de operação bem diferentes:

A titulação em meio não aquoso, fundamentada na teoria ácido/base de Brønsted-Lowry, que define ácido como a substância que doa prótons e base a que recebe prótons, considera que sendo fármacos ácidos e bases fracas em meio aquoso, um solvente com maior capacidade de receber ou doar prótons pode mudar a força do analito, quebrando o efeito nivelador imposto pela água, sendo que empregando como solventes ácidos ou bases muito fracas, os fármacos apresentam maior força melhorando o desempenho da titulação. Alguns requisitos são necessários para que um solvente possa ser empregado na titulações: não deve reagir com o titulante nem com o analito, deve permitir a solubilização do analito tolerando preparar uma solução de no mínimo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, deve de preferência solubilizar o produto da reação, deve ser de baixo custo e fácil purificação, e deve facilitar a visão do ponto final, que pode ser encontrado pela viragem de cor do indicador ou por potenciometria, escolha que depende do valor de pKa do analito em água, se o pKa é maior a 4, utiliza-se indicadores, para pKa entre 1 a 4 utiliza-se potenciometria (ANVISA, 2019). Como a LOS é uma substância com $\text{pKa} = 5,5$ (PubChem), sua titulação é com indicador 1-naftolbenzeína, o solvente indicado é ácido acético glacial e o titulante ácido perclórico 0,1M. são utilizados 50mL de ácido acético glacial para dissolver 0,18g do medicamento LOS. É feito ensaio do branco e suas correções (ANVISA, 2019). Embora a toxicidade do solvente indicado neste caso não seja tão alta, pensando na quantidade de análises, o volume de resíduo gerado é muito elevado, a toxicidade no caso do titulante e indicador é bastante elevada.

A cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) é uma técnica de separação baseada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel (líquida), e a fase estacionária (sólida ou fase ligada), diversos mecanismos

permitem alcançar a separação (na maioria das análises farmacêuticas acontece a separação por partição), sendo as características das colunas cromatográficas e condições de operação específicas para cada analito. No caso de LOS utiliza-se cromatógrafo com detector ultravioleta a 254 nm, que permita um fluxo da fase móvel de 1 mL min^{-1} , a temperatura ambiente, coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada C18 de $5\mu\text{m}$ de tamanho de partícula (ANVISA, 2019).

Utilizando a base de dados *Web of Science*[®] (*Clarivate*), foi realizada uma pesquisa bibliográfica simplificada, encontrando-se na literatura 12976 artigos ao procurar pelo termo *losartan*, os resultados gerais são apresentados na figura 5.

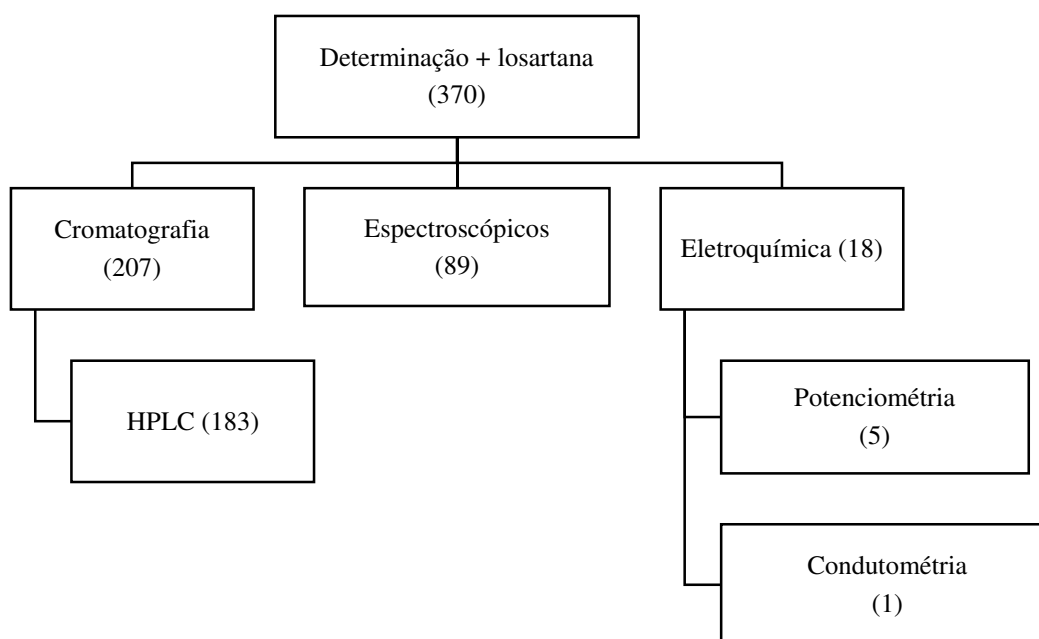


Figura 5- Distribuição dos artigos encontrados com termo losartan and determination.

Os métodos mais empregados para a determinação de losartana potássica em medicamentos estão baseados em cromatografia líquida de alta eficiência com 183 artigos, seguidos por métodos espectroscópicos com 89 artigos e eletroquímica com 18 artigos, sendo cinco deles potenciométricos e um condutométrico.

A pesquisa bibliográfica foi refeita, restringindo para os últimos 5 anos, mesmo considerando que a produção científica diminuiu em função da pandemia do COVID-19, era importante ter um panorama, os dados são apresentados na figura 6.

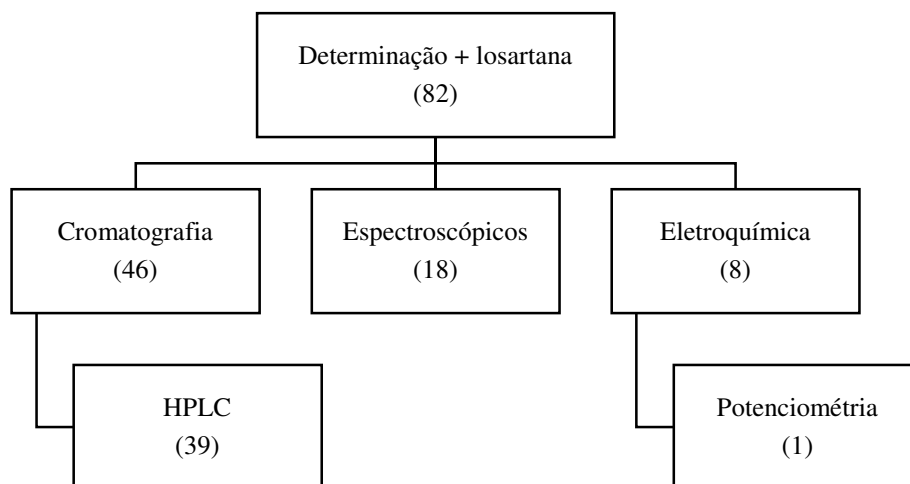


Figura 6- Distribuição dos artigos encontrados com termo losartan and determination nos últimos 5 anos.

A nova pesquisa refinada para os últimos cinco anos retornou um total de 1718 artigos para o termo *losartan*, 82 artigos considerando *losartana* e *determination*. A cromatografia líquida de alta eficiência continua sendo o método mais empregado com 39 artigos, tendo como principais métodos de detecção a UV e UV/Vis, a fluorescência, e a espectrometria de massa.

Em um artigo empregando cromatografia com coluna C18 e detecção UV-Vis, se fez a determinação simultânea LOS e hidroclorotiazida (até na proporção 1:4), com fase móvel, e o método foi validado (MOHAMMED, 2019) sendo eficaz na determinação simultânea.

Para o caso de fluidos biológicos, como o plasma humano, existe um método que utiliza uma coluna Phenyl, eluindo com fase móvel acetonitrila:água, com detecção fluorescente (AGUILAR-CARRASCO, 2021) para a determinação de LOS no organismo humano.

Na aplicação de HPLC-MS/MS tem diversos artigos, um deles emprega a ionização química de pressão atmosférica para determinação dos níveis de nitroaminas e a eliminação do efeito de matriz, permitindo uma máxima sensibilidade do método (KHOROLSKIY, 2021).

Nos métodos espectroscópicos sem separação, encontramos 8 artigos, em um deles utiliza-se a espectrofluorimetria para a determinação de LOS e metolazona, o espectro é obtido para os dois princípios ativos em solução metanólica ácida, registrando nos comprimentos de onda 260 nm para o LOS e 335 nm para a metolazona (FATHY, 2019).

Em outro artigo utiliza-se espectrofotometria UV para quantificar LOS em pH 1,2; 4,5 e 6,8, simulações de condições fisiológicas humanas. O artigo propôs avaliar o método espectrofotométrico UV por meio dos parâmetros de validação (ARAUJO-FERNANDEZ, 2022).

Para a eletroquímica 17 artigos são de modificação de superfície de eletrodo, um deles faz a impressão 3D de uma célula eletroquímica que pode utilizar qualquer eletrodo de trabalho planar para voltametria (FERREIRA, 2021). Para o método potenciométrico é utilizada uma membrana plástica (30,6% de PVC, 61,4% de o-NPOE, 7,5% de par iônico – LOS/1,10 fenantrolina monohidratada, e 0,5% de líquido iônico (ZAREH, 2018).

A titulação condutométrica ácido – base (OLIVEIRA, 2012), utiliza HCl como titulante. No entanto os volumes de trabalho são muito pequenos (não ordem de microlitros), pelo uso de uma microbureta mecanizada, atualmente pouco comum em laboratórios de controle de qualidade e com custo maior que buretas convencionais, disponíveis em praticamente todo laboratório analítico. A validação, amplamente recomendada (INMETRO, 2003), não foi realizada neste artigo, e resultaria importante para que o método provê suas características e seja escolhido para o controle de qualidade no futuro por firmas farmacêuticas e/ou agências reguladoras. Como os medicamentos devem conter no mínimo 98,5% e no máximo 101,0% de losartana potássica em relação à substância anidra (ANVISA, 2019), métodos desenvolvidos devem atender estes valores.

3. OBJETIVOS

3.1. Gerais

Desenvolver e validar um método para a determinação de losartana potássica em medicamentos anti-hipertensivos na forma de IFA, empregando a titulação condutométrica, procurando obter um método com boa exatidão e precisão, de baixo custo, simples, para ser aplicável em laboratórios de controle de qualidade, e em concordância com a química verde.

3.2. Específicos

Realizar um adequado levantamento bibliográfico dos métodos existentes para a análise de medicamentos anti-hipertensivos contendo losartana, procurando principalmente os que empreguem Titrimetria, clássica ou instrumentalizada (preferentemente com detecção por técnicas eletroanalíticas).

Desenvolver métodos de determinação de Losartana Potássica em medicamentos anti-hipertensivos empregando titulação condutométrica.

Validar os métodos desenvolvidos para determinação de Losartana Potássica em medicamentos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais, reagentes, padrões e equipamentos

Para a realização do trabalho foram utilizadas vidrarias típicas de laboratório (béquer, bureta, erlenmeyer, entre outros), agitador magnético, condutivímetro (30107-03-BI, ION). As vidrarias e equipamentos para o sistema geral da titulação condutométrica são apresentados na figura 7.

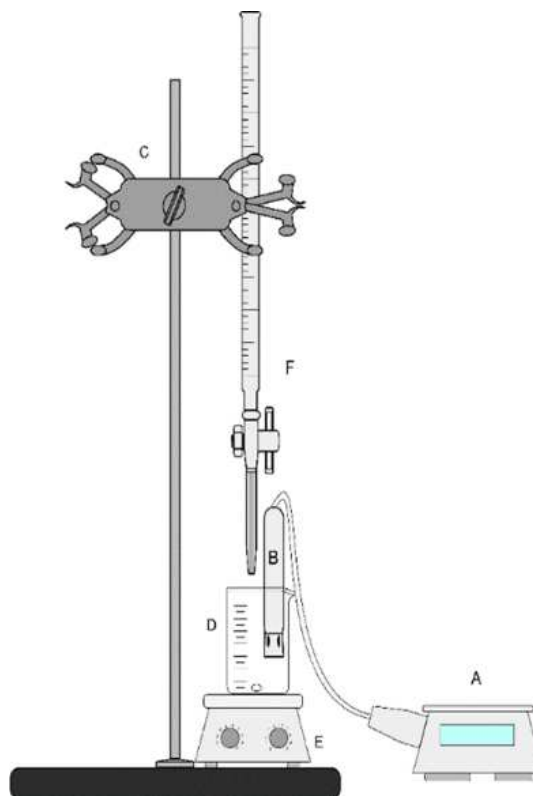


Figura 7 –Configuração para a titulação condutométrica. A – condutivímetro, B – eletrodo, C – garra de bureta e suporte universal, D – béquer, E – chapa de agitação/aquecimento e F – bureta (desenhado pelos autores utilizando ACD/ChemSketch Freeware).

Um cromatógrafo líquido de alta eficiência (prominence, Shimadzu), com injetor automático SIL 20A HT, Detector de arranjo de diodos SPD – M20A, forno para coluna CTO-20A, Bomba LC-20AD, Degasificador DGU-20A5R, Controlador CBM 20 com coluna foi utilizado para as comparações na análise de medicamentos.

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. O titulante ácido clorídrico, foi padronizado antes do uso por titulação condutométrica usando o hidróxido de sódio padronizado anteriormente com biftalato de potássio. Metanol, assim como outros solventes foram utilizados diretamente sem destilação prévia. Padrões dos fármacos selecionados (insumos farmacêuticos) foram adquiridos em empresas autorizadas ou solicitados a laboratórios parceiros. Comprimidos dos medicamentos

contendo losartana foram comprados em farmácias locais, e armazenados de forma correta até seu uso.

4.2. Procedimentos

4.2.1. Desenvolvimento do método

Foram pesados cinco comprimidos de losartana potássica (50mg), utilizando para análise a massa proporcional ou equivalente a um comprimido (obtido da média aritmética dos comprimidos pesados), em seguida foi macerado e dissolvido em 100 mL de água destilada, não foi realizado nenhum tratamento adicional, como filtração ou dissolução em banho de ultrassom, gerando uma solução não homogênea com partículas do fármaco.

Toda a solução (100 mL anteriores), foi utilizada, mergulhando o eletrodo completamente. As titulações condutométricas foram feitas com uma solução de HCl ($0,0100 \text{ mol L}^{-1}$), realizando a adição de volumes do titulante com auxílio da bureta em um intervalo de 0,5 mL para cada adição foi registrado o sinal correspondente de condutância. Os dados brutos referentes a condutividade da solução foram corrigidos pela equação abaixo:

$$C_{\text{Corr}} = \frac{C_{\text{med}}(V_i + V_t)}{V_i}$$

Onde: C_{corr} é a condutância corrigida; C_{med} é a condutância medida; V_i é o volume inicial da solução; V_t é o volume adicionado de titulante.

Os gráficos e cálculos foram desenvolvidos em SciDAVis, ORIGIN®, e Excel, localizando o ponto de equivalência na inflexão da curva, antes e após dele foram definidas retas, ao igualar a equação destas retas encontra-se o volume de ácido no ponto de equivalência uma vez que o gráfico é condutância vs volume de titulante, e por meio deste volume encontramos a concentração da amostra e a massa em cada comprimido. Com este valor são feitos os cálculos de média, desvio padrão, desvio padrão relativo (%) e intervalo de confiança (95%), erro absoluto, erro relativo (%), entre outros.

4.2.2. Validação do método

Considerando o método desenvolvido, foram propostos os procedimentos para a validação selecionando para os testes os parâmetros: Linearidade, limite de detecção, exatidão, precisão e robustez.

Linearidade:

Foram consideradas as recomendações oficiais (INMETRO, 2003), que indicam a análise da regressão linear e correlação entre resposta e concentração, modificando nosso caso para volume de titulante ou concentração no comprimido vs massa de fármaco. Assim foram preparadas oito diferentes soluções contendo de 50 mg L^{-1} até 2 g L^{-1} , de Losartana e realizadas as titulações correspondentes em triplicata (RELE, 2018). A análise de regressão linear for aplicada entre volume de titulante vs massa de fármaco, e concentração no comprimido vs massa de fármaco (METTLER TOLEDO, 2021).

Limite de detecção (LoD):

Foi avaliado seguindo as recomendações oficiais (INMETRO, 2003), através da análise de soluções conhecidas, diminuindo as concentrações do analito até o menor nível de detecção. Foram preparadas cinco soluções diferentes (EGURROLA, 2021), e realizada uma titulação com o método desenvolvido, o procedimento foi repetido até que não foi mais possível observar uma resposta.

Exatidão:

Por meio de ensaios de recuperação, utilizando três massa de LOS 25 mg, 50 mg e 100 mg foi realizando as titulações em triplicata. Foram preparadas nove soluções usando o medicamento (ABDALGADER, 2016).

Precisão:

Foi avaliada seguindo as recomendações oficiais (INMETRO,2003), as amostras tituladas foram aquelas com massa vendidas em fármacos 25 mg, 50 mg e 100 mg. Por meio da repetitividade foram tituladas em triplicatas cada concentração de IFA. Já para a precisão intermediária as titulações foram realizadas em triplicatas nas concentrações dos IFA em dias diferentes. Para ambas, por meio do desvio padrão e desvio padrão relativo, determinou-se a precisão. Para a reprodutibilidade realizou-se em um equipamento diferente (METTLER TOLEDO, 2021).

Robustez:

Foi avaliada seguindo as recomendações oficiais (INMETRO, 2003), a titulação é realizada como descrita no item 4.2.1, entretanto trocamos o equipamento. Outra titulação é realizada, mas a variável diferente é a bureta (ABDALGADER, 2016).

Análise de amostras e comparação com métodos farmacopéicos

Amostras de medicamentos foram analisadas pelo método desenvolvido e pelo descrito na farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019), cromatografia líquida de alta eficiência nas seguintes condições:

Fase móvel: mistura (60:40) de ácido fosfórico a 0,1% (v/v) em água e acetonitrila

Solução amostra: dissolver uma massa de medicamento em álcool metílico de modo a obter solução a 250 µg/mL de losartana.

Solução padrão: Dissolver uma quantidade de losartana potássica SQR (substâncias químicas de referências) em álcool metílico e diluir quantitativamente de modo a obter solução a 250 µg/mL.

Condições cromatográficas, detecção em 254 nm, coluna 150 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica C18, 5 µm tamanho de partícula, temperatura de 35 °C, vazão da Fase móvel de 1 mL min⁻¹.

Injetar replicatas de 20 µL da Solução padrão. A eficiência da coluna é de, no mínimo, 4000 pratos teóricos. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Injeção da amostra: separadamente 10 µL da Solução padrão e da Solução amostra, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de LOS na amostra a partir das respostas obtidas com a Solução padrão e a solução amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Desenvolvimento do método

5.1.1. Identificação do ponto de equivalência e avaliação da quantificação

Para a titulação condutométrica é importante identificar o ponto de equivalência e avaliar a possibilidade da quantificação, foram procuradas curvas com segmentos suficientemente lineares para permitir a determinação adequada do ponto de equivalência da titulação, nas curvas de titulação (condutividade contra volume de titulante), obtidas para a massa equivalente a um comprimido. Adicionalmente é apresentada a curva com a correção da diluição implementada para os dados, segundo pode ser observado na figura 8.

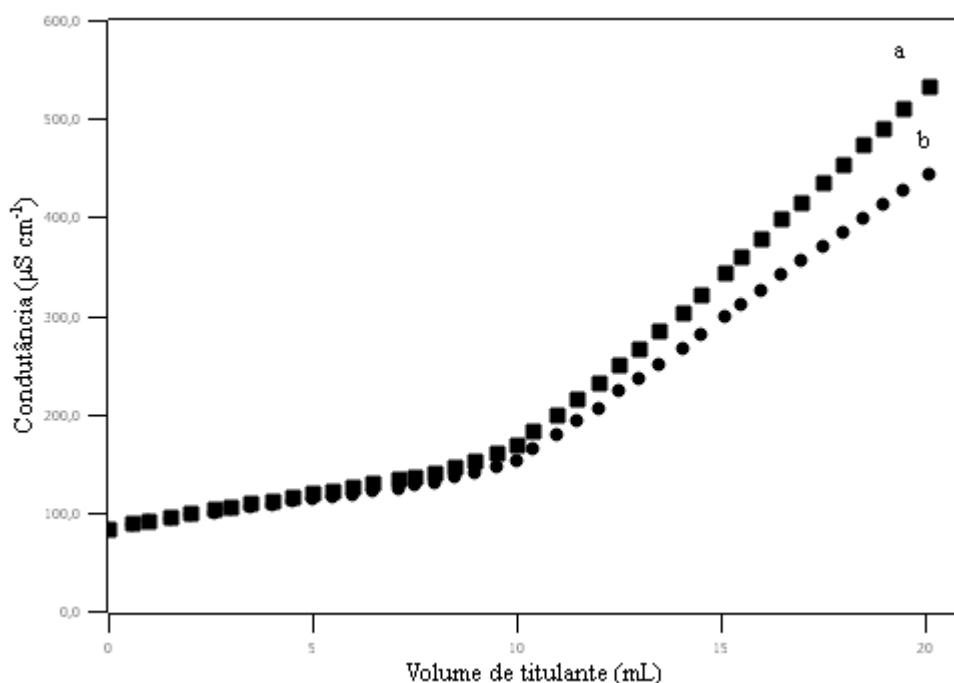


Figura 8 - Curvas de titulação condutométrica, condutividade vs volume de titulante. Massa equivalente a um comprimido de losartana potássica em 100mL de água destilada, titulante HCl 0,0097 mol L⁻¹. a) Curva com valor corrigido pela diluição; b) Curva com valor medido.

A correção da diluição para os valores de condutância foi realizada obtendo uma curva analítica com segmentos lineares mais nítidos após o PE quando comparados à curva sem correção (Figura 8), demonstrando sua eficiência. A correção da diluição será utilizada em todos os seguintes experimentos.

O formato da curva de titulação pode ser explicado porque inicialmente em solução encontram-se os íons potássio e losartana, que geram um valor de condutância. Quando adicionado o ácido clorídrico ocorre a protonação do íon losartana, ingressando na solução íons cloreto, gerando um leve incremento no valor da condutância, tendência que continua até ponto de equivalência uma vez que o íon cloreto em maior condutância

que o íon losartana. O ponto de equivalência é identificado na inflexão da curva, sendo possível sua definição na sua interseção de dois segmentos de reta bastante lineares traçados antes e após a inflexão. Os íons K^+ e Cl^- , são responsáveis pela condutividade no ponto de equivalência, encontrando-se em solução losartana protonada, e em muito pequena proporção íons losartana e íons H^+ . Após o PE o incremento na condutividade está relacionado com o aumento de íons H^+ e Cl^- . Os segmentos lineares antes e após o ponto de equivalência são suficientemente lineares, e a quantificação será avaliada em próximos experimentos.

5.1.2. Escolha do titulante

Para verificar qual o melhor titulante para a LOS de $pK_a = 5,5$ (PubChem) utilizou-se três diferentes ácidos com mesma concentração como apresentado na figura 9.

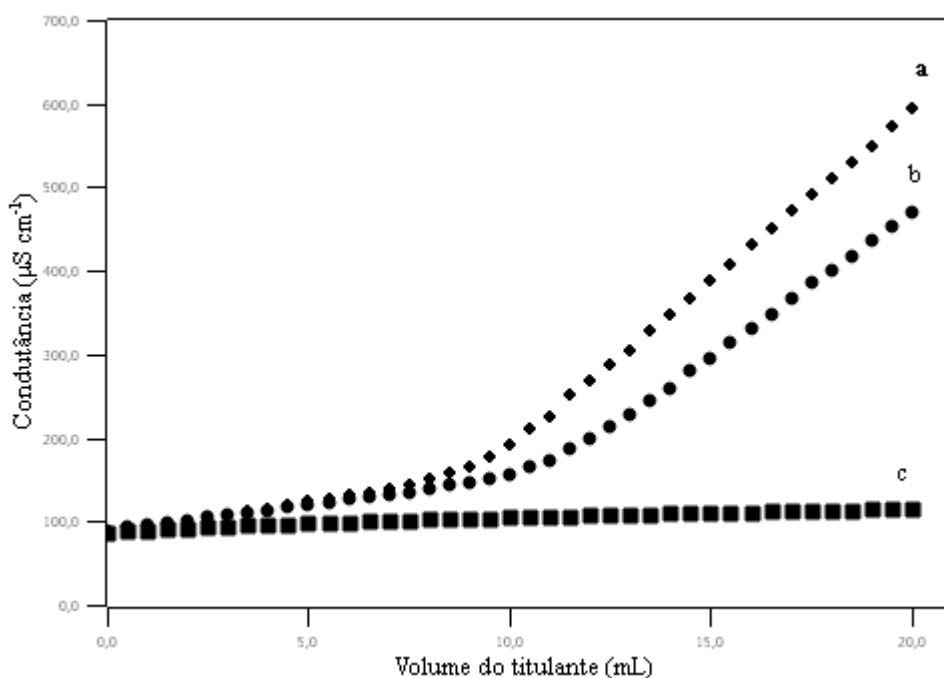


Figura 9 -Curvas de titulação condutométrica com diferentes titulantes. LOS 500mg L^{-1} . a) $HCl = 0,0100\ \text{mol L}^{-1}$; b) $HNO_3 = 0,0100\ \text{mol L}^{-1}$; c) $CH_3COOH = 0,0100\ \text{mol L}^{-1}$.

Os ácidos escolhidos foram: ácido clorídrico com $pK_a = -6,1$ (AVRAM BANIEL and AHARON EYAL, 2010), ácido nítrico com $pK_a = -1,38$ (PubChem) e ácido acético com $pK_a = 4,76$ (SKOOG, 2010). O pK_a nos diz respeito à dissociação de um ácido, quanto menor seu valor maior sua dissociação. Como esperado devido aos valores próximos de pK_a do ácido acético e LOS (Figura 9c) os íons losartana e acetato contém condutância parecidas quando adicionado ácido acético ocorre a protonação do íon losartana permanecendo o íon acetato livre obtendo uma curva com pequenas mudanças de condutividade. Os ácidos nítrico e clorídrico apresentam um incremento importante de

condutividade para a análise do PE (Figura 9a e 9b) entretanto o ácido clorídrico foi escolhido para nossos experimentos, uma vez que após o PE a curva de titulação apresenta um coeficiente angular maior em relação ao ácido nítrico.

5.1.3. Escolha da concentração do titulante

Para verificar qual seria a melhor concentração para análise dos medicamentos foram preparadas três diferentes soluções de titulante HCl e realizadas as titulações com cada uma delas, os resultados são apresentados na figura 10.

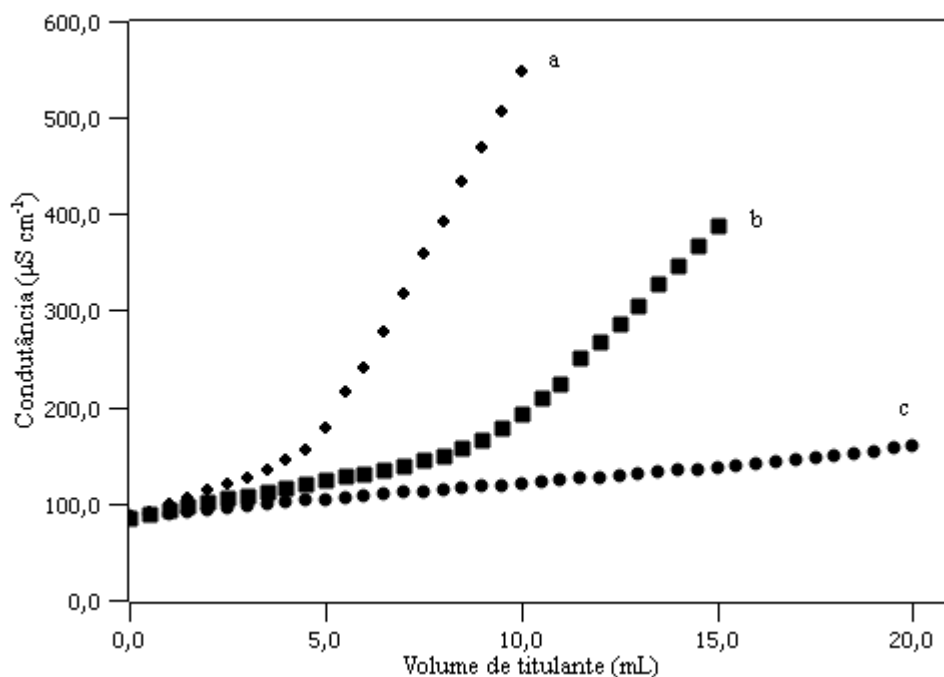


Figura 10- Curvas de titulação condutométrica para diferentes concentrações de titulante. LOS 500mg L⁻¹. a) HCl= 0,0200 mol L⁻¹; b) HCl= 0,0100 mol L⁻¹ e c) HCl = 0,0050.

Entre as curvas de titulação condutométrica procuramos aquela que permita identificar e quantificar melhor o PE. Para a curva de titulação c (Figura 10) após adição de 20 mL de titulante ainda não é nítido o PE, dificultando sua quantificação, isso ocorre devido a diluição da solução, diminuindo a quantidade de íons em solução. Na curva B (Figura 10), foram adicionados 15 mL de titulante para atingir o PE e ter um excesso que nos permita quantificar. Para a curva (Figura 10a) também é possível identificar e quantificar o PE utilizando 10mL de titulante em total, mas entre as curvas a) e b) (Figura 10) foi selecionada a curva b) com concentração de titulante 0,0100 mol L⁻¹, para ter maior quantidade de pontos de condutância medidos antes do PE podendo quantificar soluções com menor concentração que aquela em estudo sem maior erro.

5.1.4. Cálculos de concentração

O volume do ponto de equivalência pode ser calculado através da intersecção das retas ajustadas dos segmentos antes e após o ponto de equivalência como apresentado na figura 11.

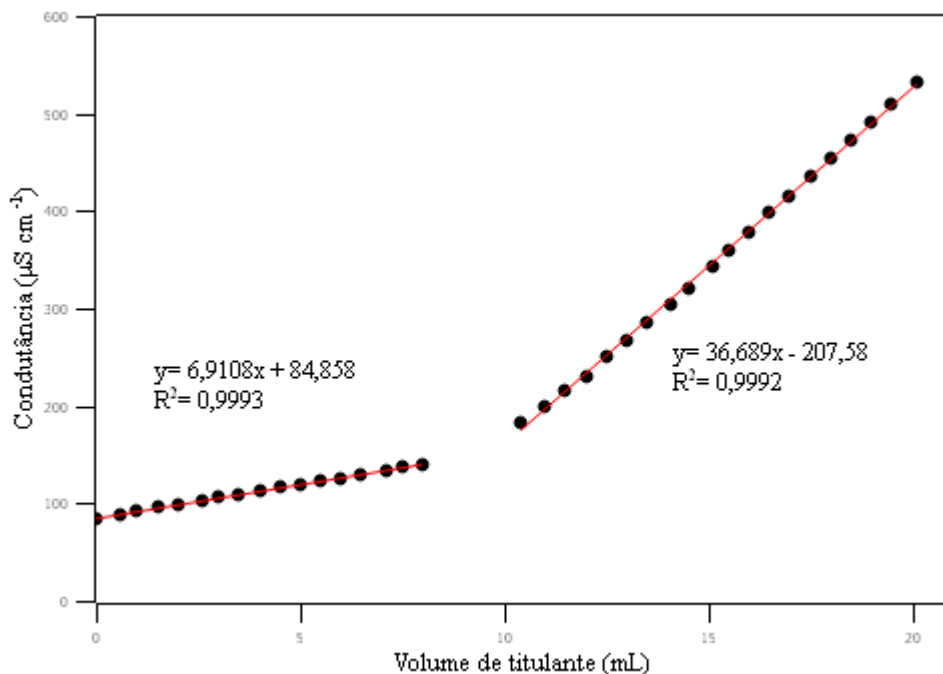


Figura 11 Reta para localizar o PE. LOS 500mg L⁻¹ com HCl 0,0097 mol L⁻¹.

Igualando as equações das retas obtidas encontramos o volume de titulante utilizado até o PE: $6,9108x + 84,858 = 36,689x - 207,58$

$$x = 9,8205\text{mL}$$

Com esse volume, pode ser calculada a massa do fármaco no comprimido do medicamento, a proporção molar entre titulante e titulado é de 1:1. Uma vez que um mol do íon losartana reage com um mol do íon H⁺ fornecido pelo titulante (HCl), logo encontramos o número de mols: $x = 0,0097\text{mol L}^{-1} \times 9,8205 \times 10^{-3}\text{L}$

$$x = 9,5259 \times 10^{-5}\text{mol}$$

Usando a massa molar da losartana potássica (461 g mol⁻¹) encontramos a massa em gramas de losartana potássica em um comprimido: $x = 461\text{g mol}^{-1} \times 9,5259 \times 10^{-5}\text{mol}$

$$x = 0,043915\text{g} = 43,9\text{ mg}$$

Valor próximo ao esperado no comprimido, 50mg. Entretanto não se encontra na diferença aceita pela anvisa que é no mínimo 98,5% e no máximo 101,0%.

5.1.5. Avaliação de solvente

Com o intuito de verificar se LOS apresentaria maior solubilidade em solvente etanol e isso poderia mudar os resultados das titulações, utilizamos diferentes proporções de solvente água/álcool etílico para confirmar, as curvas obtidas são apresentadas na figura 13.

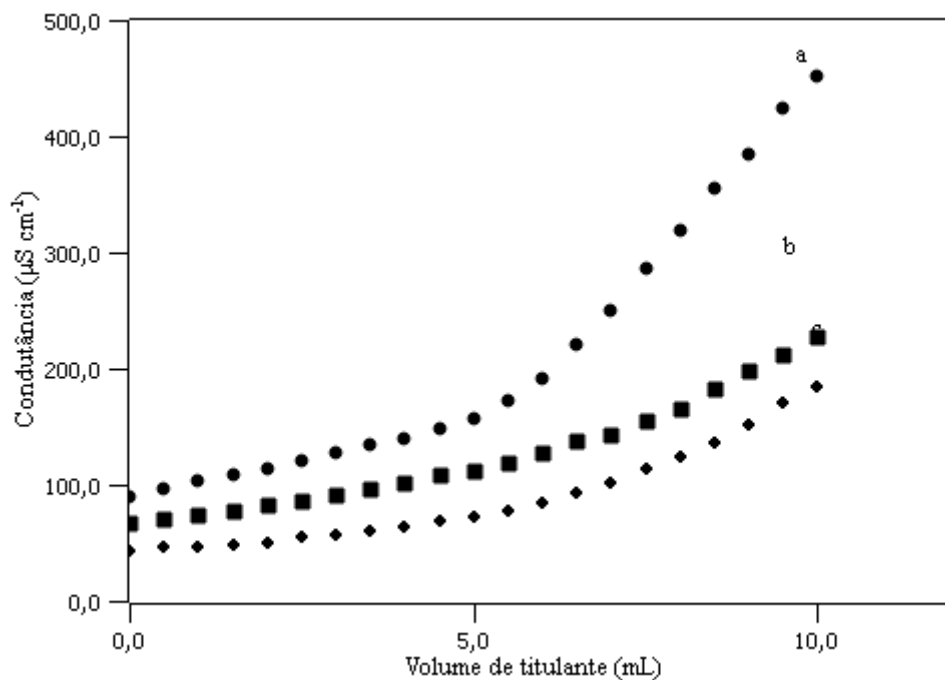


Figura 12 - Curvas de titulação para soluções com diferentes proporções água/etanol. a) água; b) 70/30 água/etanol; c) 50/50 água/etanol.

Os resultados mostram uma diminuição da condutividade nas curvas obtidas adicionando o etanol, adicionalmente gerando uma notória dificuldade para localizar o ponto de equivalência nas soluções água/etanol, por tanto continuaremos utilizando somente a solução aquosa.

5.2. Validação do método

5.2.1. Linearidade

Para verificar a linearidade do método foram realizadas titulações em triplicatas de losartana na faixa de 5 a 200 mg. Os resultados encontram-se na tabela 2.

Tabela 2- Tabela com valores das titulações para verificar linearidade.

Massa (mg)	Volume (mL)	Volume médio (mL)	Desvio padrão (mL)
5	1,4	1,5	0,128
	1,6		
	1,6		
10	2,2	1,9	0,265
	1,6		
	1,8		
25	5,3	5,3	0,048
	5,3		
	5,4		
50	10,6	10,6	0,011
	10,6		
	10,6		
75	15,8	15,8	0,016
	15,8		
	15,8		
100	21,5	21,4	0,161
	21,2		
	21,5		
150	32,1	32	0,120
	31,9		
	32,2		
200	43,8	43,5	0,370
	43,6		
	43,1		

Considerando os valores obtidos e apresentados na tabela 2, foi decidido fazer a figura do volume versus a massa do fármaco procurando obter informações do método em estudo (Figura 13).

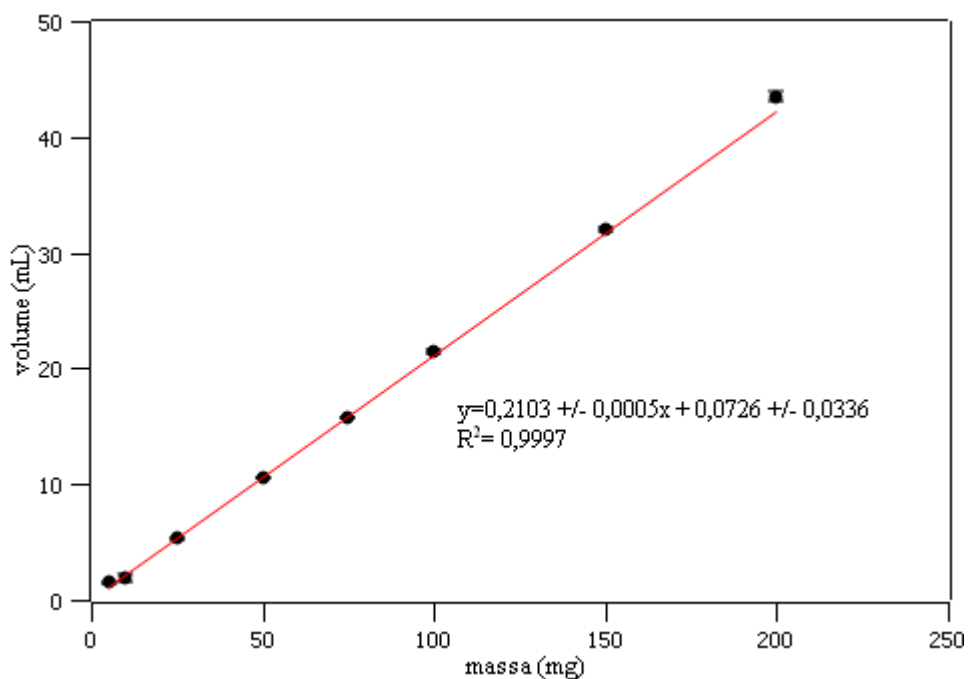


Figura 13– Estudo da Linearidade do método (volume de titulante vs massa da amostra).

Podemos observar na figura 13, que o consumo de titulante aumenta linearmente com o aumento do tamanho da amostra, adicionalmente o coeficiente de correlação obtido foi $R^2 = 0,9997$, pelo que podemos afirmar que o método é linear na faixa de 25mg a 150mg.

5.2.2. Limite de detecção

O limite de detecção foi avaliado com base na curva de linearidade anterior empregando os coeficientes angular e linear da curva:

$$LoD = 3,3 \times \frac{0,1399mL}{0,2103mL \text{ } mg^{-1}} = 2,19mg$$

Este resultado é condizente com o observado na prática, para volume muito pequeno a dificuldade de quantificar aumenta significativamente.

5.2.3. Exatidão

A avaliação da exatidão foi realizada utilizando três dosagens, comercializadas para o medicamento (25, 50 e 100 mg), na tabela 3 estão apresentados os dados.

Tabela 3- Tabela de titulação para a exatidão.

Massa (mg)	Volume (mL)	Massa Achada (mg)	Recuperação (%)	Desvio padrão (mg)
25	5,3	24,4	97,60	
25	5,3	24,6	98,40	0,163
25	5,4	24,8	99,99	
50	10,6	48,7	97,40	
50	10,6	48,8	97,60	0,047
50	10,6	48,8	97,60	
100	21,5	99,2	99,20	
100	21,2	97,9	97,90	0,810
100	21,5	99,2	99,20	

Com o percentual médio de 98,66%, 97,53% e 98,77% recuperado para 25, 50, e 100 mg respectivamente o método apresenta uma boa exatidão.

5.2.4. Precisão

Repetitividade

Foram feitas três replicatas da amostra contendo losartana potássica, as curvas de titulação são apresentadas na figura 14.

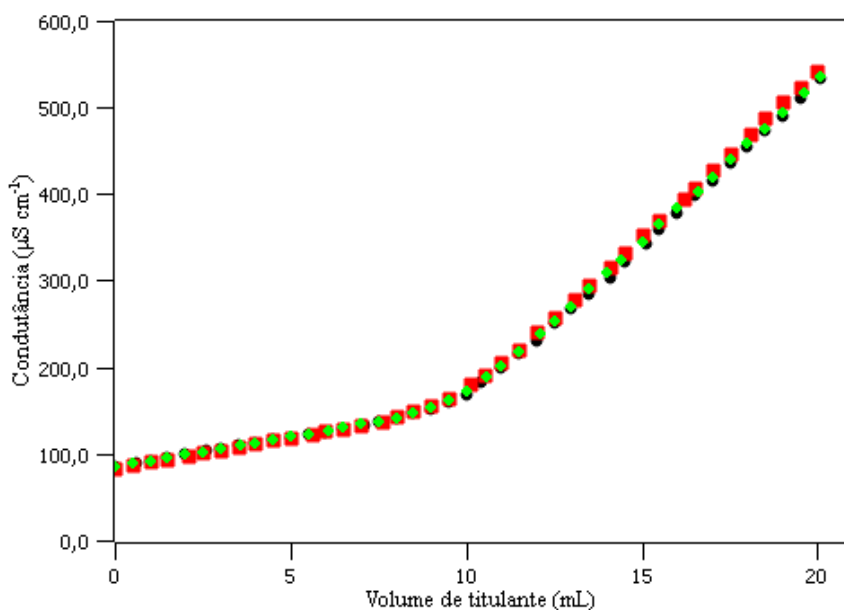


Figura 14- Curva de titulação condutométrica com valores de condutância corrigidos em triplicata.

É possível observar uma muito boa reprodutibilidade entre as curvas, que quase se superpõem.

Com os resultados obtidos para a titulação de losartana potássica em triplicata foi feito o tratamento de dados e os resultados são apresentados na tabela 2.

Tabela 4- Resultados obtidos para a titulação da losartana potássica em triplicata.

Triplicata	Eq. da reta e R ² (Antes P.E.)	Eq. da reta e R ² (Após P.E.)	Massa (mg)
1	y = 6,9108x+84,858; 0,9993	y = 36,689x-207,58; 0,9992	43,91
2	y = 7,2054x+83,216; 0,9991	y = 37,309x-206,27; 0,9991	43,00
3	y = 7,0482x+84,719; 0,9991	y = 36,618x-201,98; 0,9994	43,36
Média	-	-	43,42

Para o experimento realizado, a média das massas encontradas foi de 43,42 mg. O desvio padrão da amostra encontrando 0,4604 mg e o desvio padrão relativo encontrando 1,06% notando uma boa precisão do experimento, pois apresenta uma pequena dispersão nos dados. Também obtivemos 43,42±0,52 para o intervalo de confiança (95%). Entretanto os valores das massas apresentados (Tabela 2), tendo como média 43,42, apresenta uma diferença da massa de losartana descrita no rótulo do medicamento analisado que é de 50mg, isto poderia indicar algum problema no conteúdo real do medicamento.

Precisão intermediária

Foram feitas titulações em diferentes dias sendo preparada a solução nos dias correspondentes à titulação, os dados são apresentados nas tabelas 5 e 6.

Tabela 5- Valores do primeiro dia.

Massa (mg)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mg)
25	23,3	0,619
50	47,6	0,370
100	97,4	0,748

Tabela 6- Valores do segundo dia.

Massa (mg)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mg)
25	24,6	0,163
50	48,7	0,082
100	98,8	0,614

Com os valores obtido foi feita a comparação entre os resultados obtendo os valores apresentados na tabela 7

Tabela 7- Valores estatísticos entre os resultados obtidos em dias diferentes.

Massa (mg)	S combinado (mg)	Teste t
25	0,554	2,801
50	0,321	4,318
100	0,838	1,998

Na análise do resultados da tabela 7 notamos que o valor de teste t calculado para massa de 100 mg é menor que o tabelado $t(95\%) = 2,776$, por tanto não existe uma evidência de diferença significativa aos 95% de confiança. Nos outros níveis de concentração os valores de t foram maiores que o tabelado, existindo assim uma evidência de diferença significativa aos 95% de confiança. Isto poderia indicar que divergências na solução titulante preparada em dias diferentes pode afetar os resultados.

Reprodutividade

Para este ensaio foram utilizados dois equipamentos, um usado correntemente para os experimentos e outro alternativo, com características similares.

Tabela 8- Titulação com equipamento alternativo.

Massa (mg)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mg)
25	23,8	0,592
50	47,6	0,370
100	97,8	0,311

Tabela 9- Titulação com equipamento corrente.

Massa (mg)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mg)
25	23,3	0,619
50	47,6	0,370
100	97,4	0,748

Com os resultados obtidos foi feita a comparação de métodos apresentada na tabela 10.

Tabela 10- Comparação de resultados ao utilizar equipamentos diferentes.

Massa (mg)	S combinado (mg)	Teste t
25	0,740	0,827
50	0,451	0,181
100	0,708	0,634

Os cálculos realizados para a comparação das titulações apresentados na tabela 10, apresentam valores de t calculado menor que o tabelado $t(95\%)= 2,776$, por tanto não existe uma evidência de diferença significativa aos 95% de confiança.

5.2.5. Robustez

Para a robustez foram feitos experimentos adicionais com buretas diferentes e equipamentos diferentes, os resultados são apresentados nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11- Titulação com uma bureta diferente.

Massa (mg)	Volume médio de titulante (mL)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mL)
50	10,57	48,8	0,058

Tabela 12- Titulação com equipamento diferente.

Massa (mg)	Volume médio de titulante (mL)	Massa média (mg)	Desvio padrão (mL)
50	10,32	47,6	0,451

Nos resultados de robustez comparando com o teste t ao utilizar uma bureta diferente (tabela 11 com tabela 9) o valor de t foi 1,414 mg, menor que o tabelado $t(95\%)= 2,776$, por tanto não existe uma evidência de diferença significativa ao 95% de confiança.

Alterando o equipamento e aplicando o teste t para a comparação (tabela 12 com tabela 6), o valor de t foi 0,181 mg, menor que o tabelado, por tanto não existe uma evidência de diferença significativa ao 95% de confiança.

Podemos afirmar que o método é robusto para a mudança de equipamentos e mudança de buretas.

5.3 Análise de amostras e comparação com métodos farmacopeicos

O método da farmacopeia escolhido para a comparação foi a cromatografia líquida de alta eficiência, embora amplamente aceito, é um método que utiliza solventes tóxicos e gera um alto volume de resíduo. Por outro lado, o método desenvolvido por titulação condutométrica é alinhado com a química verde utilizando como solvente água deionizada, e uma solução diluída de ácido clorídrico.

Os resultados obtidos para 5 marcas comerciais de medicamentos, são apresentados na tabela 13.

Tabela 13- Comparação entre os métodos.

Amostra	Titulação condutométrica (mg)	Desvio (mg)	CLAE (mg)	Desvio (mg)	t (experimental)
Legrand	102,56	0,728	107,80	0,401	11,116
Corus	46,13	0,580	52,52	0,186	18,271
Biolab	48,73	2,199	55,98	0,296	5,696
Prati	46,63	1,207	52,26	0,385	7,729
Teuto	49,13	0,536	50,57	0,013	4,717

Como pode ser observado na tabela 13 todos os valores de massa do analito foram maiores que os declarados no rótulo quando determinados com CLAE, e no caso de uma marca, fora da especificação de 5% maior que o rotulado. Os valores de t experimentais, foram maiores que o tabelado $t(95\%) = 2,776$, em todos os casos, por tanto existe uma evidência de diferença significativa ao 95% de confiança, mas estes resultados conflitantes exigem refazer os ensaios, o que não foi possível no âmbito deste trabalho de TCC por conta do prazo.

6. CONCLUSÕES

Foi desenvolvido um método para a determinação de losartana potássica em medicamentos anti-hipertensivos, empregando a titulação condutométrica.

O método desenvolvido passou por uma validação básica, encontrando resultados interessantes para a linearidade, baixo limite de detecção, boa exatidão, boa precisão e boa robustez.

O método desenvolvido é simples, especialmente no preparo de amostra que implica unicamente converter a pó o comprimido do medicamento, adicionar água e titular, empregando materiais comuns de um laboratório de química analítica, e é econômico quando comparado a cromatografia líquida de alta eficiência, e outros apresentados na revisão da literatura.

O método desenvolvido se mostrou muito eficaz para a avaliação da quantificação da Losartana Potássica, sendo interessante candidato para ser utilizado em análises de rotina em laboratórios de controle de qualidade, embora ensaios adicionais são necessários devido a valores conflitantes obtidos quando CLAE foi utilizada para a comparação do método.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

O trabalho desenvolvido apresenta dados interessantes, mas uma complementação de alguns ensaios seria importante como no caso da validação, incrementar a estimativa do limite de quantificação, especificidade, na análise de amostras entre outros.

Embora a comparação de métodos analíticos tenha sido feita, e valores conflitantes exijam a repetição de alguns ensaios, comparar com mais métodos das farmacopeias, especialmente os que usam indicador colorimétrico para determinar o ponto final da titulação é importante para sustentar o uso da condutometria na determinação do ponto de equivalência.

A difusão do trabalho realizado é importante tanto para a academia como para a possível aplicação em laboratórios de controle de qualidade, por tanto escrever um artigo científico e publicá-lo, e apresentar o trabalho em congressos ou reuniões científicas é uma prioridade.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFIAS

- [1] ABDALGADER, R. A; MOHAMED, R. S; MOHAMED, H. A; GAILY, M. M SULIMAN, M. A; IBRAHIM, M. M. **Development & Validation of compleximetric titration method for analysis of atorvastatin calcium in raw material and tablet dosage from.** American Journal of Research Communication, vol. 4, n, 11, 2016.
- [2] AGUILAR-CARRASCO, J. C; FLORES-MURRIETA, F. J; PATIÑO-CAMACHO, S. I; CARRASCO- PORTUGAL, M. D. C. **A simple method for determination of losartan in human plasma by HPLC with fluorescence detection and its application in a pharmacokinetic study.** Latin American Journal of Pharmacy, vol. 40, n. 9, p. 2153-2158. 2021.
- [3] ANASTAS, P. T; WARNER, J. C. **Green chemistry: theory and practice.** Oxford University Press: Now York, 1998.
- [4] ANVISA. **Anuário estatístico do mercado Farmacêutico.** Ed 1º a 5º, 2021.
- [5] ANVISA. **Farmacopeia Brasileira.** 6.ed. Brasília: Brasil, vol.1 e 2, 2019.
- [6] ANVISA, **protocolo de validação**, site: RESOLUÇÃO RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 - Imprensa Nacional (in.gov.br), acesso: 14/04/2022.
- [7] ANVISA. **Resolução da diretoria colegiada – RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017.** DOU nº141, de 25 de julho de 2017.
- [8] ARAUJO-FERNANDEZ, A. S; URIBE-VILARREAL, J.C; PEREZ-CHAUCA, E; ALVA-PLASENCIA, P. M; CABALERO-AQUIÑO, O. E; GANOZA-YUPANQUI, M. L. **Validation of a UV spectrophotometric method to quantify losartan potassium in tablets from the dissolution test at pH 1.2, 4.5 and 6.8.** J Pharm Pharmacogn Res, vol. 10, n. 2, p. 310-317, 2022.
- [9] AVRAM BANIEL and AHARON EYAL. **A process for the production of HCl gas from chloride salts and for the production of carbohydrates.** PCT/IL2009/000843, WO 2010/026572, 2010.
- [10] Beck II, C. M.; Anal. Chem. 1994, 66, 224A.
- [11] BHARDWAJ, G. **How the antihypertensive losartan was discovered.** Expert Opinion on Drug Discovery, Massachusetts: USA, vol. 1, n. 6, p. 609-618, 2006.
- [12] BRUNTON, L. L; CHABNER, B. A; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman.** AMGH Editora Ltda, Porto Alegre: Brasil, 12. ed, 2012.
- [13] COUNCIL OF EUROPE. **European Pharmacopoeia.** 10.ed. Strasbourg: França, vol. 1,2 e3, 2019.
- [14] CPDS; ONU. **Agenda 21. Eco-92.** Rio de Janeiro: Brasil, vol. 1, p. 1-94, 1992.

- [15] DA SILVA, F. M; DE LACERDA, P. S. B; JUNIOR, J. J. **Desenvolvimento sustentável e química verde**. Química Nova, vol. 28, n.1, p. 103-110, 2005.
- [16] DE ANDRADE, J. C. **Química Analítica Básica: Volumétrica de Neutralização – conceitos e curvas de titulação**. Ver. Chemkeys, Campinas: São Paulo, vol.2, 2020.
- [17] EGURROLA, G.E; MAZABEL. A.P; GARCÍA, J. **Development and Validation of a Complexometric and Potentiometric Titration Method for the Quantitative Determination of Zinc Pyrithione in Shampoo**. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2021.
- [18] EMA. **ICH Topic Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**. European Medicines Agency, 1995.
- [19] FATHY, M.E; EL-AWADY, M. I; BELAL, F. **Simultaneous determination of metolazone and losartan in their combined tablets using synchronous fluorescence spectroscopy**. Luminescence, vol. 34, p. 607-614, 2019.
- [20] FERREIRA, P. A; DE OLIVEIRA, F. M; DE MELO, E. I; DE CARVALHO, A. E; LUCCA, B.G; FERREIRA, V. S; DA SILVA R. A. B. **Multi sensor compatible 3D-printed electrochemical cell for voltammetric drug screening**. Analytica chimica acta, vol. 1169, 2021.
- [21] FILHO, H. V. **HAS-antagonista de angiotensina II: droga de 1° ou 2° escolha**. Revista da sociedade de cardiologia do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul: Brasil, Anexo XVI, n. 11, 2007.
- [22] GOIS, L. C; DE BORBA, W. G; SILVA, J. G. **Determinação condutométrica de cloridratos em comprimidos como proposta de atividade experimental**. Revista Virtual de Química, vol. 11, n.3, 2019.
- [23] HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, Rio de Janeiro, 5. ed, 1999.
- [24] INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008, 2003.
- [25] IUPAC. **Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis**. Pure Appl. Chem, vol. 74, n. 5, p. 835 – 855, 2002.
- [26] JUNGSTEDT, L. O. C. **Direito Ambiental – legislação**. Thex Editora Ltda: Rio de Janeiro, 2°. ed, 2002.
- [27] KAYA, S. I; CETINKAYA, A; OZKAN, S. A. **Green analytical chemistry approaches on environmental analysis**. Trends in Environmental Analytical Chemistry, vol. 33, 2022.
- [28] KHOROLSKIY, M; RAMENSKAYA, G; VLASOV, A; PEREDERYAEV, O; MASLENNIKOVA, N. **Development and validation of four Nitrosamine impurities determination method in medicines of valsartan, losartan, and**

- irbesartan with HPLC-MS/MS (APCI).** Iranian journal of pharmaceutical research, vol. 20, ed. 3, p. 541-552, 2021.
- [29] LENARDÃO, E. J; FREITAG, R. A; DABDOUB, M. J; BATISTA, A. C. F; SILVEIRA, C. C. **“Green Chemistry” – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa.** Química Nova, vol. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.
- [30] METTLER TOLEDO **Titration Application Note**, 2021.
- [31] MINISTERIO DA SAÚDE. **Cadernos de atenção básica: estratégia para o cuidado da pessoa com doença crônica Hipertensão arterial sistêmica.**n. 37, Brasília, 2013.
- [32] MOHAMMED, N. M. S; ABDO, H. R; HASSAN, H. M. **Method development and validation of simultaneous determination of hidrochlorothiazide and losartan in tablet dosage form by RP-HPLC.** IJPSR, vol. 10, 2019.
- [33] MONTEIRO, M. D.S; JÚNIOR, J. C. S; SUSSUCHI, E. M. **Eletroquímica: Eletrodos Modificados e suas Potencialidades.** Revista Virtual de Química, vol. 12, n. 5, 2020.
- [34] OHLWEEILER, O. A. **Fundamentos de Análise Instrumental**, Livros Técnicos e Científicos: Rio de Janeiro, cap. 13, p. 327-345, 1981.
- [35] OLIVEIRA ROSSINI, P.; FELIX, F.; & ANGNES, L. **A simple and precise conductometric method for the determination of losartan in pharmaceutical products.** Open Chemistry, vol. 10, n. 6, p.1842-1849, 2012.
- [36] QUEIROZ, T. M; CALZERRA, N. T. M; GOMES, C. F. **Aspectos fisiopatológicos da hipertensão arterial dependente de angiotensina II: revisão integrada da literatura.** Acta Brasiliensis, vol. 2, n. 2, p. 69-73, 2018.
- [37] RELE, R. V. **A non-aqueous potentiometric titration method for validation of drotaverine hydrochloride from pharmaceutical dosages.** International Journal of ChemTech Research, vol. 11, n. 11, p. 26-231, 2018.
- [38] RIBANI, M; BOTTOLI, C. B. G; COLLINS, C. H; JARDIM, I. C. S. F; MELO, L. F. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** Quim. Nova, vol. 27, n. 5, p. 771 – 780, 2004.
- [39] SZABADVÁRY F., CHALMERS R.A., On the invention of conductimetric titration. Talanta, Vol. 30, Issue 12, 1983, Pages 997-999
- [40] SIMÕES, M; SALOMÃO, M; LOPES, R. F; OLIVEIRA, E.P. **ANUÁRIO Estatístico do Mercado Farmacêutico 2019/20.** SCMED, Brasília, 2021.
- [41] SKOOG, A. D; WEST. D. M; HOLLER, F. J; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica.** Cengage Learning, São Paulo: Brasil, 8. ed, p. 321-349, 2010.

- [42] SOUSA, A. G; DAS CHAGAS, F. W. M; GOIS, L. C; DA SILVA, J. G. **Determinação condutométrica e potenciométrica de ácido acetilsalicílico em Aspirina: uma sugestão de prática para a análise instrumental.** Ver. Virtual Quím, vol. 10, n. 3, p. 502-517, 2018.
- [43] TERRA, J; ROSSI, A. V. **Sobre o desenvolvimento da análise volumétrica e algumas aplicações atuais.** Química Nova, vol. 28, n. 1, p. 166-171, 2005.
- [44] USP, **protocolo de validação**, site: Capítulos Gerais: <1225> VALIDAÇÃO DE MÉTODOS COMPENDIAL (pharmacopeia.cn), acesso: 14/04/2022.
- [45] USP 29- NF24. **The United States Pharmacopeial Convention.** Food and Drug Administration, p. 3050, 2006.
- [46] USP 43- NF38. **The United States Pharmacopeial Convention.** Food and Drug Administration, USA, 2020.
- [47] V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. São Paulo, 2006.
- [48] ZAREH, M. M; ELGENDY, K; WASSEL, A. A; FATHY, A; ABD ALKAREM, Y. M. **Plastic sensor for losartan potassium determination based on ferroin and ionic liquid.** International journal of electrochemical Science, vol. 13, ed. 3, p. 1260-1274, 2018.
- [49] WILLARD, H.H., MERRIT, L.L., DEAN, J.A. SETTLE Jr., F.A. **Métodos Instrumentales de Análisis.** Grupo Editorial Iberoamericana, México, 1988.