



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALISSON MORAES E SILVA

**ESTUDO DO CLORIDRATO DE FENILEFRINA EM ASSOCIAÇÃO  
COM OUTROS INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS:  
COMPATIBILIDADES FÍSICO-QUÍMICAS, IDENTIFICAÇÃO E  
QUALIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO**

GOIANIA – GO  
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese     Outro\*: \_\_\_\_\_

\*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

#### 2. Nome completo do autor

Alisson Moraes e Silva

#### 3. Título do trabalho

**ESTUDO DO CLORIDRATO DE FENILEFRINA EM ASSOCIAÇÃO COM OUTROS INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS: COMPATIBILIDADES FÍSICO-QUÍMICAS, IDENTIFICAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO.**

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

**[1]** Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

**a)** consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);

**b)** novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **CECILIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA, Usuário Externo**, em 02/01/2023, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

---



Documento assinado eletronicamente por **Alisson Moraes E Silva, Discente**, em 26/02/2023, às 22:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3433855** e o código CRC **DFDC9E1A**.

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALISSON MORAES E SILVA

**ESTUDO DO CLORIDRATO DE FENILEFRINA EM ASSOCIAÇÃO  
COM OUTROS INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS:  
COMPATIBILIDADES FÍSICO-QUÍMICAS, IDENTIFICAÇÃO E  
QUALIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO**

TESE apresentada ao Instituto de Química da  
Universidade Federal de Goiás como exigência  
parcial, para obtenção do título DOUTOR EM  
QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA.

**Orientadora:** Prof.a Dr.<sup>a</sup> Cecília Maria Alves de  
Oliveira

GOIANIA – GO

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Silva, Alisson Moraes e

Estudo do cloridrato de fenilefrina em associação com outros insumos farmacêuticos ativos: compatibilidades físico-químicas, identificação e qualificação de produtos de degradação [manuscrito] / Alisson Moraes e Silva. - 2022.  
63 f.

Orientador: Prof. Cecília Maria Alves de Oliveira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2022.  
Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Fenilefrina. 2. associação em dose fixa. 3. compatibilidade. 4. produtos de degradação. 5. genotoxicidade. I. Oliveira, Cecília Maria Alves de, orient. II. Título.

CDU 54



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

**ATA DE DEFESA DE TESE**

Ata nº 148 da sessão da Defesa de Doutorado de **Alisson Moraes e Silva**, que confere o título de Doutor em **Química**, na área de concentração em Química.

Aos 2 (dois) dias do mês de setembro de 2022 (dois mil e vinte e dois), a partir das 14h00m, via **videoconferência**, realizou-se a sessão pública da Defesa de Doutorado intitulada "**ESTUDO DO CLORIDRATO DE FENILEFRINA EM ASSOCIAÇÃO COM OUTROS INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS: COMPATIBILIDADES FÍSICO-QUÍMICAS, IDENTIFICAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO**". Os trabalhos foram instalados pela Orientadora, **Profª. Drª. Cecilia Maria Alves de Oliveira (UFG)**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Prof. Dr. Felipe Terra Martins (UFG)**, **Profª. Drª. Maria Ines Gonçalves Leles (UFG)**, **Profª. Drª. Marize Campos Valadares (UFG)** e **Dr. Vinicius Ferraz Guimarães (UFG)**. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Doutorado, tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Profª. Drª. Cecilia Maria Alves de Oliveira, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **2 (dois) dias do mês de setembro de 2022** (dois mil e vinte e dois).

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Terra Martins, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2022, às 17:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Ines Goncalves Leles, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2022, às 17:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **CECILIA MARIA ALVES DE OLIVEIRA, Usuário Externo**, em 02/01/2023, às 09:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Vinicius Ferraz Guimarães, Técnico**, em 16/01/2023, às 14:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Marize Campos Valadares, Professor do Magistério Superior**, em 18/01/2023, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3160777** e o código CRC **EC9D219F**.

---

**Referência:** Processo nº 23070.042150/2022-86

SEI nº 3160777

À minha esposa, Paola, pelo constante incentivo e companheirismo durante minha caminhada acadêmica. Aos meus pais, Zélia e José Carlos, por tudo que sacrificaram em prol da minha educação e bem-estar.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cecília Maria Alves de Oliveira, pela orientação neste projeto, pela amizade e por toda a atenção dispensada em responder às minhas dúvidas, durante esses 5 anos. Serei sempre grato pelo aprendizado ao seu lado.

A todos meus amigos da UFG e da Brainfarma, pelas discussões que me ajudaram, de alguma forma, na conclusão deste trabalho.

Ao meu amigo Thiago pelo companheirismo, incentivo e ajuda constante durante toda essa jornada.

A empresa Brainfarma pelo apoio durante a realização dos experimentos.

A Altox Ltda pela gentil disponibilização do software Genotox-iS<sup>®</sup> para uso neste trabalho.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade concedida em realizar esse trabalho na instituição.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE QUADROS .....	x
ABREVIATURAS .....	xi
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Propriedades do cloridrato de fenilefrina.....	5
2.2 Incompatibilidades fármaco-fármaco.....	9
2.3 Avaliação de Segurança de Impurezas e Produtos de Degradação .....	13
3 OBJETIVO.....	15
3.1 Geral .....	15
3.2 Específico.....	16
4 MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS .....	16
4.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	16
4.2 Termogravimetria (TGA) .....	16
4.3 Sorção dinâmica de vapor (DVS).....	17
4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos .....	17
4.5 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrômetro de massas de alta resolução (CLAE/EMAR) .....	18
4.6 Qualificação dos produtos de degradação elucidados .....	18
5 MÉTODOS EXPERIMENTAIS UTILIZADOS .....	19
5.1 Testes de estresse das misturas binárias em fase sólida .....	19
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	20
6.1 DSC, TGA e DVS .....	20

6.1.1	Avaliação dos fármacos isolados.....	20
6.1.2	Avaliação das misturas binárias fármaco-fármaco .....	22
6.2	Determinação do percentual de degradação da fenilefrina após o estresse por CLAE/UV-VIS/DAD .....	26
6.3	Avaliação e elucidação estrutural dos produtos de degradação formados por CLAE/EMAR .....	31
6.4	Avaliação de medicamentos formulados a base de cloridrato de fenilefrina	39
6.5	Qualificação dos produtos de degradação elucidados .....	40
7	CONCLUSÃO.....	43
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do <i>R</i> -(-) cloridrato de fenilefrina. ....	1
Figura 2 – Rota de Síntese do cloridrato de fenilefrina.....	2
Figura 3 – Perfil metabólico da fenilefrina em humanos.. ....	3
Figura 4 – Distribuição das microespécies da fenilefrina em função do pH, retirada de [32]. ..	6
Figura 5 – Reação de amins com formaldeído. ....	7
Figura 6 - Etapas iniciais da reação de escurecimento de Maillard.....	7
Figura 7 – Mecanismo de desalquilação de amins por via oxidativa e oxidativa radicalar.....	8
Figura 8 – Mecanismo de reação de amins com os ácidos carboxílicos tartárico e maleico....	8
Figura 9 – Desidratação de álcoois catalisada por ácidos, mecanismos E1 e E2.....	9
Figura 10 – Estrutura química do <i>R</i> -(-) cloridrato de fenilefrina com indicação de seus possíveis sítios reativos.....	9
Figura 11 – Sobreposição das curvas de DSC do cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.....	20
Figura 12 – Isotherma de adsorção de água a 25 °C do cloridrato de fenilefrina em função da umidade. ....	20
Figura 13 – Sobreposição das curvas obtidas em TGA para o cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.....	21
Figura 14 – Sobreposição das curvas de DSC do maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.....	21
Figura 15 – Sobreposição das curvas de TGA do maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.....	22
Figura 16 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.....	23
Figura 17 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.....	23
Figura 18 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.....	23
Figura 19 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.....	24
Figura 20 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse. ....	24
Figura 21 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse. ....	25
Figura 22 – Gráfico do diagrama de dispersão.....	27
Figura 23 – Gráfico dos resíduos.....	27
Figura 24 – Cromatogramas das misturas de cloridrato de fenilefrina + maleato de dexclorfeniramina (1:1) sob estresses térmicos seco em a) e úmido em b); cloridrato de fenilefrina + maleato de feniramina (1:1) sob estresses térmicos seco em c) e úmido em d) e da mistura de cloridrato de fenilefrina + AAS (1:1) sob estresse térmico úmido em e).....	30

Figura 25. Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor. Em (a) cromatograma UV-VIS, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com $m/z$ $284,0 \pm 0,5$ indicando o pico do produto de degradação em investigação em 7,6 minutos. ....	32
Figura 26. Avaliação do padrão isotopológico do produto de degradação com tempo de TR de 7,6 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor. ....	32
Figura 27 – Estrutura química do 2-[2-hydroxy-2-(3-hydroxyphenyl)ethyl]methylaminosuccinic acid .....	33
Figura 28. Avaliação do perfil de fragmentação do produto de degradação com tempo de TR de 7,6 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor. ....	33
Figura 29 – Esquema de fragmentação do composto I obtido no modo positivo. ....	34
Figura 30. Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. Em (a) cromatograma UV-VIS, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com filtro de massa em $m/z$ $210,0 \pm 0,5$ indicando os picos dos produtos de degradação sob investigação. ....	34
Figura 31. Avaliação do padrão isotopológico do composto II com tempo de TR de 13,88 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	35
Figura 32. Avaliação do padrão isotopológico do composto III com tempo de TR de 15,22 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	35
Figura 33. Avaliação do padrão isotopológico do composto IV com tempo de TR de 15,68 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	36
Figura 34 – Estruturas químicas propostas para o composto II (CAS: 2165916-61-8), composto III (CAS: 2724465-62-5) e composto IV (CAS: 58952-80-0). ....	36
Figura 35. Avaliação do perfil de fragmentação do composto II na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	37
Figura 36. Avaliação do perfil de fragmentação do composto III na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	37
Figura 37. Avaliação do perfil de fragmentação do composto IV na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. ....	38
Figura 38 – Esquema de fragmentação dos compostos II, III e IV no modo positivo. ....	38
Figura 39 – Destaque dos fragmentos dissimilares, alcano, éster e amida, nos compostos I, II e IV, em relação aos seus precursores, fenilefrina, ácido maleico e ácido acético. ....	42
Figura 40 – Presença dos fragmentos dissimilares em outros insumos farmacêuticos ativos. ....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de associações em dose fixa contendo cloridrato de fenilefrina com registros válidos no Brasil e no mundo. ....	3
Tabela 2 – Lista de incompatibilidades comuns do estado sólido.....	10
Tabela 3 – Classificação dos eventos térmicos exibidos em curvas DSC.....	12
Tabela 4 – Incompatibilidades fármaco-fármaco relatados na literatura. ....	13
Tabela 5 – Matriz de compatibilidade fármaco-fármaco das misturas binárias testadas. ....	25
Tabela 6 – Resultados de análise estatística da regressão linear. ....	26
Tabela 7 – Repetibilidade e precisão intermediária.....	27
Tabela 8 – Recuperação para a exatidão. ....	28
Tabela 9 – Robustez padrão e amostra. ....	28
Tabela 10 – Teor de cloridrato de fenilefrina, percentual de PD e cálculo do BM nas misturas binárias testadas. ....	29
Tabela 11 – Composições dos medicamentos formulados a base de cloridrato de fenilefrina testados. ....	39
Tabela 12 – Percentual do Composto I nos medicamentos testados. ....	40
Tabela 13. Resumo das predições de mutagenicidade com o Genotox-iS 3.0 e avaliação do potencial mutagênico. ....	41

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Sistema de classificação de impurezas em relação ao potencial mutagênico / carcinogênico e ações de controle. ....	15
Quadro 2 – Matriz representativa das misturas binárias analisadas. ....	19

## ABREVIATURAS

UFG – Universidade Federal de Goiás

AAS – Ácido acetilsalicílico

IFA – Insumo farmacêutico ativo

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

CAS – *Chemical Abstracts Service*

CCDC – *Cambridge Crystallographic Data Centre*

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

EMAR – Espectrometria de Massas de Alta Resolução

TGA – Termogravimetria

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

DVS – Sorção Dinâmica de Vapor

UV-VIS – Ultravioleta-Visível

DAD – Arranjo de Diodos

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ICH – *International Conference of Harmonization*

QSAR – *Quantitative Structure-Activity Relationship*

OECD – *Organization for Economic Co-operation and Development*

ISS – *Istituto Superiore di Sanita*

TR – Tempo de Retenção

PA – *Purity Angle*

TH – *Purity Threshold*

TIC – *Total Ion Chromatogram*

XIC – *Extracted Ion Chromatogram*

RDBE – Ring and Double-Bonds Equivalents

FDA – *Food and Drug Administration*

EMA – *European Medicine Agency*

TTC – *Threshold of Toxicological Concern*

OOD – *Out of Domain*

PD – Produto de degradação

BM – Balanço de Massas

T.A. – Temperatura Ambiente

## RESUMO

O cloridrato de fenilefrina é um fármaco amplamente utilizado na medicina para aumentar a pressão arterial durante procedimentos cirúrgicos e na promoção de melhorias objetivas e subjetivas da congestão nasal em pacientes com resfriado comum, por esta razão é largamente empregado em medicamentos em associação em doses fixas, associado a insumos farmacêuticos ativos (IFAs) como paracetamol, cafeína, maleato de dexclorfeniramina, maleato de feniramina e ácido acetilsalicílico (AAS). Tendo em vista a conhecida instabilidade química do cloridrato de fenilefrina e visando ampliar o conhecimento acerca das interações deste insumo com demais fármacos, neste trabalho foram avaliados e discutidos os resultados das curvas obtidas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TGA) dos IFAs isolados: cloridrato de fenilefrina, paracetamol, cafeína, AAS, maleatos de dexclorfeniramina e de feniramina, e dos estudos de compatibilidade fármaco-fármaco sob condições de estresse, em fase sólida, para misturas binárias contendo cloridrato de fenilefrina em associação com demais IFAs. Além disso, objetivando obter dados dos produtos de degradação formados a partir das interações das associações testadas, empregou-se o uso de técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detectores de ultravioleta-visível (CLAE/UV-VIS) e à espectrômetro de massas de alta resolução (CLAE/EMAR) para quantificar e elucidar as estruturas das impurezas formadas nas associações testadas e em produtos disponíveis no comércio local, além de ter sido avaliado o potencial genotóxico destes compostos *in silico*, empregando o software de predição toxicológica Genotox-iS<sup>®</sup> 3.0. Os dados obtidos atestaram que o cloridrato de fenilefrina é um fármaco higroscópico, fisicamente incompatível com AAS e com fármacos que possuam o maleato como contraíon. A investigação das amostras degradadas permitiu elucidar as estruturas dos produtos de degradação formados, dos quais apenas os compostos designados neste trabalho como I e IV são relatados na literatura, no entanto, sem menção para a toxicidade dos mesmos. Os produtos de degradação detectados foram qualificados *in silico* de acordo com as prerrogativas do guia do Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos de Uso Humano (ICH) M7, e categorizados como classe 5 (não mutagênicos): compostos I, II e III e classe 3 (alerta estrutural, não relacionada à estrutura da substância medicamentosa; sem dados de mutagenicidade): composto IV. Três dos medicamentos comercialmente disponíveis testados exibiram a presença de altas concentrações do Composto I.

**Palavras-chaves:** Fenilefrina, associação em dose fixa, compatibilidade, produtos de degradação e genotoxicidade.

## ABSTRACT

Phenylephrine hydrochloride is a medication widely used in medicine to increase blood pressure during surgical procedures and to promote objective and subjective relief of nasal congestion in patients with the common cold. For this reason, it is largely used in fixed-dose combination medicines, associated with active pharmaceutical ingredients (APIs) such as acetaminophen, caffeine, dexchlorpheniramine maleate, pheniramine maleate, and acetylsalicylic acid. Given the well-known chemical instability of phenylephrine hydrochloride and in order to increase the knowledge about the interactions of this API with other medications, in this thesis the results of Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetry (TGA) curves of isolated APIs: phenylephrine hydrochloride, paracetamol, caffeine, acetylsalicylic acid, dexchlorpheniramine and pheniramine maleates and the drug-drug compatibility studies under stress conditions, in solid phase, for binary mixtures containing phenylephrine hydrochloride in association with other APIs were evaluated and discussed. Furthermore, in order to obtain data on the degradation products formed from the interactions of the associations tested, the use of techniques such as high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet-visible detector (HPLC/UV-VIS) and with high resolution mass spectrometer (HPLC/HRMS) were employed to quantify and elucidate the structures of impurities formed in the associations tested and in products available in the local market. The genotoxic potential of these compounds was also evaluated *in silico* using the Genotox-iS® 3.0 toxicological prediction software. The data obtained attested that phenylephrine hydrochloride is a hygroscopic API, physically incompatible with acetylsalicylic acid and with APIs that have maleate as a counterion. The investigation of the degraded samples allowed elucidating the structures of the degradation products formed of which only compounds named in this work as I and IV are reported in the literature, however, without mention for their toxicity. The detected degradation products were qualified *in silico* according to the prerogatives of the The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) M7 guide, and categorized as class 5 (non-mutagenic): compounds I, II and III and class 3 (structural alert, not related to the structure of the drug substance; no mutagenicity data): compound IV. Three of the commercially available medicines tested exhibited the presence of high concentrations of Compound I.

**Keywords:** Phenylephrine, fixed-dose combination, compatibility, degradation products, genotoxicity.

# 1 INTRODUÇÃO

O cloridrato de fenilefrina (Figura 1) é um agente simpaticomimético sintético, semelhante à epinefrina e à efedrina [1]. Suas potentes propriedades agonistas  $\alpha$ -1-adrenérgicas causam vasoconstrição e aumento da pressão de perfusão e, por esse motivo, a fenilefrina é comumente utilizada na medicina para aumentar a pressão arterial durante procedimentos cirúrgicos e na promoção de melhorias objetivas e subjetivas da congestão nasal em pacientes com resfriado comum [2-7]. Além de manter níveis adequados de pressão arterial, o cloridrato de fenilefrina também é usado para tratar insuficiência vascular em estado de choque, choque e hipotensão induzida por drogas, ou hipersensibilidades. Além disso, é usado para superar a taquicardia supraventricular paroxística, prolongar a duração da raquianestesia, como vasoconstritor na analgesia regional e como agente midriático na oftalmologia [8-9].

A fenilefrina apresenta atividade principalmente alfa-adrenérgica e não apresenta efeitos estimulantes significativos no sistema nervoso central em doses usuais. Sua atividade pressora é mais fraca do que a da noradrenalina, mas de maior duração [9]. Por possuir um centro quiral, a fenilefrina pode existir como enantiômeros *R*-(-) ou *S*-(+), sendo o enantiômero *R*-(-) comercialmente empregado em produtos formulados à base deste ativo.

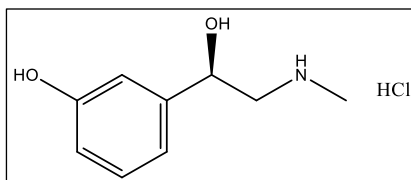


Figura 1 – Estrutura química do *R*-(-) cloridrato de fenilefrina. Fonte: próprio autor.

Uma das principais vias comerciais de produção do cloridrato de fenilefrina é através da hidrogenação por  $H_2$ , do *N*-benzil-*N*-metil-2-amino-*m*-hidroxiacetofenona, catalisada por paládio sobre carvão (Pd/C), obtendo-se o racemato de fenilefrina base. Posteriormente o racemato é resolvido com um sal de ácido carboxílico quiral (por exemplo ácido tartárico), levando a obtenção dos sais diastereoisômeros *R*-(-) e *S*-(+) bitartarato de fenilefrina que, após a separação destes, prossegue-se com a reação do diastereoisômero *S*-(+) com amônia aquosa seguida de tratamento com anidrido acético e  $H_2SO_4$ , para obter a *R*-(-) fenilefrina base. Reagindo-se o diastereoisômero *R*-(-) bitartarato de fenilefrina com amônia aquosa também é obtida a *R*-(-) fenilefrina base que, por sua vez, é tratada com HCl para a obtenção do *R*-(-) cloridrato de fenilefrina [10], Figura 2.

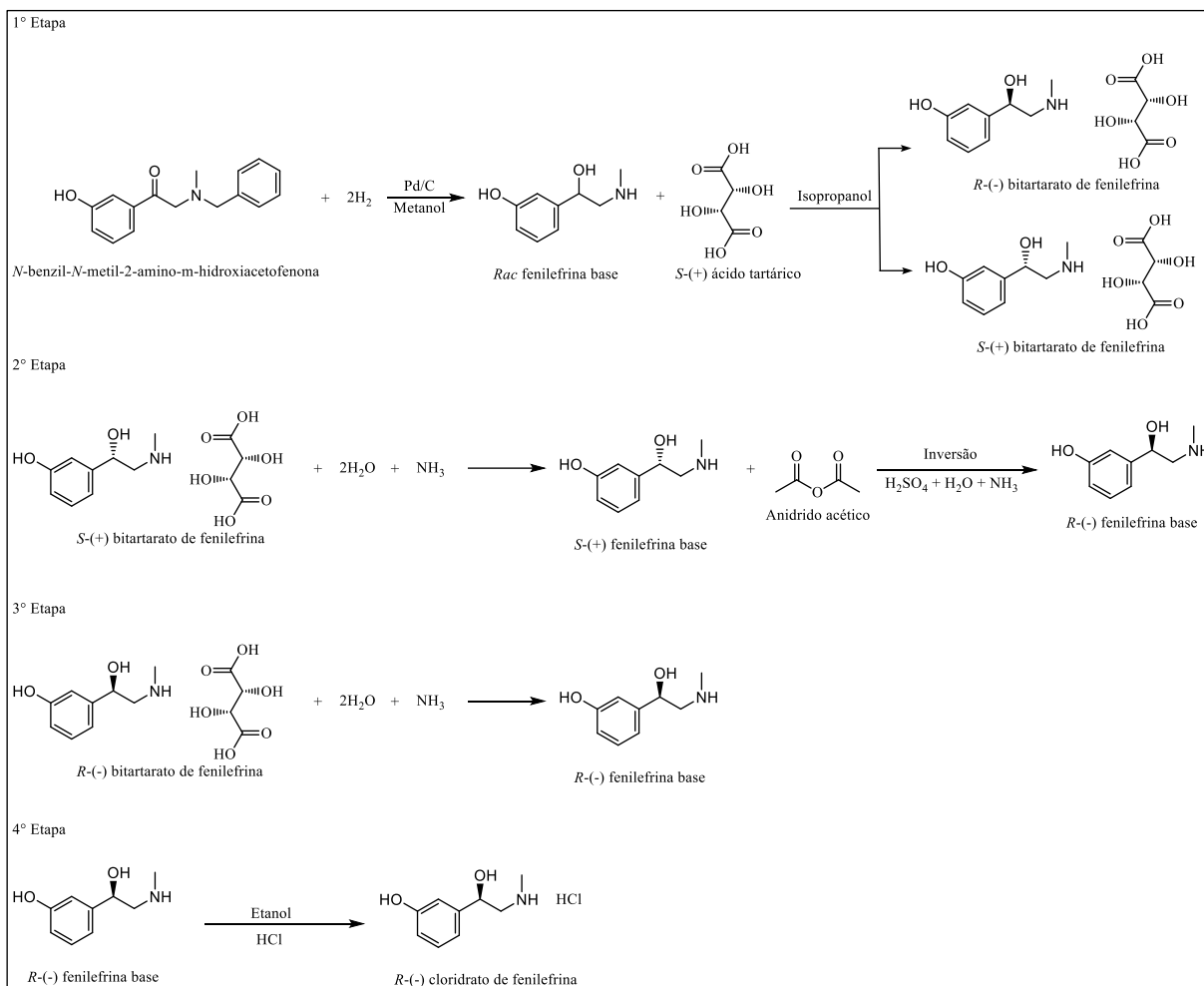


Figura 2 – Rota de Síntese do cloridrato de fenilefrina. Fonte: [10], adaptado.

Em nenhum dos processos mapeados para obtenção da fenilefrina são utilizados agentes nitrosantes ou azidas, o que negligencia o risco da formação de nitrosaminas durante a síntese desse IFA.

Em humanos, após administração intravenosa, a fenilefrina é extensamente metabolizada pelo fígado, com apenas 12% da dose excretada inalterada na urina. A desaminação pela monoamino oxidase é a via metabólica primária, resultando na formação do principal metabólito (ácido *m*-hidroximandélico), que corresponde a 57% da dose administrada. Existem outros metabólitos que são produtos conjugados, tais como os derivados sulfato e o glicuronídeo, formados pela ação de enzimas biliares sulfotransferases e glucuronosiltransferases, respectivamente [11], conforme mostrado na Figura 3. Após administração, a fenilefrina e seus metabólitos são eliminados principalmente na urina. Oitenta e seis por cento da dose é recuperada na urina em 48 horas, sendo a maioria (aproximadamente 80%) eliminada nas primeiras 12 horas. Quando avaliados quanto à atividade, os metabólitos foram considerados inativos para os receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  [12]. Em outro estudo foi demonstrado que após administração oral, em humanos, do cloridrato de fenilefrina, 46,6% da dose administrada foi excretada como fenilefrina sulfato e 25,3% como ácido *m*-

hidroximandélico, no caso da ingestão de 10 mg do IFA, enquanto que ao se administrar 30 mg do fármaco excretou-se 36,2% de fenilefrina sulfato e 30,2% de ácido m-hidroximandélico e, em ambos os casos, o percentual da dose excreta como derivado glicuronídeo foi negligenciável [13].

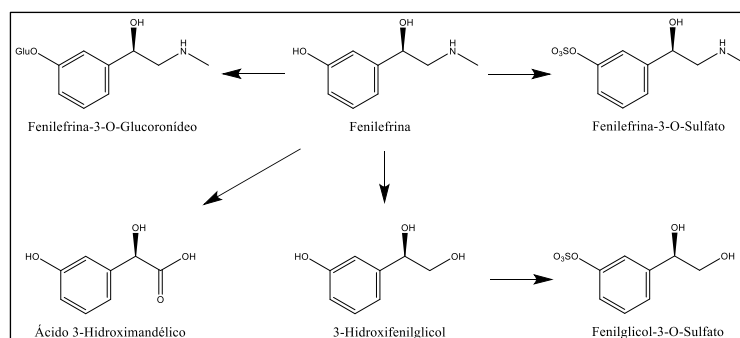


Figura 3 – Perfil metabólico da fenilefrina em humanos. Fonte: [12], adaptado.

Devido a sua propriedade de promover significativa melhora à congestão nasal, a fenilefrina é frequentemente incorporada às preparações farmacêuticas multifármacos indicadas para o alívio de sintomas de resfriado, gripe, congestão nasal e sinusite. É comum encontrar produtos em associação em dose fixa contendo fenilefrina em combinação com paracetamol, ácido acetilsalicílico (AAS), maleato de dexclorfeniramina, cafeína e/ou maleato de feniramina [14-15], Tabela 1. Na literatura há relatos que indicam a incompatibilidade físico-química de associações contendo cloridrato de fenilefrina na presença de AAS e também perante fármacos que possuem maleato como contraíon levando à degradação da fenilefrina [16-19], não há, no entanto, estudos com avaliação toxicológica dos potenciais produtos de degradação formados.

Tabela 1 – Exemplos de associações em dose fixa contendo cloridrato de fenilefrina com registros válidos no Brasil e no mundo\* [14-15].

Associações	Concentrações	Forma farmacêutica
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol	20 mg + 400 mg	Comprimidos
	5 mg + 325 mg	
	5 mg + 500 mg	
Cloridrato de fenilefrina + maleato de carbinoxamina + paracetamol	0,33 mg/mL + 0,13 mg/mL + 13,30 mg/mL	Solução oral
	1mg/mL + 0,4 mg/mL + 40 mg/mL	
Cloridrato de fenilefrina + cloridrato de tetracaína	1 mg/mL + 10 mg/mL	Solução oftálmica
Cloridrato de fenilefrina + maleato de bronfeniramina	2,5 mg/mL + 2,0 mg/mL	Solução oral
Cloridrato de fenilefrina + maleato de clorfeniramina + paracetamol	4 mg + 4 mg + 400 mg	Cápsulas / comprimidos / pó para solução oral
	10 mg + 4 mg + 500 mg	Comprimidos
	0,6 mg/mL + 0,6 mg/mL + 40 mg/mL	Solução oral

	2 mg/mL + 2 mg/mL + 100 mg/mL	
Cloridrato de fenilefrina + cafeína + maleato de dexclorfeniramina + ácido acetilsalicílico	10 mg + 30 mg + 1 mg + 400 mg	Comprimidos
Cloridrato de fenilefrina + citrato de pentoxiverina + maleato de carbinoxamina + paracetamol	10 mg + 10 mg + 2 mg + 400 mg	Comprimidos
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol + cafeína + cloridrato de cetirizina	10 mg + 500 mg + 30 mg + 5 mg	Cápsulas
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol + cloridrato de dextrometorfano monodratado	10 mg + 650 mg + 25 mg	Pó para solução oral
	10 mg + 650 mg + 20 mg	Comprimidos efervescentes
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol + cloridrato de difenidramina	10 mg + 650 mg + 25 mg	Pó para solução oral / comprimidos efervescentes
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol + cloridrato de dextrometorfano monodratado + guaifenesina	5 mg + 325 mg + 10 mg + 200 mg	Comprimidos
Cloridrato de fenilefrina + maleato de clorfeniramina + ibuprofeno	10 mg + 4 mg + 200 mg	Comprimidos
Cloridrato de fenilefrina + maleato de clorfeniramina + bromidrato de dextrometorfano + ibuprofeno	10 mg + 4 mg + 30 mg + 400 mg	Cápsulas
Cloridrato de fenilefrina + maleato de feniramina	10 mg + 17,5 mg	Comprimidos
Bitartarato de fenilefrina + AAS + maleato de clorfeniramina	7,8 mg + 325 mg + 2 mg	Comprimidos efervescentes

\*Registros válidos na data de pesquisa, 11/08/2022.

Medicamentos em associação em dose fixa são combinações de dois ou mais princípios ativos em uma razão fixa de doses em uma mesma forma farmacêutica [20]. A eficácia aprimorada, a capacidade de redução da carga de comprimidos ingeridos, a conveniência para o paciente e consequente incremento na adesão ao tratamento, além da menor incidência de efeitos colaterais, advindas da combinação sinérgica de doses potencialmente mais baixas são as razões aventadas para fomentar o desenvolvimento e uso de medicamentos em associação em dose fixa [21-23].

No gerenciamento de ciclo de vida de produtos, o desenvolvimento de combinações em dose fixa é uma das muitas estratégias de reformulação utilizadas visando obter retornos comerciais mais rápidos, em comparação com o desenvolvimento de novas moléculas. Para as indústrias farmacêuticas que buscam maximizar o valor de seus medicamentos, as associações em dose fixa podem fornecer um meio de reposicionar um fármaco no mercado, de obter proteção complementar de patentes, de inovar incrementalmente e de fazer a diferenciação em relação a formulações de medicamentos mais baratos [21].

O desenvolvimento de uma associação em dose fixa, no entanto, requer uma avaliação cuidadosa de suas potenciais vantagens contra suas possíveis desvantagens, como a dificuldade ou inflexibilidade da titulação da dose, o desafio em reunir os diferentes perfis farmacocinéticos e de liberação-alvo dos fármacos em um mesmo medicamento, além da necessidade de garantir

a compatibilidade físico-química dos fármacos, juntamente com seus excipientes, para garantir que os diferentes componentes não gerem novas impurezas ou aumentem as interações medicamentosas [21-23].

Tendo em vista o amplo emprego da fenilefrina em associação com diversos fármacos empregados no tratamento paliativo dos sintomas da gripe comum, além da conhecida instabilidade química desta molécula, torna-se importante os estudos de identificação e segurança dos produtos de degradação passíveis de serem formados nestes medicamentos formulados à base de fenilefrina.

Partindo-se desta premissa, neste trabalho serão avaliados e discutidos os resultados das curvas de DSC e TGA de IFAs isolados: cloridrato de fenilefrina, paracetamol, cafeína, AAS, maleato de dexclorfeniramina e maleato de feniramina, e dos estudos de compatibilidade fármaco-fármaco sob condições de estresse para misturas binárias contendo cloridrato de fenilefrina em associação com demais IFAs comumente utilizados para o tratamento da gripe comum.

Complementarmente às avaliações das misturas binárias no estado sólido por análise térmica, objetivando obter dados dos produtos de degradação formados, empregou-se o uso de técnicas como CLAE/UV-VIS/DAD e CLAE/EMAR para elucidar as estruturas e quantificar as potenciais impurezas formadas nestas associações, além de ter sido avaliado o potencial genotóxico destes compostos *in silico*, os resultados dos testes, empregando-se técnicas distintas nas avaliações das misturas binárias estressadas, encontram-se nos tópicos subsequentes.

O presente trabalho se justifica para trazer dados novos e relevantes sobre a identidade e avaliação da toxicidade dos produtos de degradação passíveis de estarem presentes em medicamentos amplamente utilizados pela sociedade em geral que trazem na composição fenilefrina associada a outros IFAs.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Propriedades do cloridrato de fenilefrina**

Comercialmente o cloridrato de fenilefrina se apresenta como cristais brancos ou praticamente brancos, inodoros e de sabor amargo, muito solúveis em água e em etanol [24], o fármaco, de fórmula molecular  $C_9H_{13}NO_2 \cdot HCl$  e nomenclatura IUPAC 3-[1-Hydroxy-2-(methylamino)ethyl]phenol hydrochloride (1:1), possui registro CAS: 61-76-7 (sal de cloro) e CAS: 59-42-7 (base livre), com ponto de fusão compreendido entre 140 °C a 145 °C e peso

molecular de  $203,67 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  [25-26]. É uma molécula ionizável, com uma amina secundária básica e duas hidroxilas com distribuição de cargas conforme a Figura 4 [27].

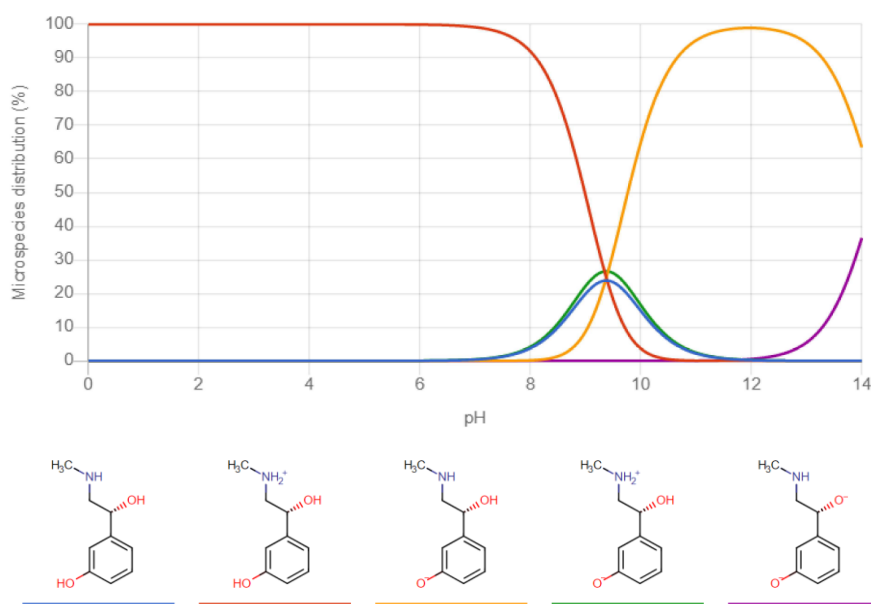


Figura 4 – Distribuição das microespécies da fenilefrina em função do pH, retirada de [32].

Conforme ilustrado na Figura 4, a fenilefrina encontra-se carregada em grande parte da faixa de pH compreendida entre 0 a 14, possuindo carga positiva na faixa de pH compreendida entre 0 a 8 e carga negativa entre os pHs 11 a 13. Em pH de aproximadamente 9,4, o fármaco existe como um zwitterion, contendo átomos carregados que se cancelam, dando ao composto uma carga líquida neutra.

Não existem relatos de formas polimórficas do cloridrato de fenilefrina na literatura, sendo conhecida e caracterizada apenas a estrutura cristalina de grupo espacial  $P2_1$  caracterizada por cela unitária monoclinica de dimensões  $a = 14,151 \text{ \AA}$ ;  $b = 6,790 \text{ \AA}$ ;  $c = 11,404 \text{ \AA}$ ;  $\alpha = \gamma = 90^\circ$  e  $\beta = 103,08^\circ$  [28], cuja ficha cristalográfica está disponível no banco de dados *The Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) pelo número 1208512.

A fenilefrina foi patenteada em 1927 e desde 1938 vem sendo utilizada na medicina [29]. A molécula é empregada como alternativa à pseudoefedrina em medicamentos descongestionantes devido ao uso da pseudoefedrina na fabricação ilícita de metanfetamina [30].

Devido à presença do grupamento amina em sua estrutura, a fenilefrina é capaz de reagir prontamente com eletrófilos como aldeídos, dando início as primeiras etapas da reação de *Maillard* (Figuras 5 e 6). A fenilefrina também pode reagir com vestígios de formaldeído (ou outros aldeídos presentes) para formar carbinolaminas com potencial de desidratação para iminas e/ou ligação cruzada com outras aminas ou nucleófilos (Figura 5). A oxidação de aminas

secundárias ou primárias (embora não seja um caminho de degradação particularmente comum para formas de dosagem sólidas) resulta na formação de hidroxilaminas que nem sempre podem ser observadas e/ou podem ser difíceis de isolar. A amina presente na estrutura da fenilefrina também está sujeita a hidrólises simples, catalisadas por ácidos ou bases, originando compostos hidrofílicos ou formando uma dupla ligação após a eliminação da amina. Em ambos os casos, amônia é eliminada do IFA [31].

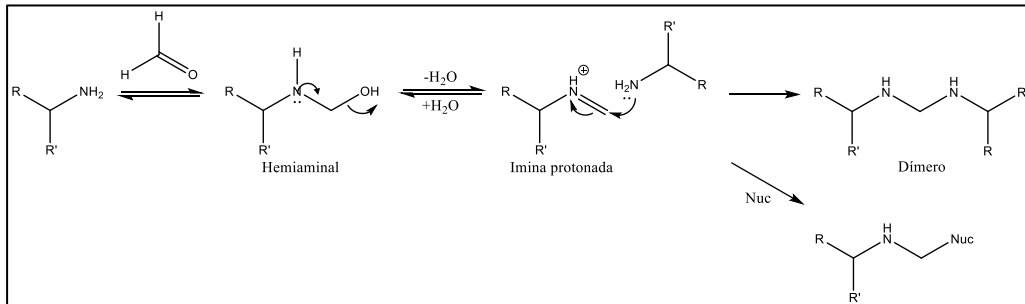


Figura 5 – Reação de aminas com formaldeído. Fonte: [31], adaptado.

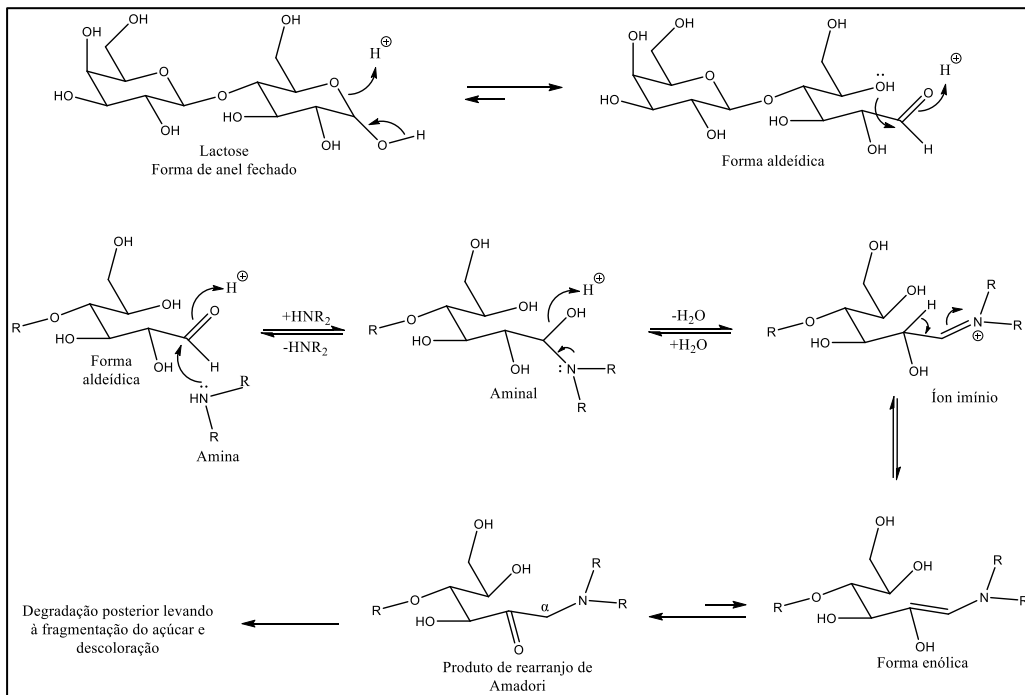


Figura 6 - Etapas iniciais da reação de escurecimento de Maillard. Fonte: [31], adaptado.

A desalquilação também é uma reação comum de degradação das aminas. A desalquilação envolve a oxidação da amina por peróxido seguido pela decomposição (desidratação) da hidroxilamina para a imina correlata. O ataque da água à imina ocorre para produzir a amina primária e o aldeído correspondentes. A desalquilação da amina também pode ocorrer através de processos de oxidação radicalmente mediados (Figura 7) [31].

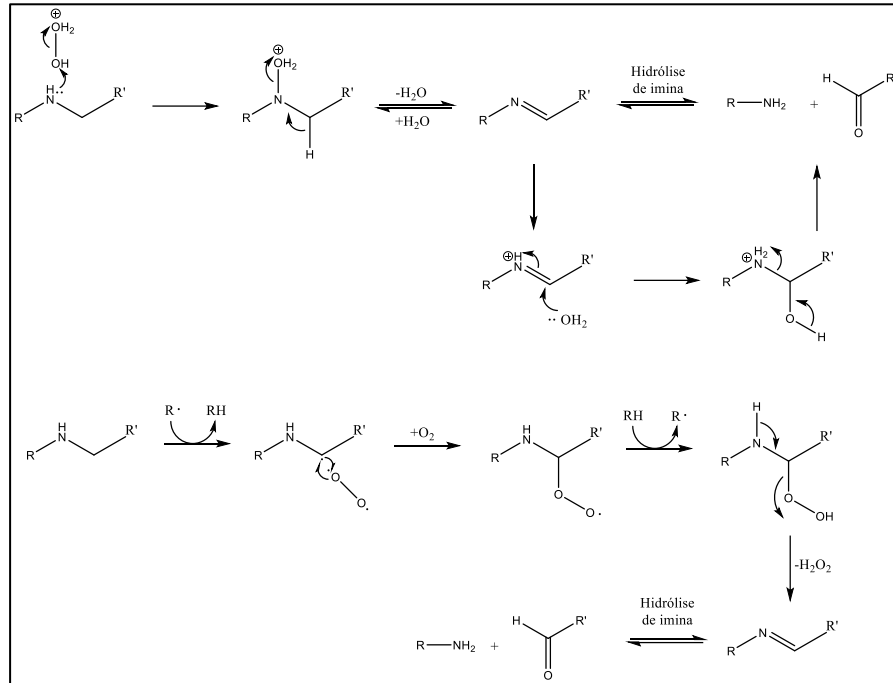


Figura 7 – Mecanismo de desalquilação de aminas por via oxidativa e oxidativa radicalar. Fonte: [31], adaptado.

Aminas também são particularmente propensas a reagir com excipientes e contraíons de ácidos carboxílicos, como ácido maleico, ácido succínico, ácido cítrico e ácido tartárico (Figura 8) [31].

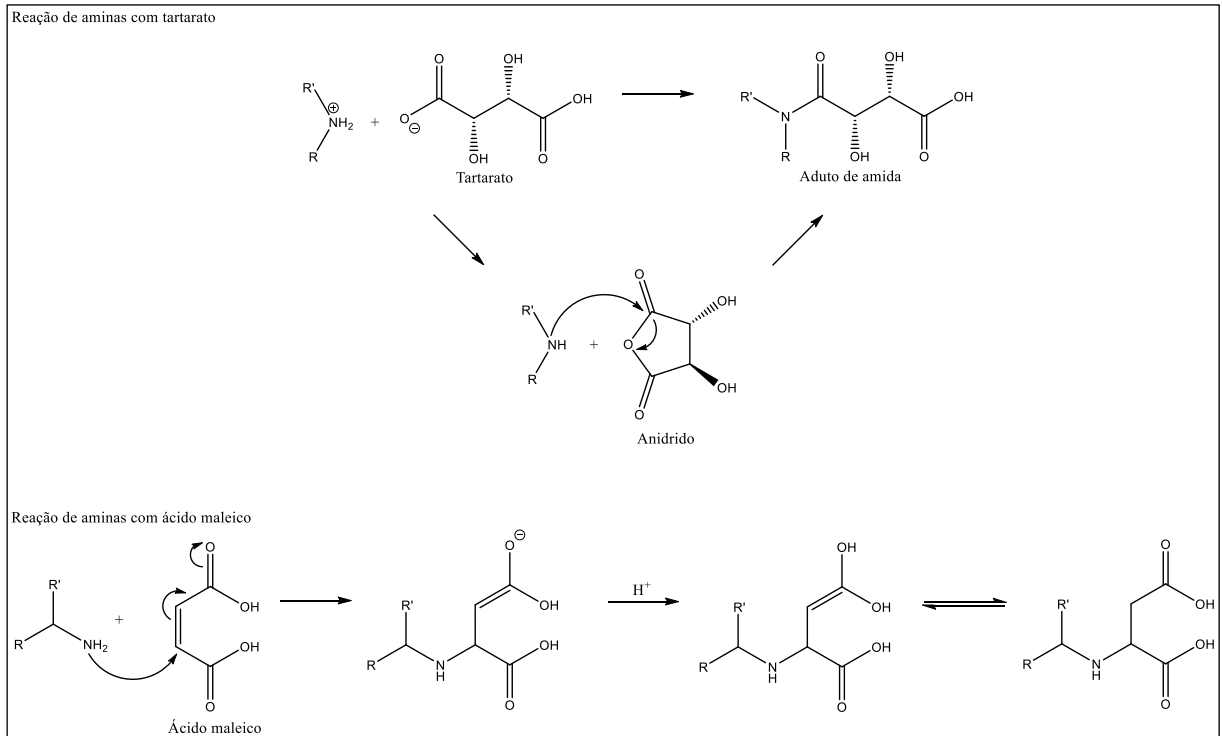


Figura 8 – Mecanismo de reação de aminas com os ácidos carboxílicos tartárico e maleico. Fonte: [31], adaptado.

As hidroxilas presentes na fenilefrina são propensas a atuar como nucleófilos, embora sejam menos nucleofílicas do que as aminas ou os tióis. Sob condições ácidas, as hidroxilas podem ser eliminadas em uma reação de desidratação (Figura 9). As hidroxilas não são facilmente ionizáveis sob condições normais de pH (por exemplo, pH 1-13) e podem participar de reações de ciclização intramolecular para formar lactonas a partir de ácidos carboxílicos, ésteres e tio-ésteres, especialmente se a lactona formada for um anel de cinco de seis membros. A formação de ésteres com grupos hidroxilas foi observada com sais ácidos (por exemplo, ácido succínico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido acético, etc.) assim como excipientes (por exemplo, ácido esteárico e estearato de magnésio) [31].

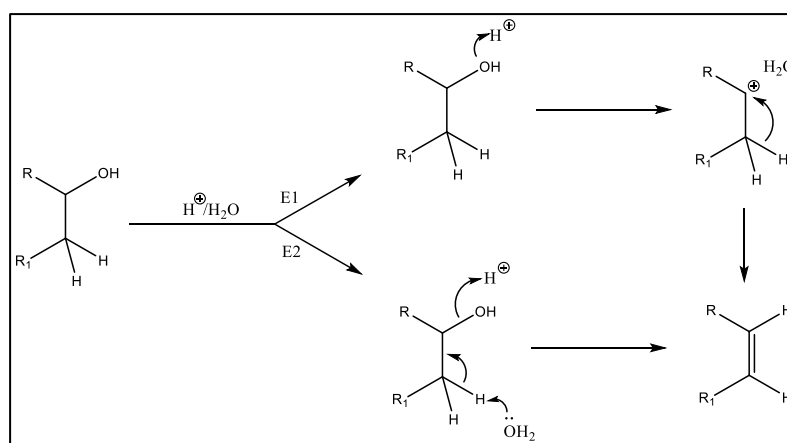


Figura 9 – Desidratação de álcoois catalisada por ácidos, mecanismos E1 e E2. Fonte: [31], adaptado.

Na Figura 10 são destacados os potenciais sítios reativos do *R*-(-) cloridrato de fenilefrina.

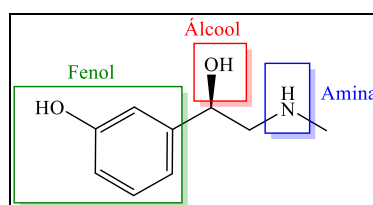


Figura 10 – Estrutura química do *R*-(-) cloridrato de fenilefrina com indicação de seus possíveis sítios reativos. Fonte: próprio autor.

## 2.2 Incompatibilidades fármaco-fármaco

Intentando evitar a utilização de componentes que apresentem incompatibilidades químicas, a chamada “fase de pré-formulação” marca o início do desenvolvimento de um novo produto. Nesta etapa várias informações físicas e químicas são obtidas acerca dos fármacos e de suas associações em investigação [32]. Interações físico-químicas entre princípios ativos bem como entre estes e excipientes podem influenciar na estabilidade e biodisponibilidade dos fármacos e, portanto, na eficácia dos medicamentos devido à formação de complexos, interações ácido-base, formação de misturas eutéticas e degradações dos IFAs [33-34], podendo

levar, inclusive, à perda parcial ou total da atividade dessas substâncias ou mesmo à formação de compostos cuja toxicidade é superior à da substância medicinal original.

Assim, a predição de prováveis incompatibilidades químicas entre componentes de um medicamento é necessária para garantir a integridade do ativo farmacêutico na formulação [32] e, nesse cenário, as análises térmicas, como a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a termogravimetria (TGA), se destacam dentre as principais técnicas empregadas no desenvolvimento farmacêutico, visando antecipar as possíveis interações que podem ocorrer durante o prazo de validade dos medicamentos [35].

Por outro lado, a maioria das reações químicas oriundas da instabilidade de moléculas pequenas, que são insumos farmacêuticos ativos (IFA) ocorrem por meio de hidrólise, oxidação e reação de *Maillard*. O teor de umidade do IFA e dos excipientes desempenham um papel crítico nas incompatibilidades. O calor e a umidade aceleram a maioria das reações, mesmo se a umidade não estiver envolvida no mecanismo da reação, porque a umidade aproxima as moléculas e o calor sempre aumenta a taxa de reação. A incompatibilidade entre um fármaco e um excipiente, e aquela que ocorre entre um fármaco e a umidade devido à capacidade do excipiente de absorver água, representam dois tipos diferentes de incompatibilidades [36].

No caso de formas farmacêuticas sólidas, a mobilidade molecular também é responsável pelas reações de degradação. Sistemas com mobilidade aprimorada têm mais reatividade. O estresse mecânico também pode acelerar essas reações, criando uma área de superfície maior, aumentando o número de defeitos cristalinos e aumentando a quantidade de material amorfo. Na Tabela 2 estão listadas as incompatibilidades de estado sólido mais comuns já catalogadas [36].

Tabela 2 – Lista de incompatibilidades comuns do estado sólido, adaptada de [28].

<b>Grupos funcionais</b>	<b>Incompatível com</b>	<b>Tipo de reação</b>
Aminas primárias e secundárias	Mono e dissacarídeos	Reação de <i>Maillard</i>
Ésteres	Componentes básicos	Hidrólise de éster
Lactonas	Componentes básicos	Abertura de anel (hidrólise)
Carboxilas	Bases	Formação de sais
Álcoois	Oxigênio	Oxidação à aldeídos e cetonas
Sulfidrilas	Oxigênio	Dimerização
Fenóis	Metais, poliíons	Complexação
Gelatinas	Surfactantes catiônicos	Desnaturação

Uma das formas mais tradicionais de realização de estudos de compatibilidade entre fármacos, no estado sólido, é através da análise de misturas binárias estressadas pela exposição à umidade, temperatura e luz, tendo como amostra controle os componentes das misturas puros e sob as mesmas condições. Além disso, sabe-se que testes de estresse são reconhecidos como uma parte extremamente importante do processo de desenvolvimento de medicamentos, eles são as principais ferramentas utilizadas para prever problemas de estabilidade, desenvolver

métodos analíticos e identificar produtos e vias de degradação. Os esforços da Conferência Internacional de Harmonização (ICH) e de órgãos reguladores como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com relação às impurezas orgânicas e estabilidade de fármacos e medicamentos trouxeram um maior escrutínio regulatório acerca das potenciais impurezas presentes em produtos farmacêuticos, exigindo identificação e avaliação toxicológica conforme níveis especificados em guias como ICH Q3A(R2) e ICH Q3B(R2) e normas como a RDC nº 53 de 04 de dezembro de 2015. Esforços para melhorar e agilizar os processos relacionados à identificação precoce de potenciais problemas de impurezas são importantes para fornecer medicamentos novos e seguros com mais rapidez [36-39].

Apesar de haver na literatura algumas recomendações de condições típicas para o estresse em estudos de estabilidade de pré-formulações [40], não há um consenso acerca de diretrizes regulamentares detalhadas que descrevam como realizar tais estudos, assim o teste de estresse evoluiu para uma “ciência hábil” que é altamente dependente da experiência das empresas e dos condutores dos estudos. Um artigo de 2003 sobre testes de estresse (ou degradação forçada), inclusive, foi intitulado “A Área Cinzenta”, em referência à imprecisão das diretrizes atuais [36].

A DSC é uma técnica termoanalítica na qual a diferença na quantidade de energia necessária para aumentar a temperatura de uma amostra e de um material de referência, termicamente inerte, é medida em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação de temperatura controlada [41-42].

A utilização da técnica de DSC para a avaliação de interações entre componentes de uma formulação fundamenta-se em observações referentes ao aparecimento, mudanças ou desaparecimento de eventos endotérmicos e exotérmicos e / ou variações nos valores de entalpias referentes a estes eventos térmicos de interesse. Para as misturas físicas binárias homogêneas na proporção 1:1 (massa/massa) em que não houver qualquer interação entre as espécies químicas, o valor da temperatura inicial ( $T_{onset}$ ) do primeiro pico de fusão na curva de DSC da mistura binária não deve sofrer alteração em relação aos valores obtidos para esta substância avaliada isoladamente, por outro lado, espera-se um valor de  $\Delta H$  de fusão reduzido pela metade, ou valores próximos a este [36;43].

Eventos térmicos como fusão, evaporação, sublimação, cristalização, dessolvatação, desidratação, transições vítreas, transições sólido-sólido e transições polimórficas podem ser exibidos por substâncias submetidas a variações de temperatura. De acordo com a absorção ou liberação de calor, tais eventos podem ser classificados como endotérmicos ou exotérmicos. A

Tabela 3 sumariza os tipos de eventos térmicos mais comuns em DSC e a suas classificações [44].

Tabela 3 – Classificação dos eventos térmicos exibidos em curvas DSC.

Tipo de evento	
Endotérmico	Exotérmico
Fusão	cristalização
Vaporização	condensação
Sublimação	solidificação
Dessorção	adsorção
-	quimissorção
Dessolvatação	solvatação
Decomposição	decomposição
Redução	oxidação
Degradação	degradação
transição vítrea *	-

\* Variação de linha base.

A TGA é uma técnica que se baseia na análise da variação da massa de uma amostra em uma atmosfera controlada em função da temperatura ou do tempo à medida que a temperatura da amostra aumenta. O equipamento de TGA compõe-se por uma termobalança constituída por um forno elétrico e uma balança de alta precisão. Na TGA a amostra é inserida na termobalança em um recipiente adequado e sob atmosfera controlada. O equipamento permite simultaneamente o aquecimento e aferição da massa da substância. A curva da massa em relação à temperatura obtida por esta análise também pode ser representada por sua derivada (DTG) através de um software para facilitar a interpretação e tornar as mudanças mais evidentes [44].

Estas curvas também possibilitam a obtenção de informações quanto à estabilidade térmica da amostra, sua composição e a estabilidade dos compostos intermediários e produto final. No método termogravimétrico dinâmico ou convencional, mais comumente utilizado, as variações de massa da amostra ( $m$ ) são registradas em função do tempo ( $t$ ) ou da temperatura ( $T$ ) [44].

Nas curvas obtidas, os desníveis em relação ao eixo de ordenadas correspondem às variações de massa experimentadas pela amostra e permitem a obtenção de dados que podem ser utilizados com finalidades quantitativas [44].

A Sorção Dinâmica de Vapor (DVS) é uma técnica de sorção gravimétrica que registra a rapidez e a quantidade de solvente absorvido por uma amostra em função da variação de temperatura e da concentração de vapor ao redor desta amostra. O vapor de água é comumente utilizado, mas também é possível usar vapores de uma ampla gama de solventes orgânicos.

A DVS é uma ferramenta valiosa em laboratórios de pesquisa e desenvolvimento de todo o mundo, pode ser empregada em estudos de polimorfismo, de estabilidade e até mesmo na área de embalagem, medindo a eficácia, a permeabilidade e os efeitos da umidade e temperatura nas amostras dentro da embalagem.

Associações entre IFAs são ditas compatíveis quando nas avaliações das curvas de DSC das misturas binárias, obtém-se pelo menos o pico de fusão do constituinte de menor ponto de fusão da mistura binária com valor de entalpia proporcional a sua concentração na mistura. Por outro lado, no TGA espera-se obter um perfil de perda de massa na mistura binária intermediário ao observado para os constituintes individuais desta mistura. Picos exotérmicos e endotérmicos obtidos apenas na curva de DSC da mistura binária podem ser indicativos de reações químicas. A tabela 4 ilustra relatos de incompatibilidades fármaco-fármaco descritos na literatura.

Tabela 4 – Incompatibilidades fármaco-fármaco relatados na literatura [9;45-47].

<b>Fármaco</b>	<b>Incompatível com</b>	<b>Tipo de reação</b>
Fosfato de codeína	AAS	Acetilação da codeína
Midazolam	Furosemda, aciclovir, diltiazem	Reação ácido-base
Bicarbonato de sódio	Propacetamol HCl, metoclopramida HCl	Reação ácido-base com geração de gases (CO <sub>2</sub> )
Ácido ascórbico	Maleato de pirilamina, cloridrato de fenilefrina	Reação ácido-base
Eritromicina	Linezolida, doxiciclina	Desidratação intramolecular da eritromicina
Etambutol HCl	Isoniazida, Rifampicina	Solubilização dos ativos (interação física) devido à alta higroscopicidade do etambutol

### 2.3 Avaliação de Segurança de Impurezas e Produtos de Degradação

O êxito das terapias medicamentosas está diretamente ligado à segurança e a eficácia dos produtos farmacêuticos. A segurança de um medicamento é determinada pelo seu perfil farmacológico/toxicológico, assim como pelos efeitos adversos causados pelas impurezas das matérias-primas e das próprias formulações. A existência de impurezas, com propriedades farmacológicas ou toxicológicas indesejadas, em produtos farmacêuticos deve ser ponderada relativamente aos benefícios resultantes de seu uso, por conseguinte, a qualidade e a segurança de um medicamento geralmente são asseguradas pelo controle eficaz das impurezas [48].

A avaliação do potencial de toxicidade de impurezas em produtos diversos é de suma importância para o processo de avaliação de risco à saúde humana, tornando possível a definição de limites aceitáveis e considerados seguros para a exposição em diversos contextos (aditivos alimentares, insumos farmacêuticos, etc.). No caso de indisponibilidade da forma

física da impureza, existem alternativas, validadas cientificamente, que podem tornar possível e custo-efetiva a avaliação do risco toxicológico.

A qualificação de um produto de degradação é um processo de aquisição e avaliação de dados que visam estabelecer a segurança biológica de determinada impureza em um IFA ou em um medicamento. Um produto de degradação é considerado qualificado quando for um metabólito significativo encontrado em estudos conduzidos em animais ou em humanos; quando o limite proposto estiver devidamente justificado em literatura científica ou em compêndios oficiais; ou quando forem apresentados dados de mutagenicidade e toxicidade geral (segurança biológica) através de estudos adequados ou literatura científica [37;49].

Geralmente a qualificação de um produto de degradação possui custos elevados, pois na maioria das vezes torna-se necessária a síntese do composto em avaliação, a caracterização do mesmo, e condução de ensaios toxicológicos *in vitro* e/ou *in vivo*. Em alguns casos, reduzir os limites de especificação do produto para níveis abaixo dos limites de qualificação ou optar por uma embalagem mais protetora ao invés de apresentar dados para a qualificação da impureza pode ser mais simples e vantajoso [49]. No entanto, no caso de indisponibilidade da forma física da impureza, devido à inviabilidade técnica e/ou econômica de obtê-la, existem alternativas, validadas cientificamente, que podem tornar possível e custo-efetiva a avaliação do risco toxicológico da mesma, inclusive no Brasil, conforme questionamento 3.2.9 do documento intitulado como “Perguntas & Respostas - Assunto: Fluxo de análise de qualificação de impurezas e produtos de degradação de medicamentos classificados como sintéticos e semissintéticos”, recomenda-se evitar estudos desnecessários sempre que seja viável fornecer dados de segurança cientificamente robustos e justificáveis [49].

Guias da *International Conference on Harmonisation (ICH)*, *Food and Drug Administration (FDA)* e *European Medicine Agency (EMA)* compõem o referencial de orientações com maior reconhecimento internacional para a avaliação e classificação de toxicidade de impurezas em produtos farmacêuticos [37-38;50-52].

O guia M7(R1) define critérios para o estabelecimento de níveis de impurezas mutagênicas ou produtos de degradação que resultem em um risco aceitável. Segundo essa diretriz, a avaliação de segurança envolve a busca de dados, na literatura e bases de dados, acerca da carcinogenicidade e mutagenicidade das impurezas para sua classificação de acordo com o Quadro 1. Se não há dados disponíveis, o guia orienta para a realização de uma avaliação da relação estrutura-atividade - (Q)SAR - para classificação da impureza nas classes 3, 4 ou 5 utilizando análise *in silico* de softwares baseados em regras e em estatística. A diretriz define que a ausência de alertas estruturais nos resultados obtidos a partir das duas metodologias *in*

*silico* é suficiente para concluir que a impureza não representa preocupação quanto ao perigo mutagênico, e não é recomendado teste complementar, exceto nos casos de medicamentos de uso crônico e exposição à impureza em nível > 1 mg/dia, para os quais a avaliação do potencial mutagênico *in vitro* deveria ser conduzida [52].

Quadro 1 – Sistema de classificação de impurezas em relação ao potencial mutagênico / carcinogênico e ações de controle [52].

Classe	Definição	Ações de Controle Propostas
1	Carcinógenos mutagênicos conhecidos	Controlar no limite aceitável específico para o componente ou abaixo deste.
2	Mutagênicos conhecidos com potencial carcinogênico desconhecido (mutagenicidade bacteriana positiva, sem dado de carcinogenicidade com roedores)	Controlar no limite aceitável ou abaixo deste (segundo TTC <sup>1</sup> apropriado)
3	Alerta estrutural, não relacionada à estrutura da substância medicamentosa; sem dados de mutagenicidade	Controlar no limite aceitável ou abaixo deste (segundo TTC <sup>1</sup> apropriado) ou conduzir ensaio de mutagenicidade; Se não mutagênico = classe 5. Se mutagênico = classe 2.
4	Alerta estrutural, com alerta similar na substância medicamentosa ou componentes relacionados à substância medicamentosa (ex: intermediários do processo) que foram testados e são não-mutagênicos.	Tratar como impureza não mutagênica.
5	Nenhum alerta estrutural ou com alertas estruturais com dados suficientes para demonstrar a falta de mutagenicidade ou carcinogenicidade	Tratar como impureza não mutagênica.

<sup>1</sup>O conceito *Threshold of Toxicological Concern* (TTC) foi desenvolvido para definir uma exposição aceitável para algum agente químico não estudado que representa um risco negligenciável de carcinogenicidade ou outros efeitos tóxicos.

Com uma dose máxima diária de 120 mg/dia administrada por via oral [53], produtos de degradação do cloridrato de fenilefrina, cujas concentrações estejam acima de 0,2%, deverão ser qualificados [39].

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 Geral

O objetivo do presente trabalho é avaliar a compatibilidade físico-química do cloridrato de fenilefrina em associação com outros insumos utilizados na profilaxia da gripe comum (cafeína, maleato de dexclorfeniramina, AAS, maleato de feniramina e paracetamol), identificar por cromatografia líquida acoplada à detector de massas (CLAE/EMAR) e investigar *in silico* os produtos de degradação formados pela interação destes fármacos.

### 3.2 Específico

- Avaliar a compatibilidade físico-química de misturas binárias contendo cloridrato de fenilefrina em associação com cafeína, maleato de dexclorfeniramina, AAS, maleato de feniramina e paracetamol, empregando métodos de termogravimetria (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).
- Validar um método analítico para quantificação da fenilefrina nas misturas binárias estressadas.
- Identificar os produtos de degradação gerados após o estresse das misturas binárias de cloridrato de fenilefrina com outros IFAs empregados na profilaxia da gripe comum.
- Avaliar a toxicidade *in silico* dos produtos de degradação encontrados.

## 4 MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

Para a execução do presente trabalho foram utilizadas técnicas como calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TGA), sorção dinâmica de vapor (DVS), cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de arranjo de fotodiodos (CLAE/UV-VIS/DAD) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (CLAE/EMAR).

### 4.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC dos IFAs isolados e misturas binárias foram obtidas em um calorímetro modelo DSC 1 STAR da Mettler Toledo com Software STAR v.15.00 usando cadinhos de alumínio selados, com tampas perfuradas, com cerca de 3 mg de amostras, sob atmosfera de N<sub>2</sub> dinâmica (taxa de fluxo: 30 mL.min<sup>-1</sup>) a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup> na faixa de temperatura de 25 °C a 300 °C.

A análise de DSC foi realizada usando amostras dos IFAs puros (fenilefrina, cafeína, maleato de dexclorfeniramina, AAS, maleato de feniramina e paracetamol), bem como de misturas binárias, com relação massa/massa de 1:1, compostas por fenilefrina em associação com demais IFAs. Em ambos os casos foram avaliadas amostras controles e sob estresses fotolítico, térmico seco e térmico úmido empregando em todas as análises um cadinho de alumínio vazio como referência.

### 4.2 Termogravimetria (TGA)

As curvas termogravimétricas foram obtidas em uma termobalança TG/DSC 1 STAR da Mettler Toledo com Software STAR v.15.00 na faixa de temperatura de 30 °C a 600 °C, usando cadinhos de porcelana com cerca de 7 mg de amostra, sob atmosfera de N<sub>2</sub> dinâmica

(50 mL.min<sup>-1</sup>) a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>. Amostras controle e estressadas dos IFAs puros e das misturas binárias, com relação massa/massa de 1:1 foram avaliadas.

### 4.3 Sorção dinâmica de vapor (DVS)

O estudo de avaliação da higroscopicidade do cloridrato de fenilefrina foi realizado utilizando equipamento de DVS da *Surface Measurement Systems* mantido a 25 °C com medições da massa da amostra a 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 62,5%, 65%, 67,5%, 70%, 72,5%, 75%, 77,5%, 80%, 82,5%, 85% e 90 % de umidade relativa do ar (UR).

### 4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos

As análises das amostras controles e estressadas, visando a determinação do percentual de degradação da fenilefrina após o estresse, foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters Acquity™ UPLC® H-Class, que consiste em um sistema de bombeamento quaternário, desgaseificador de fase móvel, amostrador automático e aquecedor de coluna, com sistema de controle e aquisição via software Empower® 3. As separações cromatográficas foram realizadas em uma coluna XSelect HSS T3 com 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro preenchida com partículas de 3,5µm, com detecção a 270 nm. A eluição foi em modo gradiente entre a fase móvel (A): 0,1% v/v de ácido trifluoracético em água e a fase móvel (B): 0,1% v/v de ácido trifluoracético em acetonitrila com o seguinte programa: 0 min, 98% (A); 4 min, 98% (A); 25 min, 75% (A); 30 min: 50% (A); 35 min: 50% (A); 35,1 min: 98% (A); 40 min 98% (A). O volume das amostras injetadas foi de 4 µL sob fluxo constante de 0,5 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura no forno da coluna ajustada à 35 °C, temperatura do amostrador ajustada em 25 °C e tempo total da análise de 40 minutos.

As soluções-amostras de cloridrato de fenilefrina e das misturas binárias (controles e estressadas) foram obtidas a partir da diluição de 4 mg de cada IFA para balão volumétrico de 20 mL em solução de ácido fórmico 0,1% v/v, obtendo-se uma solução de concentração de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup>.

O método por CLAE foi validado para a análise quantitativa da fenilefrina de acordo com as normas da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 166 de 24 de julho de 2017 (ANVISA) [54], considerando os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão e robustez. A especificidade/seletividade foi verificada por determinação da recuperação da fenilefrina e pela observação da pureza espectral do pico de fenilefrina em todas as amostras analisadas. A linearidade foi avaliada pelo cálculo da regressão linear de triplicatas de amostras em 5 níveis de concentração, utilizando o método dos mínimos quadrados, bem como pela avaliação da homocedasticidade da variância através

do teste de Breusch Pagan e pela avaliação da normalidade dos resíduos do modelo. A precisão foi avaliada pela análise do desvio padrão relativo da sextuplicata (precisão intra-dia) e pela análise de mais seis amostras preparadas em dia diferente, por analista diferente (precisão inter-dias). A exatidão foi calculada pela avaliação do percentual de recuperação das amostras preparadas em 3 níveis de concentrações diferentes (baixa, média e alta). A robustez foi avaliada modificando a coluna cromatográfica empregada na separação dos analitos. Dois diferentes lotes de colunas foram testados. Para avaliar se há diferenças entre os lotes das colunas utilizadas, a recuperação do teor de fenilefrina em uma mesma amostra analisada com as duas colunas foi comparada.

#### **4.5 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrômetro de massas de alta resolução (CLAE/EMAR)**

Neste trabalho, as impurezas observadas nas misturas binárias estressadas contendo cloridrato de fenilefrina foram elucidadas empregando-se o mesmo método cromatográfico transcrito no tópico 4.4, porém injetando-se 20 µL de cada amostra em um espectro de massas do tipo tripleTOF™, modelo 5600+ (Sciex), com ionização por *electrospray*, acoplado a um cromatógrafo líquido de ultra performance Agilent modelo 1290 Infinity II LC, operando no modo positivo, nas seguintes condições otimizadas: temperatura de dessolvatação de 550°C, voltagem do capilar de 5500 eV, potencial de orifício de entrada dos íons (Declustering Potential – DP) de 40 eV, gás de nebulização (GS1) à pressão de 50 psi, gás secante (GS2) à pressão de 50 psi, cortina de gás de dessolvatação (Curtain Gas – CUR) à pressão de 25 psi, e para o modo IDA (MS/MS) foi empregada voltagem do capilar de 4500 eV, energia de colisão (Collision Energy – CE) de 15 eV e propagação da energia de colisão (Collision Energy Spread – CES) de 3 eV, sob sistema de controle e aquisição Analyst® TF 1.7.1.

O acréscimo do volume de amostra injetada no sistema CLAE-EMAR teve como intuito gerar sinais analíticos mais intensos que pudessem ser interpretados de maneira mais precisa.

#### **4.6 Qualificação dos produtos de degradação elucidados**

No presente trabalho, para a qualificação dos produtos de degradação formados a partir da interação do cloridrato de fenilefrina com demais IFAs, foi adotada uma abordagem integrada de acordo com as diretrizes do ICH M7(R1), aplicando-se de forma combinada predições baseadas em regras e em modelos estatísticos fundamentados na relação quantitativa entre estrutura e atividade (QSAR), utilizando inteligência artificial e uma base de dados com aproximadamente 7 mil compostos, através do software Genotox-iS® 3.0, desenvolvido e gentilmente cedido para o uso neste trabalho pela Altox Ltda em parceria com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), validado conforme as recomendações

da OECD. Quando possível, as predições foram complementadas com dados da literatura científica, julgamentos baseados em diretrizes nacionais e internacionais e informações de toxicologia.

A ferramenta Genotox-iS<sup>®</sup> realiza a verificação de alertas estruturais e predições baseadas em fragmentos, subestruturas ou similaridade estrutural quanto ao potencial de mutagenicidade. A análise de alertas estruturais é realizada através do módulo Alerts Search<sup>®</sup>, com um banco de dados curado de 102 alertas documentados pelo ISS (Istituto Superiore di Sanita), conforme detalhado nos próprios *reports* gerados pelo Genotox-iS<sup>®</sup>.

## 5 MÉTODOS EXPERIMENTAIS UTILIZADOS

### 5.1 Testes de estresse das misturas binárias em fase sólida

Neste estudo foram avaliadas misturas binárias contendo cloridrato de fenilefrina em associação com demais IFAs estressadas sob calor (70 °C por 10 dias), umidade (75% UR à 40 °C por 10 dias) e luz (dois ciclos de fotoestabilidade: luz branca (6.500 K)  $\geq$  1,2 milhões de lux.hora e luz ultravioleta (320nm - 400nm)  $\geq$  200 watts.hora/m<sup>2</sup>, cada ciclo).

Para cada condição de estresse das misturas binárias pesou-se cerca de 4,0 mg de cada IFA (Quadro 2), transferindo-os para *vials* de headspace. Cravou-se os *vials* para as condições fotolítica e térmica e, para o estresse térmico úmido, manteve-se os *vials* abertos. Após o tempo determinado da degradação, todo o conteúdo dos *vials* foram diluídos com 20,0 mL de ácido fórmico 0,1% v/v, levados ao ultrassom a temperatura ambiente por 10 minutos e homogeneizados. As amostras foram filtradas em membrana PVDF 0,22  $\mu$ m de 33mm de diâmetro e analisadas nos cromatógrafos acoplados a detectores de UV/VIS/DAD e espectrômetro de massas.

Quadro 2 – Matriz representativa das misturas binárias analisadas.

	Amostra controle (T.A.)	Estresse térmico	Estresse térmico úmido	Fotólise
Cloridrato de Fenilefrina + cafeína (1:1)	X	X	X	X
Cloridrato de Fenilefrina + paracetamol (1:1)	X	X	X	X
Cloridrato de Fenilefrina + maleato de dexclorfeniramina (1:1)	X	X	X	X
Cloridrato de Fenilefrina + maleato de feniramina (1:1)	X	X	X	X
Cloridrato de Fenilefrina + AAS (1:1)	X	X	X	X

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 DSC, TGA e DVS

#### 6.1.1 Avaliação dos fármacos isolados

O desaparecimento do evento endotérmico de fusão da fenilefrina na curva de DSC do cloridrato de fenilefrina isolado sob estresse térmico úmido (Figura 11) evidencia a desestabilização da estrutura cristalina deste IFA na presença de umidade, de fato, através da análise da isoterma de adsorção de água do teste de sorção dinâmica de vapor (DVS) deste IFA (Figura 12), é possível verificar que o cloridrato de fenilefrina começa a adsorver/absorver água a partir de 75% de umidade relativa aumentando em 41% de sua massa inicial em 90% de umidade, atestando a higroscopicidade do IFA nessa condição de estresse, ou seja, 75% UR por 10 dias. Parte do IFA exposto à umidade, inclusive, solubilizou, o que denota a deliquescência deste insumo para essa condição. A análise do IFA por TGA (Figura 13) evidenciou a antecipação do evento de perda de massa na amostra submetida à umidade, em relação às demais condições avaliadas, devido a perda do alto percentual de água que o IFA incorporou durante o teste de estresse.

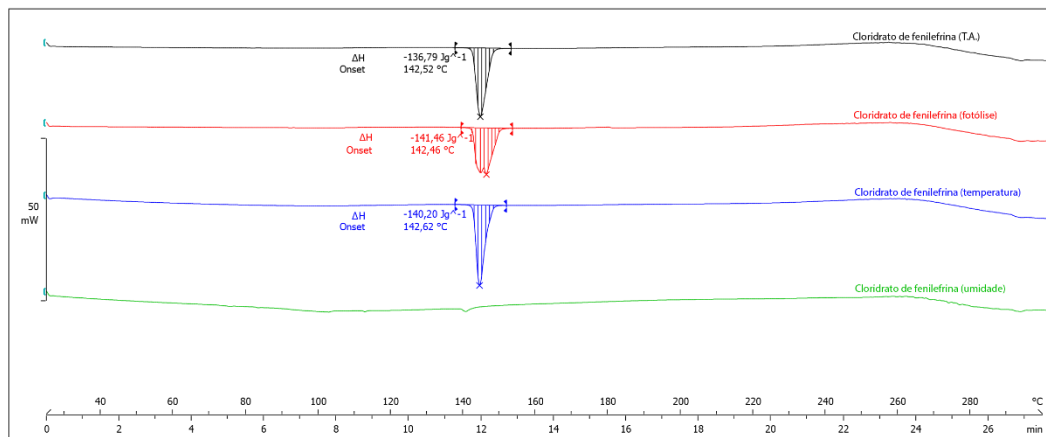


Figura 11 – Sobreposição das curvas de DSC do cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.

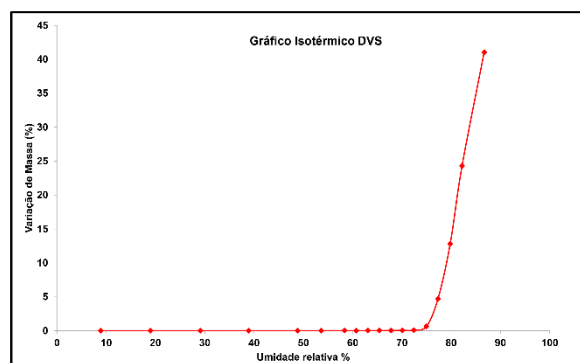


Figura 12 – Isotherma de adsorção de água a 25 °C do cloridrato de fenilefrina em função da umidade.

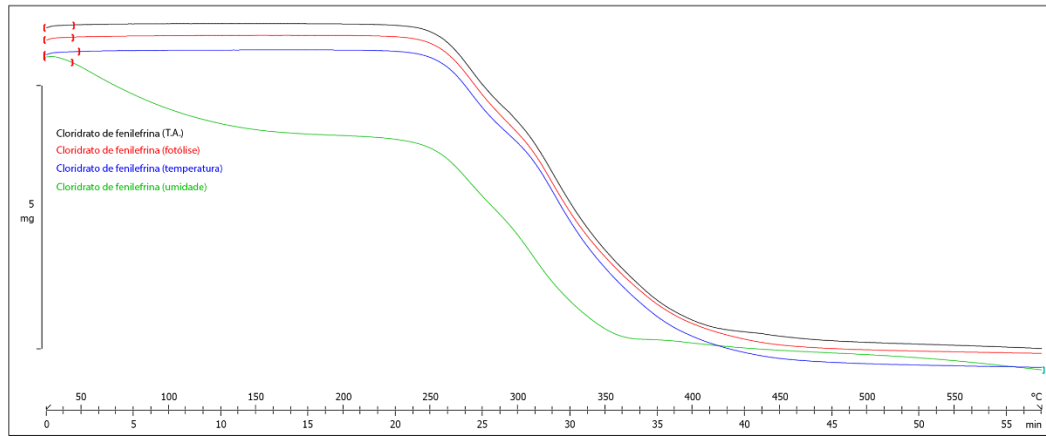


Figura 13 – Sobreposição das curvas obtidas em TGA para o cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.

As curvas de DSC e TGA do maleato de feniramina sob diferentes condições de estresse apontam para a instabilidade física desse insumo sob atmosfera com alta umidade de forma análoga ao observado para o cloridrato de fenilefrina. O gráfico de DSC da amostra de maleato de feniramina, sob estresse térmico úmido, também expôs o desaparecimento do evento endotérmico de fusão desse IFA (Figura 14), enquanto que a análise por TGA (Figura 15) indicou uma antecipação do evento de perda de massa em cerca de 50 °C na amostra submetida à umidade, em relação às demais condições avaliadas. Este evento pode ser explicado devido a perda do alto percentual de água que o IFA incorporou durante o teste de estresse.

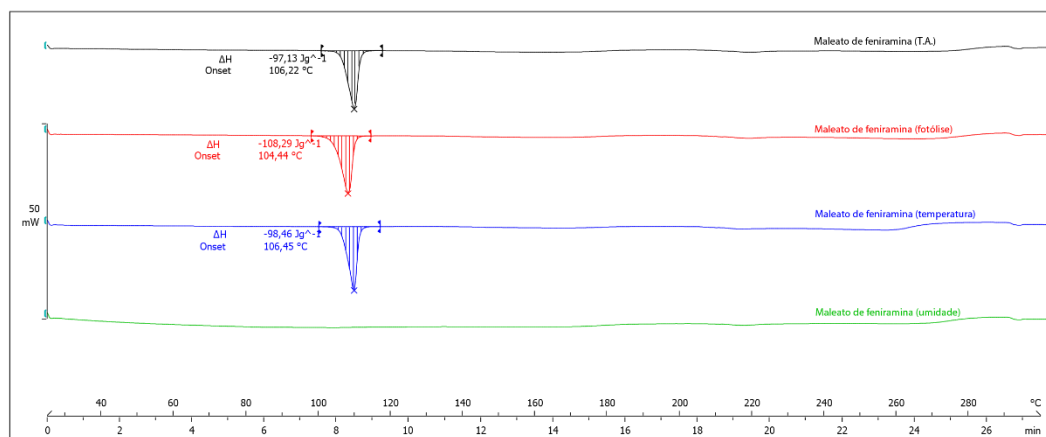


Figura 14 – Sobreposição das curvas de DSC do maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

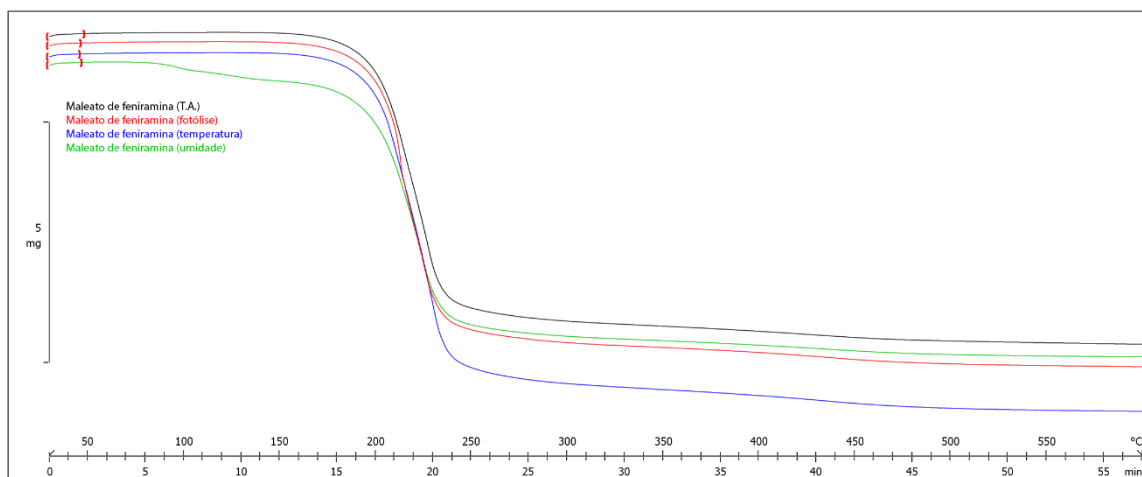


Figura 15 – Sobreposição das curvas de TGA do maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

As curvas de DSC e TGA dos demais IFAs isolados (caféina, maleato de dexclorfeniramina e AAS), disponíveis no anexo I, indicam a manutenção do mesmo perfil térmico e consequentemente a estabilidade dos IFAs independente das condições de estresse aos quais os mesmos foram submetidos.

### 6.1.2 Avaliação das misturas binárias fármaco-fármaco

As curvas de DSC e TGA obtidas para as misturas binárias de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina e cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina (Figuras 16 a 19) revelam que os picos endotérmicos de fusão de todos os ativos não são evidenciados nas curvas de DSC das misturas binárias analisadas, de fato todas estas misturas se apresentavam no estado líquido, evidenciando a desestabilização da estrutura cristalina destes IFAs quando na presença uns dos outros. Além disso, as curvas de TGA destas misturas apresentam antecipação do evento de perda de massa em praticamente todas as condições de estresse testadas. A higroscopicidade do cloridrato de fenilefrina e do maleato de feniramina torna mais complexa a avaliação da compatibilidade química dessas misturas binárias apenas pela análise das curvas de DSC e TGA. No entanto, as drásticas alterações tanto nas curvas de DSC quanto nas curvas de TGA dessas misturas sugerem a desestabilização da rede cristalina dos ativos e incompatibilidade físico-química entre esses componentes em todas as condições de estresse testadas.

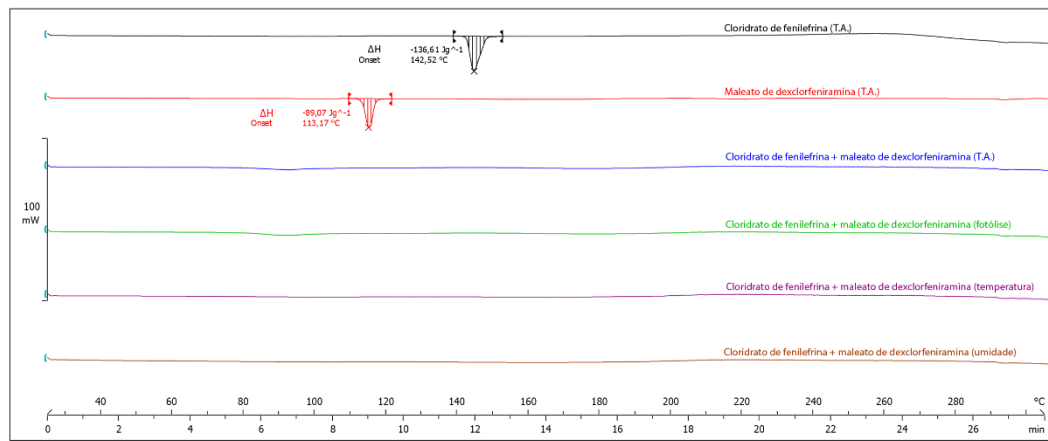


Figura 16 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

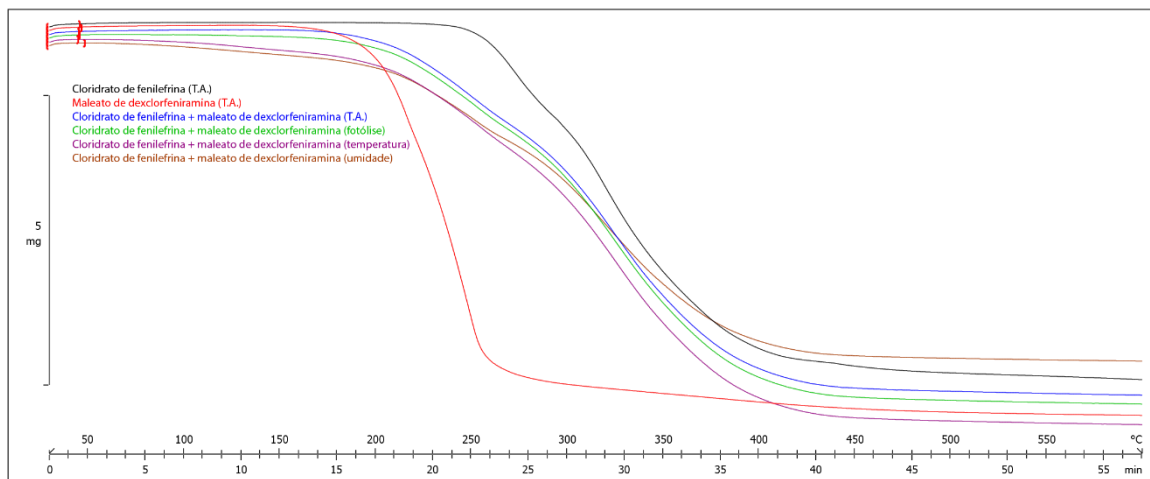


Figura 17 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

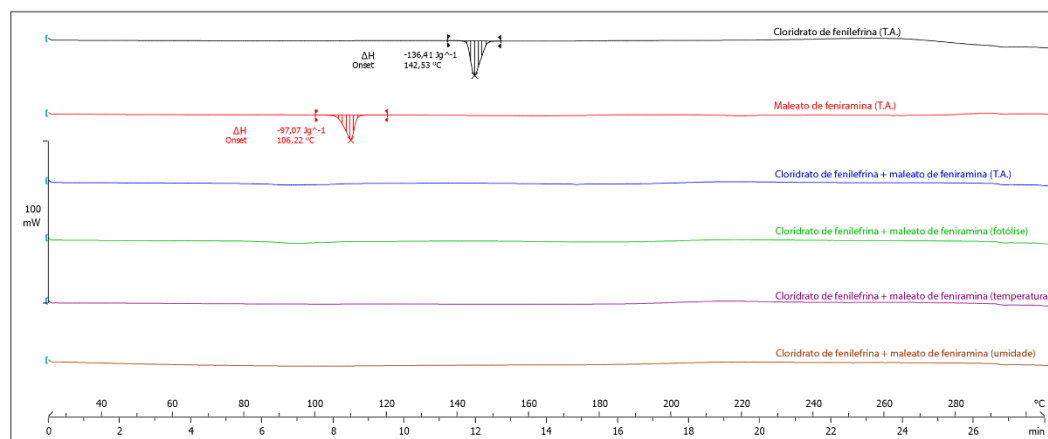


Figura 18 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

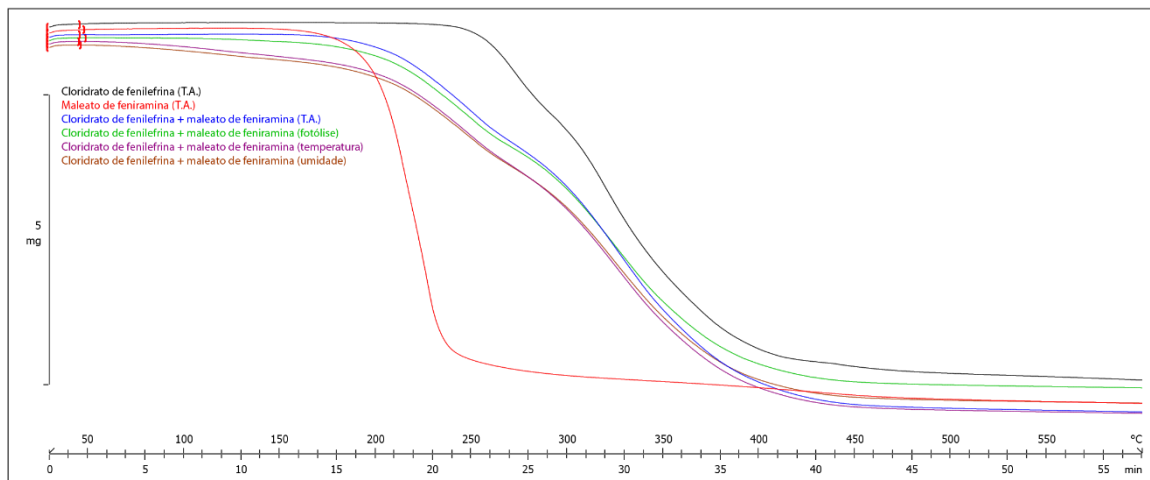


Figura 19 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

Avaliando-se as curvas de DSC das misturas binárias entre cloridrato de fenilefrina x AAS (Figura 20) nota-se tanto a antecipação dos eventos térmicos de fusão dos ativos nas misturas sob estresse quanto o decréscimo da entalpia em relação à entalpia esperada para esses eventos, sendo este um indicativo de desestabilização da estrutura física dos ativos causado pelo contato mútuo. As curvas de TGA obtidas (Figura 21) revelam que as curvas de perda de massa das misturas não estão situadas entre as curvas de perdas de massas dos IFAs isolados, indicando a incompatibilidade dessas misturas.

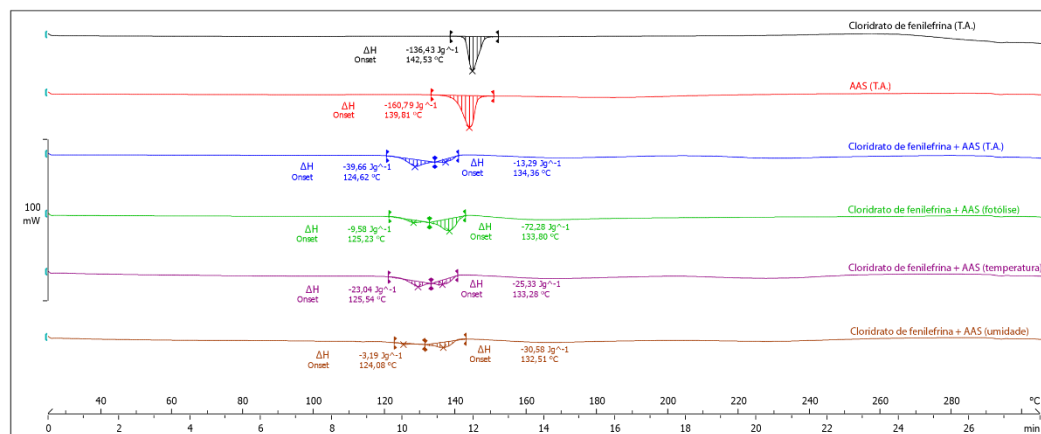


Figura 20 – Sobreposição das curvas de DSC da associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse.

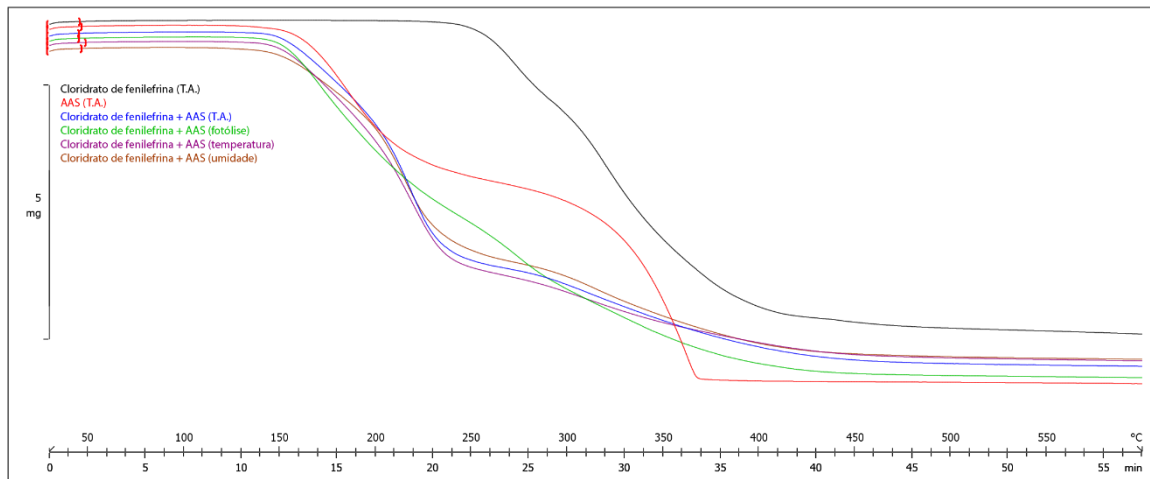


Figura 21 – Sobreposição das curvas de TGA da associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse.

Apesar do cloridrato de fenilefrina possuir um baixo ponto de fusão em relação ao paracetamol e à cafeína e conseguir solubilizar esses IFAs durante as análises por DSC e TGA, antecipando o evento de fusão da fenilefrina, as curvas de DSC e TGA dessas misturas binárias testadas (fenilefrina x cafeína e fenilefrina x paracetamol), disponíveis no anexo I, não evidenciaram alterações das propriedades térmicas dos IFAs, quando presentes nessas associações, independente das condições de estresse aos quais os mesmos foram submetidos, que pudessem indicar incompatibilidade química entre eles.

A Tabela 5 resume os resultados de compatibilidade evidenciados nas análises das misturas binárias testadas.

Tabela 5 – Matriz de compatibilidade fármaco-fármaco das misturas binárias testadas.

	Temperatura ambiente	Estresse térmico seco	Estresse térmico úmido	Estresse fotolítico
Cloridrato de fenilefrina + paracetamol	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
Cloridrato de fenilefrina + maleato de dexclorfeniramina	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
Cloridrato de fenilefrina + maleato de feniramina	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
Cloridrato de fenilefrina + AAS	Incompatível	Incompatível	Incompatível	Incompatível
Cloridrato de fenilefrina + cafeína	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível

## 6.2 Determinação do percentual de degradação da fenilefrina após o estresse por CLAE/UV-VIS/DAD

A validação do ensaio analítico para a determinação da fenilefrina, por cromatografia líquida em fase reversa com eluição em gradiente, nas amostras testadas foi bem-sucedida conforme dados apresentados nas tabelas 6, 7, 8 e 9. Os resultados para os diversos parâmetros de validação encontram-se de acordo com o especificado e demonstraram que a metodologia proposta é adequada para o uso a que se destina, todos os dados brutos da validação estão disponíveis no anexo II.

No ensaio de seletividade/especificidade não foram observadas interferências significativas nos tempos de retenção do analito (TR) de interesse. A análise de pureza dos picos demonstrou que os picos são puros e homogêneos, uma vez que o *Purity Angle* (PA) foi menor que o *Purity Threshold* (TH) em todos os cromatogramas que contêm o analito. Pelo *Purity Plot* nota-se que há uma homogeneidade espectral dos picos, garantindo que cada pico é atribuído a um único componente. O método apresenta seletividade/especificidade para o composto testado.

Através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, empregando para o tratamento estatístico o software ActionStat® versão 3.7, foi possível comprovar que o método é linear de 0,16 mg/mL a 0,24 mg/mL, o que representa 80% a 120% da concentração alvo de cloridrato de fenilefrina na metodologia proposta. Não foram identificados valores extremos (outliers), a curva é homocedástica e não se observou dependência nos resíduos, com coeficiente de correlação acima de 0,990. No que diz respeito ao intercepto, o p-valor > 0,05 demonstrou que não há significância do intercepto na curva em questão. Quanto ao gráfico QQ-plot e o resultado do teste de Shapiro-Wilk, não se rejeita a normalidade dos resíduos. 100% dos resíduos padronizados ficaram entre -3 e 3 e o DPR do fator resposta se mostrou adequado, conforme critério adotado.

Tabela 6 – Resultados de análise estatística da regressão linear.

Parâmetro	Resposta obtida	Critério de aceitação
Coefficiente de Correlação	0,9964	> <b>0,990</b>
Anova da Regressão	0	<b>p-valor &lt; 0,05</b>
Intercepto (significância)	0,8744	<b>p-valor &gt; 0,05</b>
Homocedasticidade da variância - <i>Breusch Pagan</i>	0,7497	<b>p-valor &gt; 0,05</b>
Normalidade dos resíduos - <i>Shapiro-Wilk</i>	0,805	<b>p-valor &gt; 0,05</b>

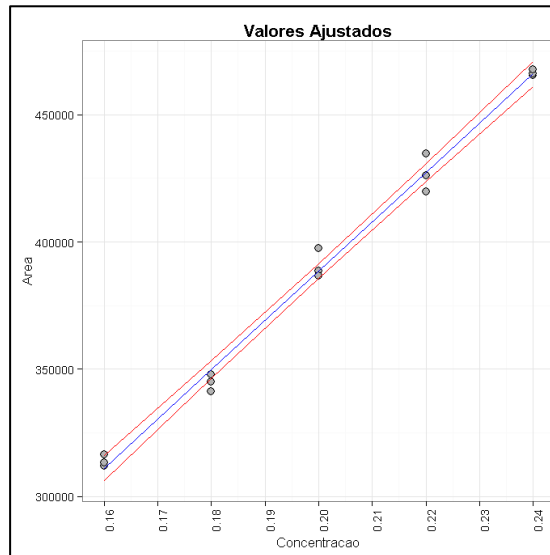


Figura 22 – Gráfico do diagrama de dispersão.

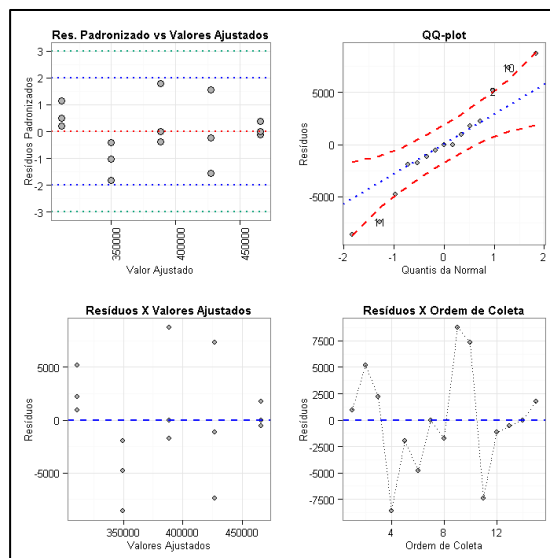


Figura 23 – Gráfico dos resíduos.

Na determinação da precisão foram obtidos resultados de acordo com o especificado em dois níveis: repetibilidade e precisão intermediária ( $DPR \leq 2,0\%$ ), demonstrando que o método é preciso.

Tabela 7 – Repetibilidade e precisão intermediária.

Amostras	Analista 1 (%)	Analista 2 (%)
1	100,09	101,51
2	100,33	100,32
3	100,01	99,98
4	100,72	100,33
5	100,47	99,57

<b>6</b>	100,34	100,40
<b>Média</b>	100,33	100,35
<b>DPR (%)<sub>intra-dias</sub></b>	<b>0,3</b>	<b>0,6</b>
<b>DPR (%)<sub>inter-dias</sub></b>	<b>0,5</b>	

Também foi possível atestar que a exatidão do método cumpre com os critérios de aceitação estabelecidos, todos os resultados de recuperação estão contidos na faixa de 98% a 102% com intervalo de confiança 95%. O DPR de cada nível de concentração está de acordo com o especificado ( $\leq 2,0\%$ ).

Tabela 8 – Recuperação para a exatidão.

<b>Nível (%)</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>DPR (%)</b>
80% - AM1	100	
80% - AM2	102	1,0
80% - AM3	101	
100% - AM1	102	
100% - AM2	101	0,6
100% - AM3	102	
120% - AM1	100	
120% - AM2	99	1,0
120% - AM3	98	
Média das recuperações (%)	101	
Desvio padrão das recuperações	1,4	
Intervalo de confiança 95%	1,1	
Média $\pm$ IC95 %	100% a 102%	

AM: amostra.

Verificou-se ainda, que o método é robusto e suporta pequenas alterações das condições iniciais sem prejuízos significativos, não houve variação significativa na resposta da solução padrão (DPR < 2,0%) e a amostra apresentou recuperação dentro dos limites aceitáveis (98% a 102%).

Tabela 9 – Robustez padrão e amostra.

<b>Parâmetro</b>	<b>DPR (%) padrão</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Controle	0,1	100,09
Coluna 2	1,0	99,97

A partir do método proposto foi possível realizar a análise de teor de fenilefrina nas amostras controle e amostras das misturas binárias estressadas, bem como quantificar as concentrações percentuais dos produtos de degradação formados (PD), por normalização de área do produto de degradação em relação à resposta do pico de fenilefrina, nos cromatogramas avaliados (Equação 1).

$$PD (\%) = \frac{\text{área do pico do produto de degradação}}{\text{área do pico da fenilefrina}} \quad (\text{Equação 1})$$

Além disso os balanços de massas (BM) das amostras examinadas, isto é, a correlação do decréscimo da concentração do analito de interesse com o aumento no percentual de produtos de degradação formados, foram determinados aplicando-se a fórmula descrita na Equação 2. Esta avaliação é um bom indicativo da detecção adequada, após o estudo de estresse, dos produtos de degradação gerados. Os produtos de degradação observados foram nomeados neste trabalho como: Compostos I, II, III e IV. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 10.

$$BM (\%) = 100 - (Tc - Te) + \sum PD (\%) \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo que:

Tc = concentração percentual de cloridrato de fenilefrina na amostra controle.

Te = concentração percentual de cloridrato de fenilefrina nas amostras estressadas.

Tabela 10 – Teor de cloridrato de fenilefrina, percentual de PD e cálculo do BM nas misturas binárias testadas.

		Fenilefrina HCl + cafeína (1:1)	Fenilefrina HCl + maleato de dexclorfeniramina (1:1)	Fenilefrina HCl + maleato de feniramina (1:1)	Fenilefrina HCl + paracetamol (1:1)	Fenilefrina HCl + AAS (1:1)
Amostra controle	Teor de fenilefrina HCl	97,26%	100,49%	100,16%	98,74%	100,07%
	Teor de fenilefrina HCl	97,21%	93,51%	86,20%	96,59%	97,96%
Estresse térmico seco	Composto I (%)	n/d	3,84%	9,24%	n/d	n/d
	Composto II (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	Composto III (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	Composto IV (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	BM	99,95%	96,86%	95,28%	97,85%	97,89%
Estresse térmico úmido	Teor de fenilefrina HCl	95,79%	97,38%	95,40%	97,42%	93,94%
	Composto I (%)	n/d	3,11%	3,60%	n/d	n/d
	Composto II (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	0,23%
	Composto III (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	0,03%
	Composto IV (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	1,00%
BM	98,53%	100,00%	98,84%	98,68%	95,13%	
Estresse fotolítico	Teor de fenilefrina HCl	98,52%	102,00%	102,69%	97,72%	101,54%
	Composto I (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	Composto II (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	Composto III (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
	Composto IV (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
BM	101,26%	101,51%	102,53%	98,98%	101,47%	

n/d: não detectado; n/a: não aplicável

Através dos resultados obtidos foi possível observar que houve um expressivo decréscimo na concentração do cloridrato de fenilefrina quando na presença de maleato de dexclorfeniramina, sob estresse térmico seco e úmido; com maleato de feniramina sob estresse térmico seco e úmido; e com AAS sob estresse térmico úmido. Logo, é razoável inferir que

nessas condições o cloridrato de fenilefrina apresenta instabilidade química com potencial de gerar produtos de degradação por decomposição e/ou por interação com os IFAs reportados. Estes resultados são coesos aos resultados dos testes de compatibilidade por análises térmicas e ao percentual de produtos de degradação evidenciados nestas amostras.

Comparando-se os cromatogramas obtidos, com o auxílio do detector de ultravioleta, para cada uma dessas condições é nítida a formação de um produto de degradação com tempo de retenção (TR) de aproximadamente 7,5 minutos nas misturas de cloridrato de fenilefrina + maleato de dexclorfeniramina (1:1) e cloridrato de fenilefrina + maleato de feniramina (1:1) sob estresses térmicos seco e úmido e de três produtos de degradação com TR de aproximadamente 13,8; 15,15 e 15,6 minutos na mistura de cloridrato de fenilefrina + AAS (1:1) sob estresse térmico úmido (Figura 24).

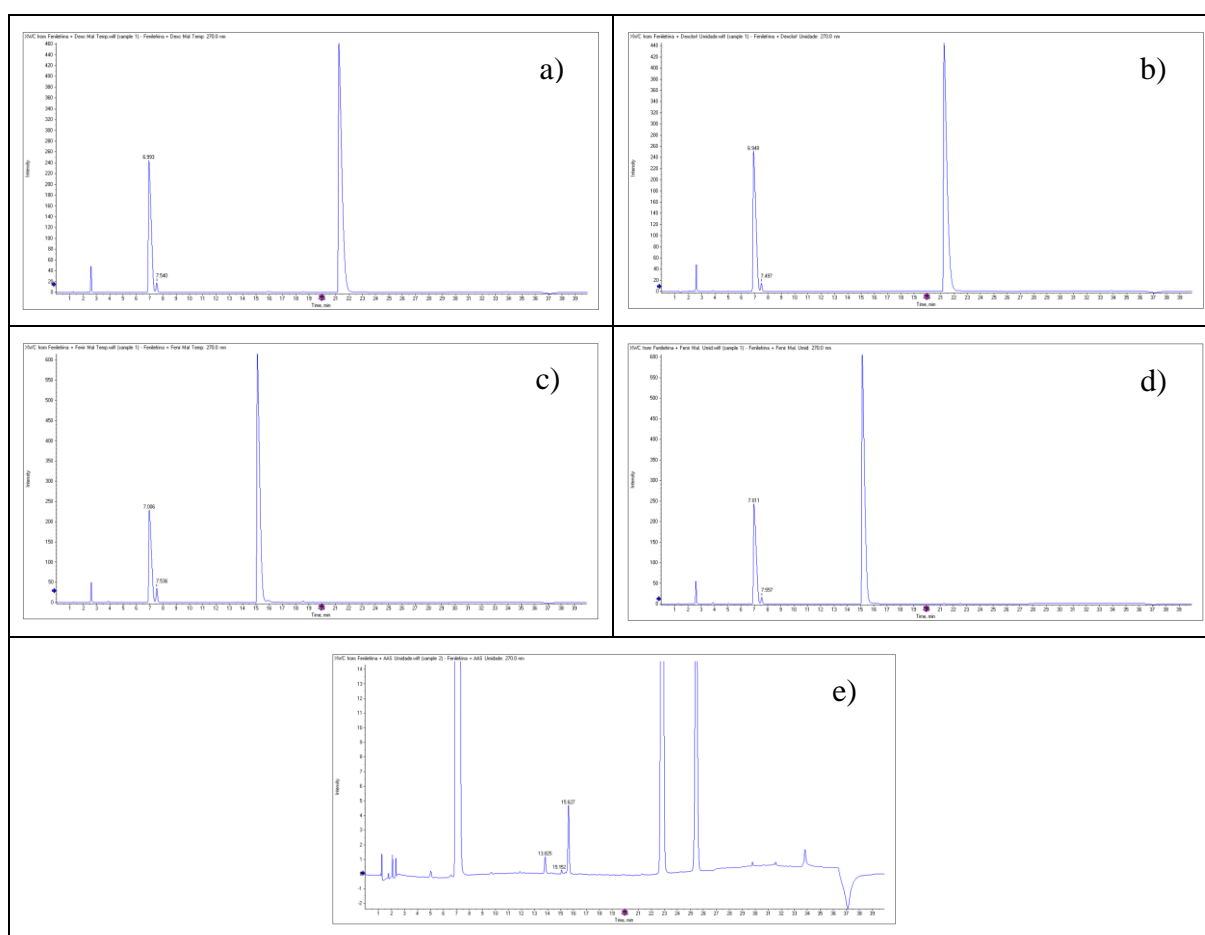


Figura 24 – Cromatogramas das misturas de cloridrato de fenilefrina + maleato de dexclorfeniramina (1:1) sob estresses térmicos seco em a) e úmido em b); cloridrato de fenilefrina + maleato de feniramina (1:1) sob estresses térmicos seco em c) e úmido em d) e da mistura de cloridrato de fenilefrina + AAS (1:1) sob estresse térmico úmido em e).

Nas misturas binárias de cloridrato de fenilefrina com cafeína e com paracetamol não foram observadas alterações significativas nas concentrações de fenilefrina após o estresse, conforme pode ser observado na tabela 10, e tampouco foi evidenciado a formação de produtos

de degradação nestas misturas como pode ser visto nos cromatogramas anexados a este trabalho.

### **6.3 Avaliação e elucidação estrutural dos produtos de degradação formados por CLAE/EMAR**

Equipamentos de CLAE são comumente acoplados à detectores ultravioleta-visível, no entanto, esta técnica hifenada possui certas limitações em termos de sensibilidade, pois é limitada pela absorvidade molar das substâncias em análise no comprimento de onda escolhido para a detecção [55-56]. Os problemas de sensibilidade da CLAE/UV-VIS foram superados pela introdução de cromatógrafos acoplados a espectrômetros de massas (CLAE-EMAR). Detectores de massas, além de possuírem maior sensibilidade para composto ionizáveis, fornecem dados intrínsecos das substâncias analisadas [57].

As misturas binárias que apresentaram indícios de incompatibilidade ao serem analisadas por DSC/TGA e por CLAE/UV-VIS/DAD foram examinadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrômetro de massas de alta resolução no intuito de identificar e elucidar as estruturas dos produtos de degradação que porventura tenham sido formados.

A investigação das associações entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina e cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina evidenciaram a formação de um mesmo produto de degradação em ambas as misturas, sob as condições de estresse térmicos seco e úmido. A Figura 25 ilustra o cromatograma UV-VIS da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor, bem como o *Total Ion Chromatogram* (TIC) da amostra analisada e o *Extracted Ion Chromatogram* (XIC) da amostra com razão massa/carga ( $m/z$ )  $284,0 \pm 0,5$  indicando o pico do produto de degradação em investigação em 7,6 minutos.

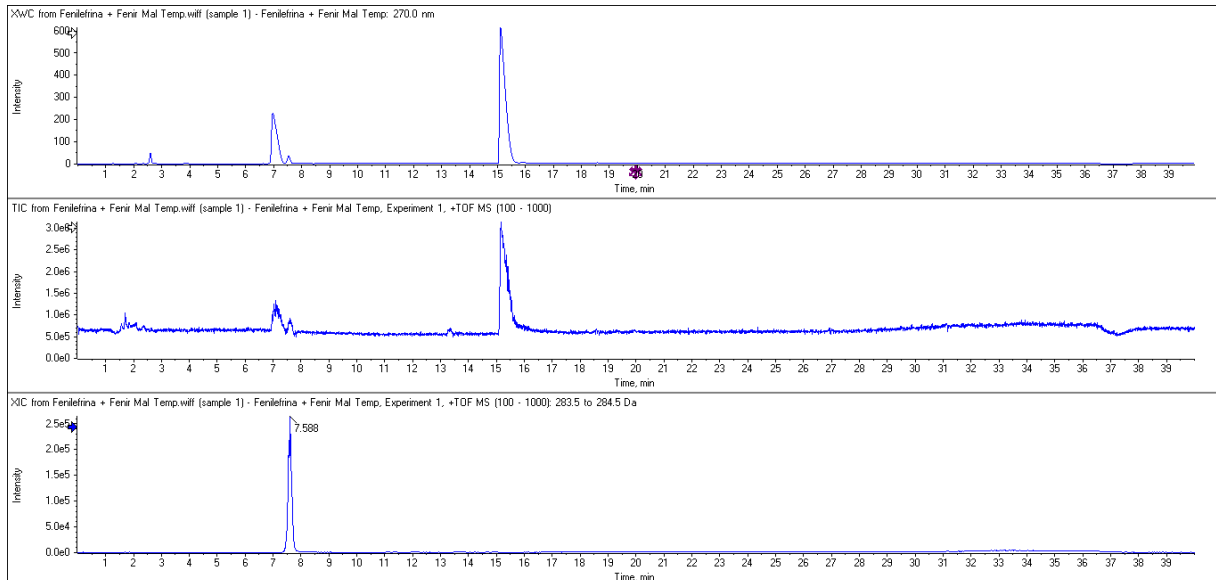


Figura 25. Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor. Em (a) cromatograma UV-VIS, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com  $m/z$   $284,0 \pm 0,5$  indicando o pico do produto de degradação em investigação em 7,6 minutos.

A extração da  $m/z$  no TR do produto de degradação desconhecido com a exclusão das  $m/z$  geradas pela fase móvel no intervalo definido próximo ao pico (faixa rosa) exibiu para a impureza sob investigação uma  $m/z$  284,1126. Com a utilização da ferramenta FormulaFinder<sup>®</sup>, incorporada ao software PeakView<sup>®</sup>, foi possível identificar a fórmula química do produto de degradação em análise através do padrão isotopológico do espectro de massas obtido. A figura 26 sugere o composto de fórmula molecular  $C_{13}H_{17}NO_6$ , de  $m/z$  284,1129 com erro de -0,9 ppm e índice de deficiência de hidrogênio, RDBE (do inglês, *Ring and Double-Bonds Equivalent*s) igual a 6.

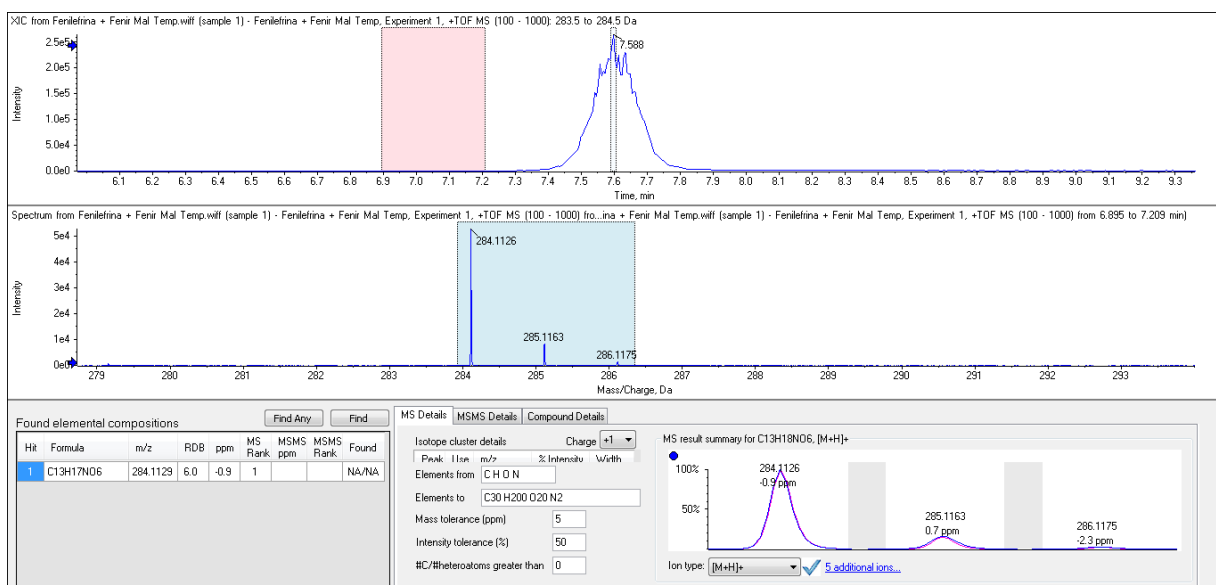


Figura 26. Avaliação do padrão isotopológico do produto de degradação com tempo de TR de 7,6 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor.

A fórmula molecular da impureza indica uma adição química à fenilefrina. A fim de identificar a estrutura química do composto, possíveis transformações da fenilefrina que

pudessem originar produtos de degradação foram examinadas e, em buscas literárias, encontrou-se relatos da formação de um produto de degradação formada pela reação de Michael, entre a fenilefrina e o ácido maleico, com a mesma  $m/z$  observada nos experimentos realizados, trata-se do composto intitulado 2-[2-hydroxy-2-(3-hydroxyphenyl)ethyl]methylaminosuccinic acid, de peso molecular 283,28 g/mol e CAS 915278-80-7 [19], ilustrado na Figura 27.

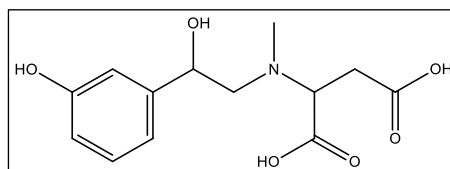


Figura 27 – Estrutura química do 2-[2-hydroxy-2-(3-hydroxyphenyl)ethyl]methylaminosuccinic acid (**Composto I**).

Esta estrutura foi então relacionada ao perfil de fragmentação experimental encontrado na amostra através da ferramenta Fragments Pane<sup>®</sup>, do software Peakview<sup>®</sup>, que compara os fragmentos teóricos da estrutura desejada com os fragmentos experimentais. A figura 28 apresenta a avaliação da diferença de massa dos fragmentos que geraram erros em módulos menores que 4,1 ppm, considerados ótimos para este tipo de experimento e corroborando para a confirmação da estrutura química proposta.

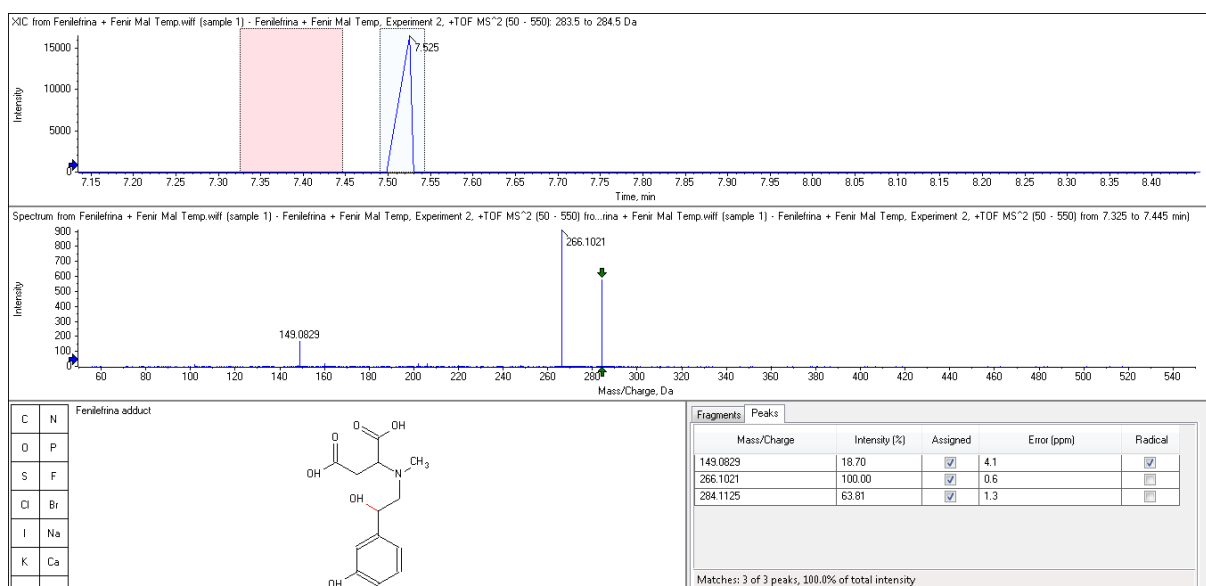


Figura 28. Avaliação do perfil de fragmentação do produto de degradação com tempo de TR de 7,6 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por calor.

Os dados da elucidação estrutural desse mesmo produto de degradação nas misturas binárias: cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina (sob estresse térmico seco e úmido) e cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina (sob estresse térmico úmido) foram omitidos intencionalmente no corpo desse trabalho por serem análogos aos dados apresentados nas Figuras 25, 26 e 28, no entanto, estão disponíveis no anexo III.

O esquema de fragmentação do composto I é apresentado na figura 29.

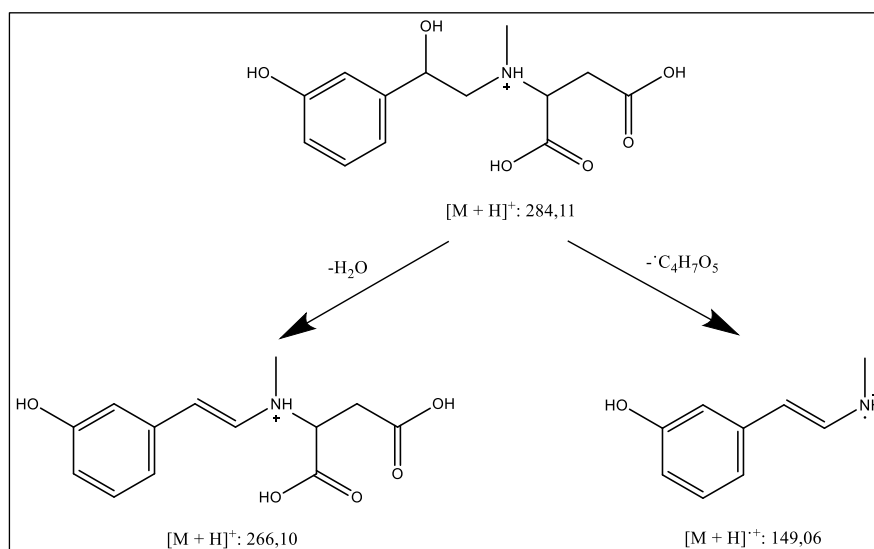


Figura 29 – Esquema de fragmentação do composto I obtido no modo positivo.

A investigação da associação cloridrato de fenilefrina x AAS indicou a formação de três produtos de degradação com mesma razão  $m/z$  na amostra submetida ao estresse térmico úmido, a Figura 30 apresenta o cromatograma UV-VIS dessa mistura, bem como o TIC da amostra analisada e o XIC da amostra com filtro de massa em  $m/z$   $210,0 \pm 0,5$  apontando os três picos dos produtos de degradação sob exame com TR de 13,88, 15,22 e 15,68 minutos, denominados aqui como **compostos II, III e IV**, respectivamente.

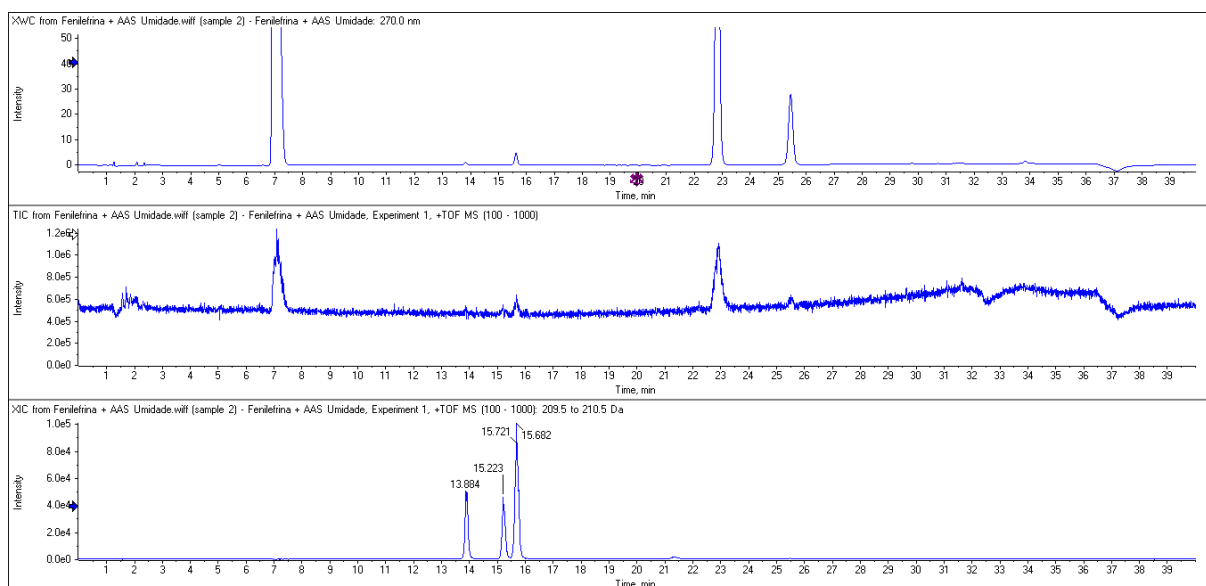


Figura 30. Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade. Em (a) cromatograma UV-VIS, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com filtro de massa em  $m/z$   $210,0 \pm 0,5$  indicando os picos dos produtos de degradação sob investigação.

A extração das  $m/z$  nos TR dos produtos de degradação desconhecidos com a exclusão das  $m/z$  geradas pela fase móvel no intervalo definido próximo aos picos exibiu, para as três impurezas sob investigação, uma  $m/z$  de  $\cong 210,1125$ . Utilizando o FormulaFinder<sup>®</sup>, identificou-se as fórmulas químicas dos produtos de degradação em análise através dos padrões

isotopológicos dos espectros de massas obtidos. As figuras 31 a 33 sugerem o composto de fórmula molecular  $C_{11}H_{15}NO_3$ , de  $m/z$  210,1125 com erro de 1,1 ppm e RDBE igual a 5 para os três compostos.

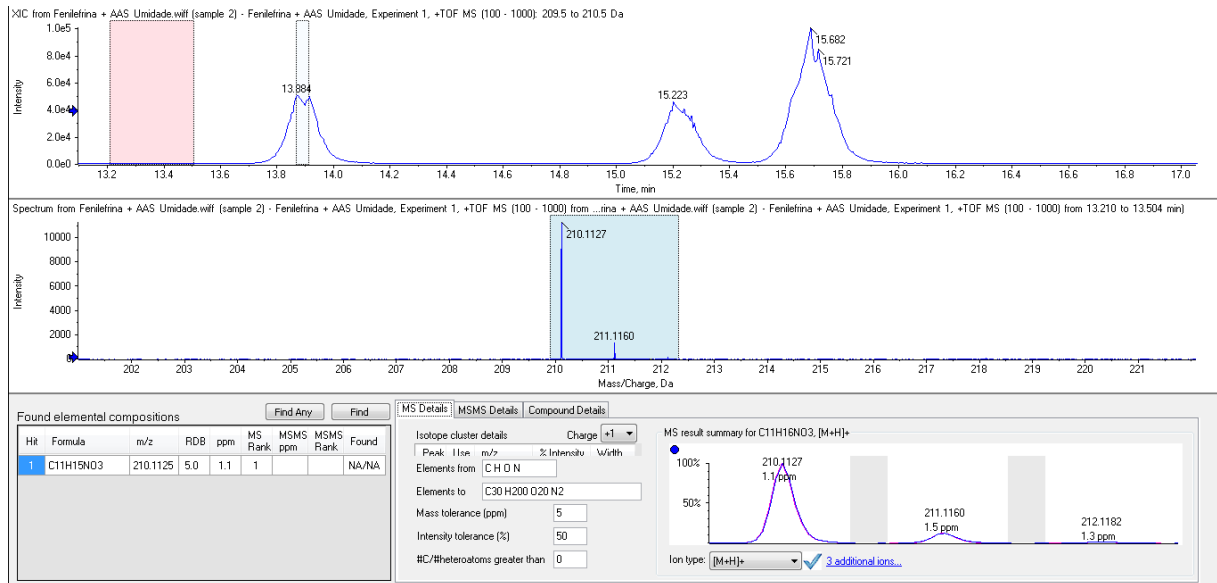


Figura 31. Avaliação do padrão isotopológico do composto II com tempo de TR de 13,88 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

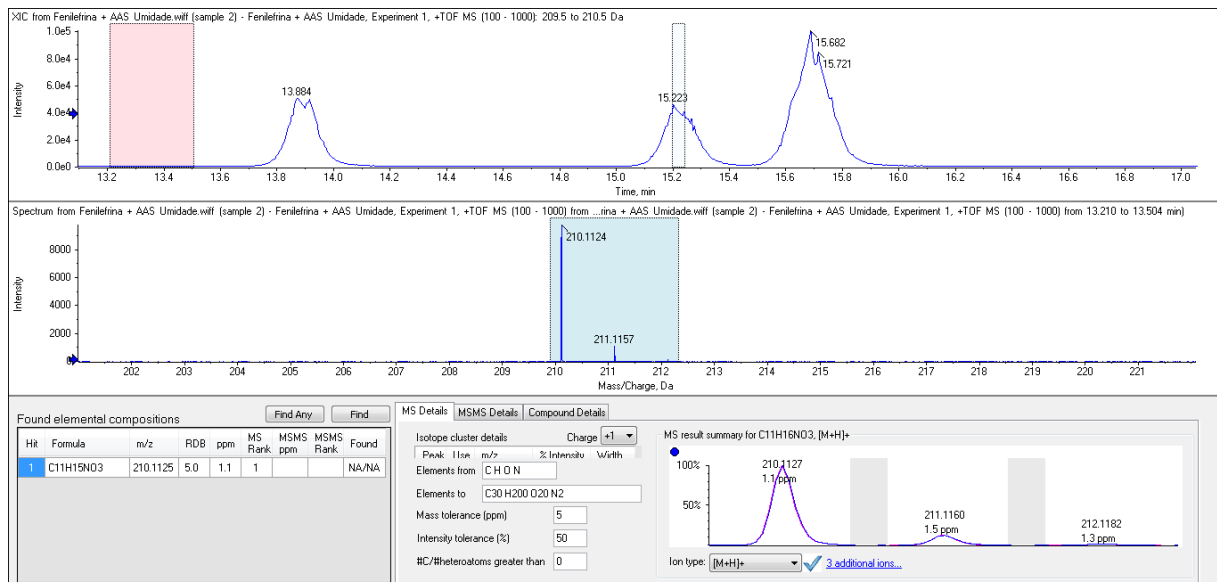


Figura 32. Avaliação do padrão isotopológico do composto III com tempo de TR de 15,22 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

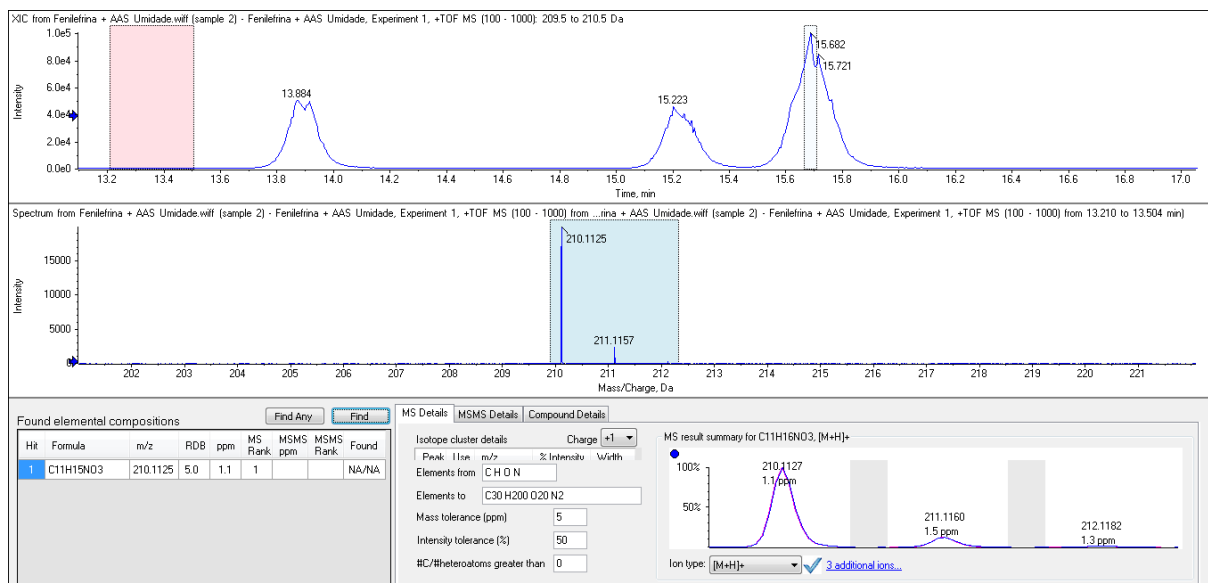


Figura 33. Avaliação do padrão isotopológico do composto IV com tempo de TR de 15,68 minutos na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

As fórmulas moleculares das impurezas encontradas denotam a adição de uma acetila à fenilefrina. Partindo da convicção da hidrólise do AAS liberando ácido acético ao meio reacional e dos fundamentos das reações de esterificação e amidação, foram analisadas possíveis transformações da fenilefrina que pudessem originar produtos de degradação e, na literatura, constatou-se relatos da formação de produtos de degradação mono-, di- e tri-acetilados da fenilefrina [16-17], sendo que o composto mono acetilado, Figura 34 (c), intitulado N-acetil fenilefrina, CAS: 58952-80-0, possui a mesma  $m/z$  identificada nos experimentos realizados. Com base nos dados coletados propôs-se as estruturas moleculares dos outros dois produtos de degradação evidenciados neste trabalho, as mesmas estão ilustradas na Figura 34 (a) e (b).

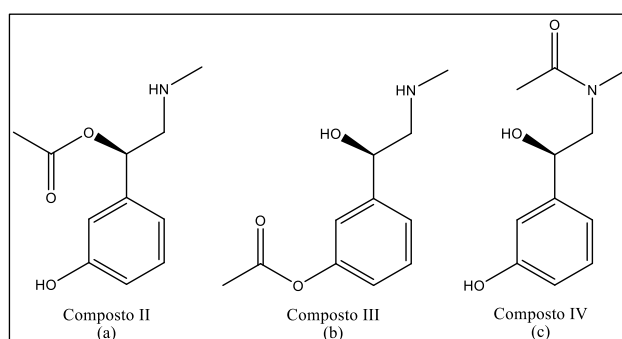


Figura 34 – Estruturas químicas propostas para o composto II (CAS: 2165916-61-8), composto III (CAS: 2724465-62-5) e composto IV (CAS: 58952-80-0).

Apesar de possuírem mesma massa molecular, a diferença no perfil de fragmentação teórico entre os compostos e a facilidade de ionização da amina secundária nos compostos II e III, permitiram a dedução da ordem de eluição desses componentes, assim as estruturas propostas foram relacionadas aos perfis de fragmentação experimentais encontrados na amostra. As figuras 35 a 37 apresentam as avaliações das diferenças de massas dos fragmentos

encontrados versus os fragmentos teóricos das estruturas, estas diferenças geraram erros em módulos menores que 2,0 ppm, ótimos para este tipo de experimento, ratificando as estruturas químicas propostas.

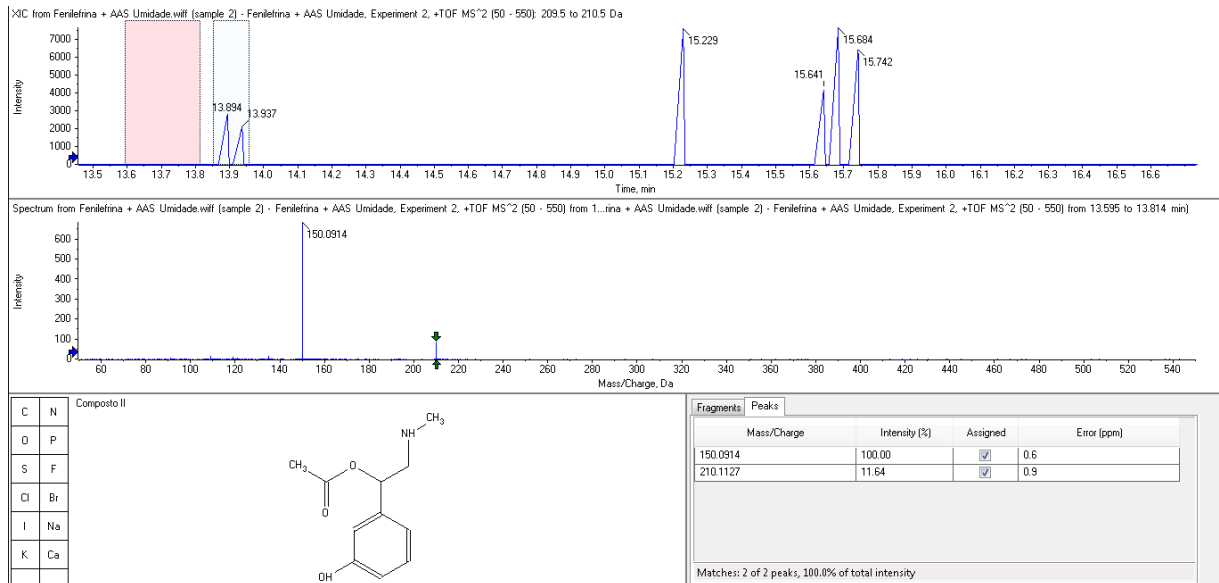


Figura 35. Avaliação do perfil de fragmentação do composto II na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

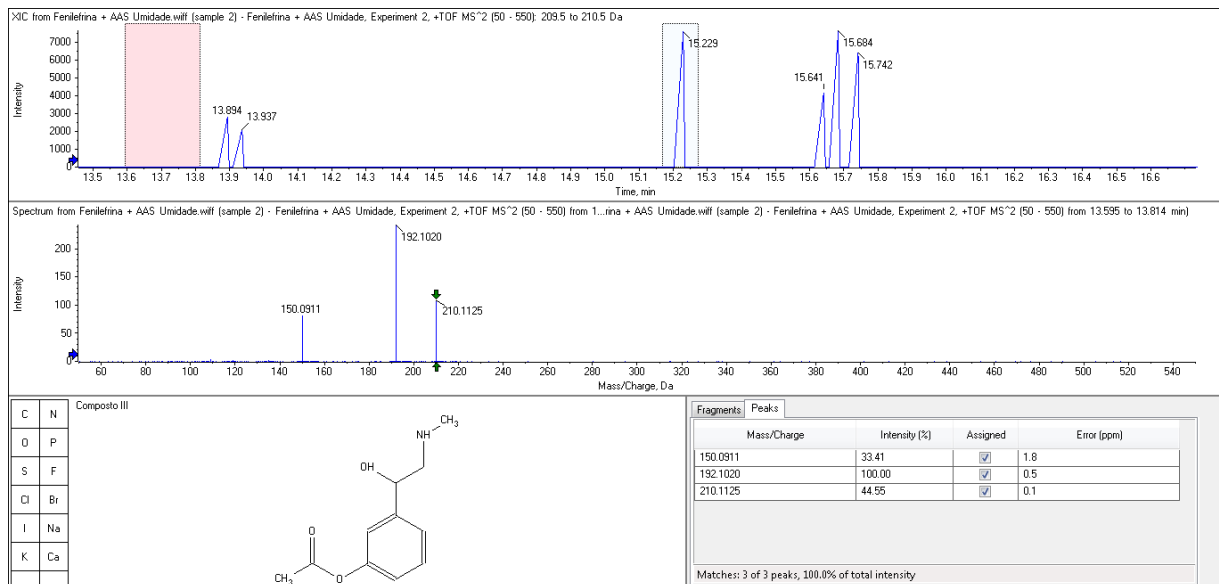


Figura 36. Avaliação do perfil de fragmentação do composto III na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

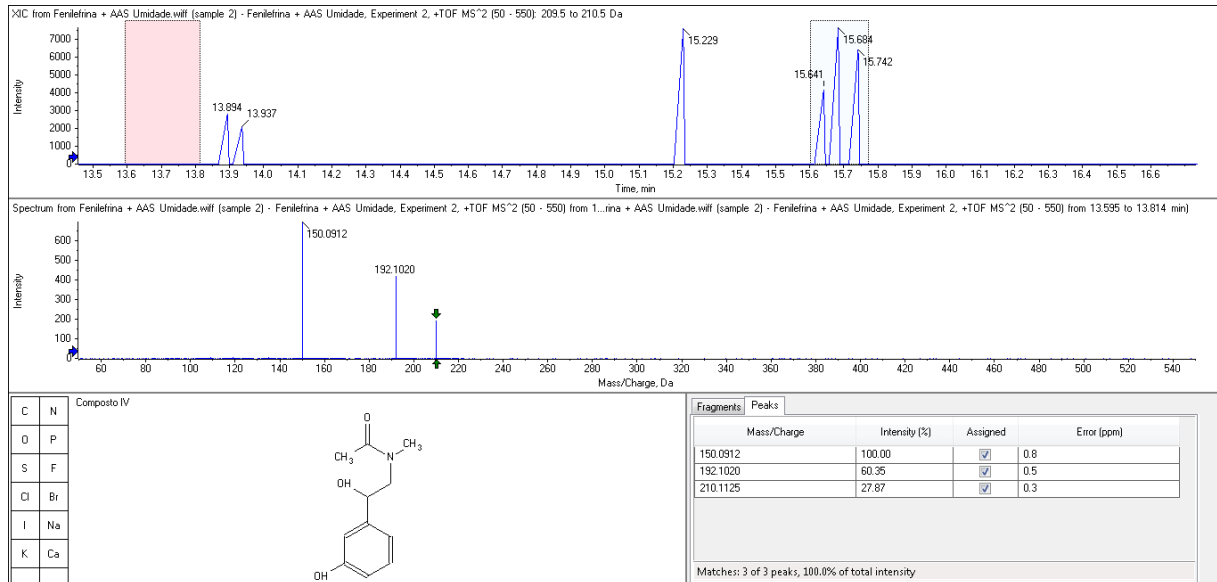


Figura 37. Avaliação do perfil de fragmentação do composto IV na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x AAS estressada por umidade.

O esquema de fragmentação dos compostos II, III e IV é apresentado na figura 38.

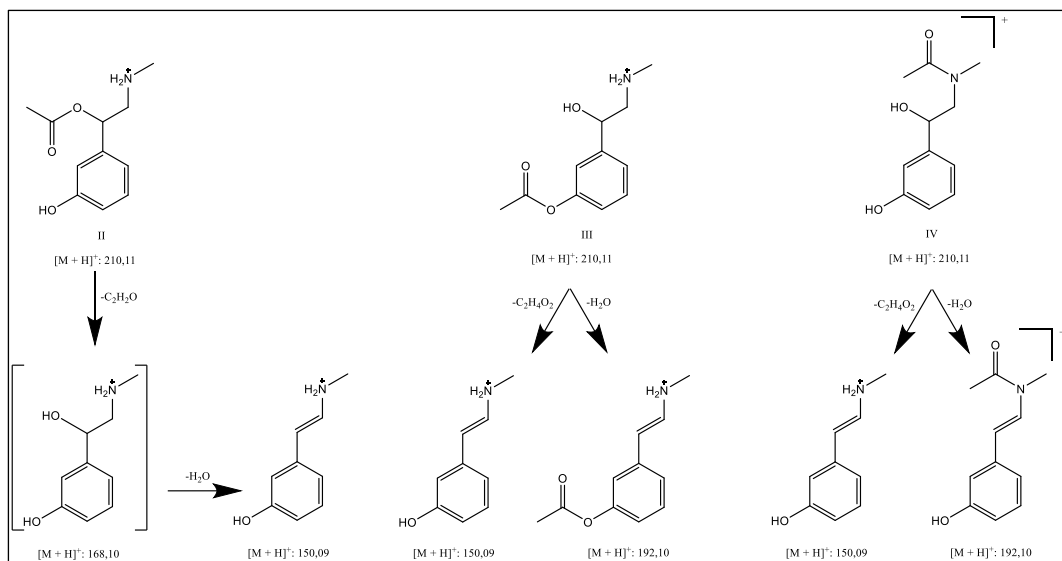


Figura 38 – Esquema de fragmentação dos compostos II, III e IV no modo positivo.

Sendo o composto IV uma amida, menos básica que os compostos II e III (aminas secundárias) e com protonação dificultada em ácidos fracos devido a presença da carboxila eletronegativa na molécula, infere-se que o mesmo, por se apresentar em seu estado neutro nas soluções empregadas nas análises, possui menor polaridade quando comparado aos compostos II e III e, por conseguinte, maior afinidade com a coluna cromatográfica utilizada, fazendo com que este composto apresente maior tempo de retenção em relação aos demais. Além disso, ao reagir-se o derivado acetilado do AAS, com a fenilefrina é esperado, e foi evidenciado, que o produto de degradação obtido em maior concentração seja o composto IV devido a maior reatividade da amina secundária em comparação à hidroxila presente no IFA.

No que diz respeito aos compostos II e III, nota-se que o composto II possui o derivado acetilado ligado à hidroxila da fenilefrina mais propensa a eliminar água após a ionização, por conseguinte não espera-se que a fragmentação do composto II apresente o fragmento  $[M+H-H_2O]^+$ , o que de fato se concretizou e, portanto, infere-se que a impureza com RT de 13,88 trata-se da estrutura nomeada neste trabalho como Composto II.

#### 6.4 Avaliação de medicamentos formulados a base de cloridrato de fenilefrina

No intuito de investigar a presença dos produtos de degradação estudados neste trabalho em medicamentos formulados a base de cloridrato de fenilefrina, foram adquiridos no comércio local oito produtos que possuem este IFA presente em suas composições. As composições qualitativas de cada um desses produtos estão descritas na Tabela 11. Com intuito de resguardar a identidade dos produtos avaliados, por falta de jurisdição para testar e divulgar os resultados obtidos, os medicamentos foram identificados como: Produtos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Durante o levantamento para aquisição destes medicamentos não foi encontrado para compra nenhum produto contendo cloridrato de fenilefrina em associação com AAS.

Tabela 11 – Composições dos medicamentos formulados a base de cloridrato de fenilefrina testados.

<b>Produto</b>	<b>Associação</b>	<b>Forma farmacêutica</b>
Produto 1	Cloridrato de fenilefrina 4 mg + maleato de clorfeniramina 4 mg + paracetamol 400 mg	Cápsulas
Produto 2	Cloridrato de fenilefrina 4 mg + maleato de clorfeniramina 4 mg + paracetamol 400 mg	Cápsulas
Produto 3	Cloridrato de fenilefrina 4 mg + maleato de clorfeniramina 4 mg + paracetamol 400 mg	Cápsulas
Produto 4	Cloridrato de fenilefrina 15 mg + maleato de bromfeniramina 12 mg	Comprimidos Revestidos
Produto 5	Cloridrato de fenilefrina 20 mg + paracetamol 400 mg	Comprimidos
Produto 6	Cloridrato de fenilefrina 20 mg + paracetamol 400 mg	Comprimidos
Produto 7	Cloridrato de fenilefrina 2 mg/mL + maleato de clorfeniramina 2 mg/mL + paracetamol 100 mg/mL	Solução Oral
Produto 8	Cloridrato de fenilefrina 2,5 mg/mL + maleato de bromfeniramina 2 mg/mL	Solução Oral

As amostras dos produtos avaliados foram preparadas diluindo-se uma quantidade dos medicamentos equivalente a 4 mg de cloridrato de fenilefrina em solução de ácido fórmico 0,1% v/v, obtendo-se uma solução de concentração de  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  de cloridrato de fenilefrina.

As avaliações dos produtos de mercado possibilitaram comprovar a presença do Composto I em três dos medicamentos testados, o percentual desta impureza, quantificado por normalização de área em relação à resposta da fenilefrina nos cromatogramas, está apresentado na Tabela 12. Nenhum outro produto de degradação abordado nesta tese foi encontrado nas amostras testadas.

Tabela 12 – Percentual do Composto I nos medicamentos testados.

Medicamento	Composto I
Produto 1	23,87%
Produto 2	5,57%
Produto 3	17,49%
Produto 4	n/d
Produto 5	n/d
Produto 6	n/d
Produto 7	n/d
Produto 8	n/d

Através dos resultados obtidos evidencia-se altos percentuais do Composto I em três dos medicamentos testados, podendo levar, inclusive, a perda de eficácia de dois deles, uma vez que a concentração de impureza encontrada nos mesmos é superior a variação aceitável de  $\pm 10\%$  para o teor do IFA em medicamentos dessa natureza [66].

### 6.5 Qualificação dos produtos de degradação elucidados

Considerando que os percentuais dos produtos de degradação evidenciados nas amostras testadas apresentam-se, em sua maioria, acima do limite de qualificação estabelecido pela RDC nº 53/2005, Tabela 10, seguiu-se com as avaliações toxicológicas destes.

Até o presente momento a revisão da literatura não aponta indicativos de que os quatro produtos de degradação identificados neste trabalho correspondam a quaisquer metabólitos do fármaco cloridrato de fenilefrina.

O cloridrato de fenilefrina não apresentou potencial carcinogênico para ratos ou para camundongos, machos e fêmeas, e tampouco é considerado um composto mutagênico ou genotóxico [58]. Com relação à toxicidade geral, a fenilefrina é uma substância ativa bem conhecida com eficácia, tolerabilidade e segurança comprovadas com base em estudos com animais e humanos [35;58]. Dados preexistentes de mutagenicidade e toxicidade geral para os produtos de degradação discutidos nesse trabalho não são relatados na literatura até esta ocasião.

Os resultados da predição *in silico* para mutagenicidade, obtidos conforme os critérios do ICH M7, estão resumidos na Tabela 13 e possibilitaram classificar as impurezas avaliadas. Os relatórios completos das predições, incluindo os mapas de probabilidades que indicam os fragmentos mais relacionados com a ausência ou presença de toxicidade, os histogramas da estatística da capacidade de detectar compostos mutagênicos conhecidos (sensibilidade), compostos não mutagênicos (especificidade) e todas as moléculas em geral (concordância) e os dados de confiança da predição, estão disponíveis no anexo IV desta tese.

Tabela 13. Resumo das predições de mutagenicidade com o Genotox-iS 3.0 e avaliação do potencial mutagênico.

Molécula	Modelo baseado em regras	Modelo baseado em estatística				Experimental	Geral
	Alertas de mutagenicidade	Random Forest	kNN	Deep Learning 3D	Consenso		
Fenilefrina	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Composto I	Neg	Neg	Neg	Neg (OOD)	Neg	-	Neg
Composto II	Neg	Neg (OOD)	Neg	Neg	Neg	-	Neg
Composto III	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	-	Neg
Composto IV	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	-	Neg

Legendas: Neg: negativo; Pos: positivo; OOD (Out of Domain): Fora do domínio de aplicabilidade.

No caso de ausência de alertas estruturais nos resultados obtidos a partir das duas metodologias, as diretrizes M7 definem que é legítimo concluir que a impureza não representa preocupação quanto ao perigo mutagênico, e não é recomendado teste complementar, a menos que seja prevista exposição crônica à impureza em nível > 1 mg/dia [52]. Esta conclusão não deve ser tomada automaticamente caso um modelo retorne resultado "indeterminado" ou "fora do domínio" [59-60].

Analisando os dados da tabela 13 constata-se que tanto o IFA quanto o composto III não apresentaram alertas de mutagenicidade nas predições baseadas em regras e em modelos estatísticos. Esse resultado vem de encontro aos dados da literatura sobre a fenilefrina além de viabilizar a categorização do composto III como não-mutagênico (ICH M7 - classe 5).

Com relação aos compostos I e II e IV, foi realizada uma busca de análogos com dados prévios de fase pré-clínica experimental ou clínica em base de dados curada, DrugBank [61], com adoção de limite de similaridade de 0,7 e congêneres similares para os compostos I e II não foram evidenciados. Alguns poucos análogos ao composto IV foram encontrados, nenhum deles, no entanto, se destacando por conter o fragmento amida terciária, dissimilar entre o composto IV e o IFA.

Os principais fragmentos dissimilares entre os compostos I, II e IV versus IFA, ácido maleico e ácido acético (precursores das impurezas provenientes da interação entre estes componentes) são apresentados na Figura 39.

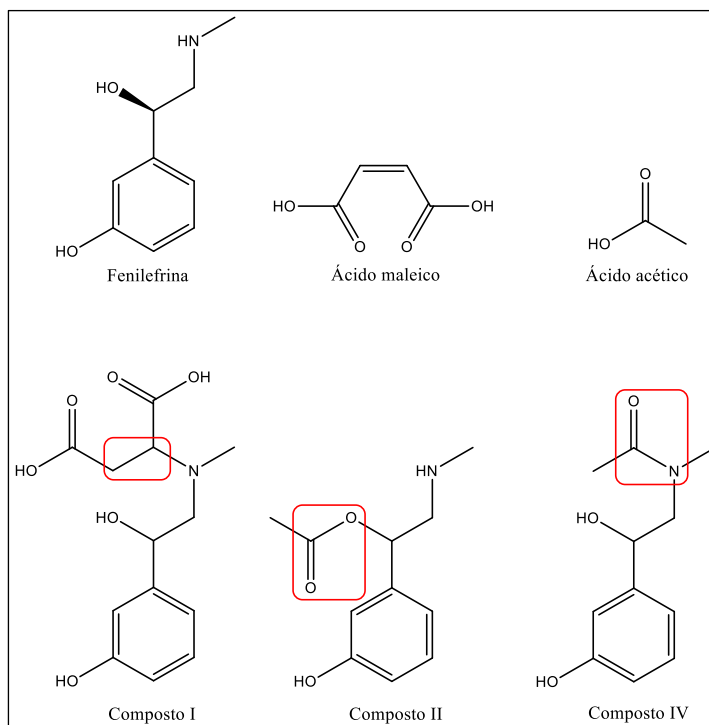


Figura 39 – Destaque dos fragmentos dissimilares, alceno, éster e amida, nos compostos I, II e IV, em relação aos seus precursores, fenilefrina, ácido maleico e ácido acético.

Conforme observado na Figura 39, a estrutura do composto I é estreitamente relacionada à fenilefrina e ao ácido succínico, sendo este diferente do ácido maleico pela ausência da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3, e a estrutura do composto II está intimamente correlacionada ao precursor ácido acético e IFA. Ressalta-se que o ácido succínico e o fragmento éster não são considerados reativos e são, inclusive, encontrados em alguns ingredientes farmacêuticos ativos (Figura 40).

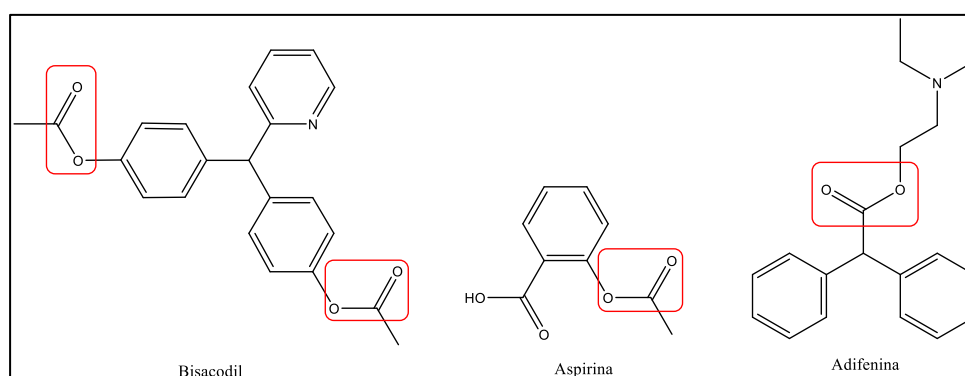


Figura 40 – Presença dos fragmentos dissimilares em outros insumos farmacêuticos ativos.

Diante dos fatos apresentados podemos inferir que para os compostos I e II, além de não apresentarem alertas estruturais, não existem evidências de preocupação toxicológica para o ácido succínico e o precursor ácido acético. Estes dois compostos são estreitamente semelhantes à fenilefrina e a seus precursores e existem fármacos análogos contendo o fragmento dissimilar éster (altamente ubíquo) considerado seguro, desta forma os compostos I e II também podem ser considerados classe 5 – Não mutagênicos.

Em relação ao composto IV, apesar de haver relatos na literatura evidenciando que derivados N-acetilados de algumas aminas simpaticomiméticas testadas, dentre elas a fenilefrina, são claramente menos tóxicos do que os compostos originários no que diz respeito à toxicidade aguda [62] e ser sabido que a acetilação faz parte do mecanismo de metabolização de alguns IFAs incluindo isoniazida, dapsona, procainamida, sulfonamidas, hidralazina e fenelezina [63], não foram evidenciados dados robustos que corroborassem para a refutação do alerta positivo gerado pelo modelo estatístico *Deep Learning 3D*.

Assim, caracteriza-se o composto IV como classe 3 (alerta estrutural, não relacionada à estrutura da substância medicamentosa, fenilefrina; sem dados de mutagenicidade) e recomenda-se, seguindo a árvore de decisão proposta pelo *Reflection paper on the qualification of non-genotoxic impurities* da *European Medicines Agency* (EMA) [64], a apresentação de testes biológicos de toxicidade *in vitro* ou *in vivo* ou garantir que a ingestão máxima diária desta impureza não ultrapasse o limiar de preocupação toxicológica (TTC) [65].

Ainda que o composto I não represente preocupação do ponto de vista toxicológico, a alta concentração do mesmo, evidenciada em três dos produtos testados, é um ponto de atenção concernente à manutenção da eficácia destes medicamentos.

## 7 CONCLUSÃO

O uso associado das técnicas DSC, TGA e DVS desempenhou um importante papel na elucidação do comportamento físico-químico do cloridrato de fenilefrina em associação com cafeína, maleato de feniramina, maleato de dexclorfeniramina, paracetamol e AAS. Os dados térmicos obtidos atestam que o cloridrato de fenilefrina é um fármaco higroscópico, fisicamente incompatível com AAS e com fármacos que possuam o maleato como contraíon, incluindo o maleato de dexclorfeniramina e o maleato de feniramina.

Através de ensaios complementares das misturas binárias estressadas, por CLAE-UV-VIS/DAD, empregando-se metodologia validada para o doseamento de fenilefrina nessas associações, foi possível confirmar os resultados observados pelas análises térmicas e evidenciar um decréscimo significativo na concentração da fenilefrina quando associada com maleatos de dexclorfeniramina e de feniramina sob temperatura e umidade e com AAS sob umidade. Os resultados obtidos indicaram ainda que a fenilefrina não apresenta incompatibilidade com cafeína e paracetamol.

A investigação das amostras degradadas empregando-se CLAE/EMAR foi crucial e permitiu elucidar as estruturas de quatro produtos de degradação formados, denominados neste

trabalho como compostos I, II, III e IV, dos quais apenas os compostos I e IV são relatados na literatura, no entanto, sem menção para a toxicidade dos mesmos.

Os produtos de degradação detectados foram qualificados *in silico* de acordo com as prerrogativas do guia ICH M7, e categorizados como classe 5 (não mutagênicos): compostos I, II e III e classe 3 (alerta estrutural, não relacionada à estrutura da substância medicamentosa; sem dados de mutagenicidade): composto IV.

Medicamentos comercialmente disponíveis foram testados quanto a presença dos produtos de degradação descritos neste trabalho, em três dos medicamentos investigados observou-se a presença de altas concentrações do Composto I, podendo levar, inclusive, a problemas de eficácia dos produtos, uma vez que o percentual de Composto I evidenciado em dois deles está acima da variação máxima permitida para o cloridrato de fenilefrina em produtos desta natureza.

Por fim, em vista dos dados apresentados, destaca-se a inegável incompatibilidade da fenilefrina com maleatos e com AAS, originando quatro produtos de degradação, dos quais três não possuem indícios de fatores de preocupação toxicológica ou alertas que representem um risco para a saúde dos consumidores, podendo ser tratados como impurezas ordinárias.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fenilefrin®: cloridrato de fenilefrina solução injetável. Farmacêutico responsável: Dr. José Carlos Módolo. Itapira - SP: Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, 2021. Bula de remédio.
2. Dib S. A. Stability of Phenylephrine Hydrochloride in Polyvinyl Chloride Bags. Thesis Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science in the Graduate School of The Ohio State University. Ohio, 2019.
3. Skubas, N., Barner, H.B., Apostolidou, I. and Lappas, D.G. Phenylephrine to increase blood flow in the radial artery used as a coronary bypass conduit. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 130(3), p. 687-692, 2005.
4. Kee, W.D.N., Khaw, K.S. and Ng, F.F. Prevention of Hypotension during Spinal Anesthesia for Cesarean Delivery An Effective Technique Using Combination Phenylephrine Infusion and Crystalloid Cohydration. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 103(4), p. 744-750, 2005.
5. Schroeder, R.A., Collins, B.H., Tuttle-Newhall, E., Robertson, K., Plotkin, J., Johnson, L.B. and Kuo, P.C. Intraoperative fluid management during orthotopic liver transplantation. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 18(4), p. 438-441, 2004.
6. Loughrey, J.P.R., Yao, N., Datta, S., Segal, S., Pian-Smith, M. and Tsen, L.C. Hemodynamic effects of spinal anesthesia and simultaneous intravenous bolus of combined phenylephrine and ephedrine versus ephedrine for cesarean delivery. *International journal of obstetric anesthesia*, 14(1), p. 43-47, 2005.
7. Kollar C., Schneider H., Waksman J., et al. Meta-analysis of the efficacy of a single dose of phenylephrine 10 mg compared with placebo in adults with acute nasal congestion due to the common cold. *Clin. Ther.* 29(6), p. 1057-70, 2007.
8. Phenylephrine package insert. Boucherville, QC, Canada: Sandoz Canada Inc.; Jan, 2011.
9. Martindale. *The Complete Drug Reference*. 34th Edition. London. Pharmaceutical Press, p. 1672-1674, 2014.
10. Krishnaji, U. B., Adla, M. R. A process for synthesis of phenylephrine hydrochloride. IN201741038850 A 2019-05-03. India, 2019.
11. Srinivas N. R. Phenylephrine Pharmacokinetics and First-Pass Metabolism: What Is an Ideal Pharmacokinetic Surrogate? *Clin Drug Investig* vol. 35, p. 851–853, 2015.
12. *Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(s)*. Phenylephrine hydrochloride, USP. NDA 203826. Application Number: 203826Orig1s000, 2012.
13. Gelotte, C. K., Zimmerman B. A. Pharmacokinetics, Safety, and Cardiovascular Tolerability of Phenylephrine HCl 10, 20, and 30 mg After a Single Oral Administration in Healthy Volunteers. *Clin Drug Investig* vol. 35, p. 547–558.
14. ANVISA. Consulta de Medicamentos Regularizados. Busca por Princípio Ativo: Cloridrato de Fenilefrina, Monodroga: não, Situação do Registro: Válido. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>, acessado em 13/07/2022.

15. Phenylephrine, disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00388>. Acessado em 11 de agosto de 2022
16. Troup A. E., Mitchner H. Degradation of phenylephrine hydrochloride in tablet formulations containing aspirin, *J. Pharm. Sci.* 53, p. 375–379, 1964.
17. I. Wouters, E. Roets, J. Hoogmartens, Analysis of tablets containing acetylsalicylic acid and phenylephrine by high-performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 2, p. 481–490, 1984.
18. A. Marin, A. Espada, P. Vidal, C. Barbas, Major degradation product identified in several pharmaceutical formulations against the common cold, *Anal. Chem.* 77, p. 471–477, 2005.
19. J. Wong, L. Wiseman, S. Al-Mamoon, T. Cooper, L.-K. Zhang, T.-M. Chan, Major degradation product identified in several pharmaceutical formulations Against the common cold, *Anal. Chem.* 78, p. 7891–7895, 2006.
20. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Registro de Novas Associações em Dose Fixa. Brasília, Anvisa, 20 p., 2010.
21. Siew A. Fixed-Dose Combinations. *Pharmaceutical Technology*, 39 (12), p. 30-31, 2015.
22. BORTOLOTTI, L.A. Bases farmacológicas para a associação fixa de drogas. *Revista Brasileira de Hipertensão*, vol. 10, n. 4, p. 260-264, 2003.
23. Ugurlu T., Ozaydin T. An Overview on Fixed Dose Combinations. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovation*, 02 (09), p. 75-81, 2014.
24. The United States Pharmacopeia. Description and Relative Solubility. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention; 2021. DocId: 1\_GUID-E124FC65-4846-4731-BB90-913D6A16ED31\_15\_en-US.
25. PUBCHEM (2021). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenylephrine-hydrochloride>. Acessado em 31 de outubro de 2021.
26. CHEMSPIDER (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5877.html>, acessado em 31 de outubro de 2021.
27. CHEMICALIZE. Disponível em: <https://chemicalize.com/app/calculation/phenylephrine>, acessado em: 31 de outubro de 2021.
28. BHADURI D., SAHA N. N., DATTA GUPTA J. K. e MEYER JR E. F. Structure of an Adrenergic Drug: L-Phenylephrine Hydrochloride,  $C_9H_{14}NO_2^+ \cdot Cl^-$ . *Acta Cryst.* C39, p. 350-353, 1983.
29. Fischer J, Ganellin CR. Analogue-based Drug Discovery. John Wiley & Sons. p. 541, 2006.
30. Eccles R. Substitution of phenylephrine for pseudoephedrine as a nasal decongestant. An illogical way to control methamphetamine abuse. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 63:10-4, 2007.
31. Baertschi, S. W.; Alsante, K. M.; Reed, R. A.; Pharmaceutical stress testing: predicting drug degradation, 2° ed., Informa Healthcare: London, 2005.

32. FIESE, E.F., HAGEN, T.A. Pré-formulação. In. LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, vol. 2, p.651-683, 2001.
33. ARAÚJO, A.A.S.; STORPIRTIS, S.; MERCURI, L.P.; CARVALHO, F.M.S.; SANTOS FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal analysis of the antiretroviral Zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 206, p.303-314, 2003.
34. OLIVEIRA, G.G.G., FERRAZ, H.G., MATOS, J.R. Thermoanalytical study of Glibenclamide and excipient. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 79, p.267-270, 2005.
35. NETO, H. S. Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente e estabilidade do prednicarbato por meio de técnicas termoanalíticas e encapsulação do fármaco em sílica mesoporosa do tipo SBA – 15. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2010.
36. Bharate, S. S.; Bharate, S. B.; Bajaj, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.*, vol. 1, p. 3, 2010.
37. ICH - International Conference on Harmonization. Q3B(R2) Guideline: Impurities in New Drug Products (step 4 version), 2006. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acessado em: 31 de dezembro de 2021.
38. ICH - International Conference on Harmonization. Q3A(R2) Guideline: Impurities in New Drug Substances (step 4 version), 2006. Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acessado em: 31 de dezembro de 2021.
39. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 53 de 04 de dezembro de 2015 - Estabelece 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, e dá outras providências. DOU, Brasília, DF, 08 de dezembro de 2015.
40. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Meeting (2004: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: thirty-ninth report. World Health Organization, p. 139. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43157>. Acessado em: 31 de dezembro de 2021.
41. IONASHIRO, M.A.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. *Cerâmica*, 26(121), 17-24, 1980.
42. GIOLITO, I.; IONASHIRO, M. A nomenclatura em análise térmica – parte II. *Cerâmica*, 34(225), 163-164, 1988.
43. Stulzer H. K.; Rodrigues P. O.; Cardoso T. M.; Matos J. S. R. and Silva M. A. S. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations. *J. Therm. Anal. Cal.*, 91, 2008.

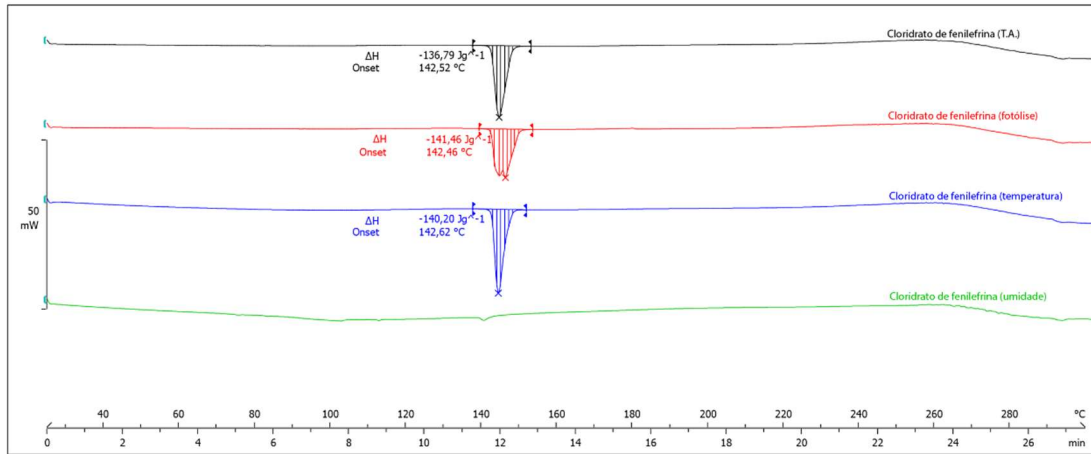
44. ALVES, R. Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose. Tese de Mestrado – Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007.
45. Abdelkadera A., Fathia H. A., Hamadb M. A. e Elsabahy M. Nanomedicine: a new paradigm to overcome drug incompatibilities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72, p. 1289–1305, 2020.
46. Botha S. A., Lotter A. P. e du Preez J. L. Dsc Screening for Drug-Drug Interactions in Polypharmaceuticals Intended for the Alleviation of the Symptoms of Colds and Flu. II. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 13 (2), p. 345-354, 1987.
47. Bhutani H., Singh S. e Jindal K. C. Drug-Drug Interaction Studies on First-Line Anti-tuberculosis Drugs. *Pharmaceutical Development and Technology*, 10, p. 517–524, 2005.
48. Rao, N. R., Nagaraju V. An overview of the recent trends in development of HPLC methods for determination of impurities in drugs. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 33(3):335-77, 2003.
49. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Perguntas & Respostas - Assunto: Fluxo de análise de qualificação de impurezas e produtos de degradação de medicamentos classificados como sintéticos e semissintéticos. 1º edição. Brasília, DF, 18 de julho de 2019.
50. ICH - International Conference on Harmonization. Q3C(R8) Guideline: Impurities: Guideline for Residual Solvents (step 4 version). 2021. Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_Q3C-R8\\_Guideline\\_Step4\\_2021\\_0422\\_1.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q3C-R8_Guideline_Step4_2021_0422_1.pdf). Acessado em: 01 de janeiro de 2022.
51. EMA - European Medicines Agency. Guideline on Setting Specifications for Related Impurities in Antibiotics. Committee For Medicinal Products For Human Use (CHMP). 2013. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/adopted-guideline-setting-specifications-related-impurities-antibiotics\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/adopted-guideline-setting-specifications-related-impurities-antibiotics_en.pdf). Acessado em: 01 de janeiro de 2022.
52. ICH - International Conference on Harmonisation. M7(R1) Guideline: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (step 4 version), 2017. Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/M7\\_R1\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf). Acessado em: 01 de janeiro de 2022.
53. Naldecon Noite®: paracetamol + cloridrato de fenilefrina / paracetamol + maleato de carbinoxamina comprimidos. Responsável Técnico: Fabiana Seung Ji de Queiroz. São Paulo - SP: Reckitt Benckiser (Brasil) LTDA, 2020. Bula de remédio.
54. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 166 de 24 de julho de 2017 - Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências, DOU, Brasília, DF, 25 de julho de 2017.
55. Suyagh, M.F., Iheagwaram, G., Kole, P.L., Millership, J., Collier, P., Halliday, H. and McElnay, J.C. Development and validation of a dried blood spot–HPLC assay for the determination of metronidazole in neonatal whole blood samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(2), p. 687-693, 2010.

56. Stevenson, D. Bioanalysis through the ages. *Bioanalysis*, 3(24), p. 2681-2683, 2011.
57. Breidinger, S. e Woolf, E. Regulated Bioanalysis - Historical Aspects and Key Concepts Related to Its Use. Em *Regulated Bioanalysis: Fundamentals and Practice*, Springer International Publishing, p. 87-102, 2017.
58. Public Assessment Report, Scientific discussion. Fenylefrine Added Pharma 50 microgram/ml and 100 microgram/ml, solution for injection (phenylephrine hydrochloride), 2018. Disponível em: <https://www.geneesmiddeleninformatiebank.nl/pars/h117234.pdf>. Acessado em: 05 de janeiro de 2022.
59. Barber C. et al. Establishing best practise in the application of expert review of mutagenicity under ICH M7. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 73, p. 367-377, 2015.
60. Matos dos Santos, C. E. Paiva, F. C. R. Dorta, D. J. Oliveira D. P. A preliminary assessment of pregabalin lactam mutagenicity and remarks on “An investigation of pregabalin lactamization process and effect of various pH on reaction: A computational insight”. *Journal of Molecular Structure* vol. 1246, 2021.
61. Drugbank Online Powered by ChemAxon, disponível em: <https://go.drugbank.com/>. Acessado em 06 de janeiro de 2022.
62. Marvola M. Effect of Acetylated Derivatives of some Sympathomimetic Amines on the Acute Toxicity, Locomotor Activity and Barbiturate Anaesthesia Time in Mice. *Acta pharmacol. et toxicol.*, vol. 38, p. 474-489, 1976.
63. Flockhart D. A. and Desta Z. Pharmacogenetics of Drug Metabolism. In: Robertson D. and Williams G. *Clinical and Translational Science Principles of Human Research*. 1st Edition - December 15, 2008.
64. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Reflection paper on the qualification of non-genotoxic impurities. November, 2018.
65. Cramer, G. M., Ford, R. A., Hall, R. L. Estimation of toxic hazard - A decision tree approach. *Food And Cosmetics Toxicology*, v. 16, n. 3, p. 255-276, 1976.
66. Phenylephrine Hydrochloride Tablets Monograph. The United States Pharmacopoeia, Rockville, MD. DocId: GUID-7BA226F9-BE14-4580-B4D2-9F8F9F227815\_2\_en-US, 2022.

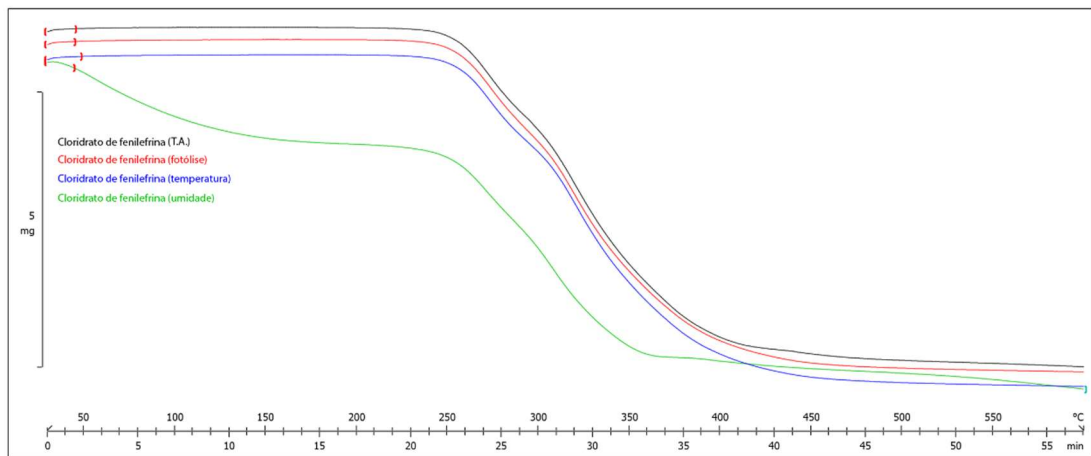
**ANEXO I**  
**CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) E**  
**TERMOGRAVIMETRIA (TG)**

## Avaliação dos ativos isolados quando submetidos às condições de estresse

- Cloridrato de fenilefrina

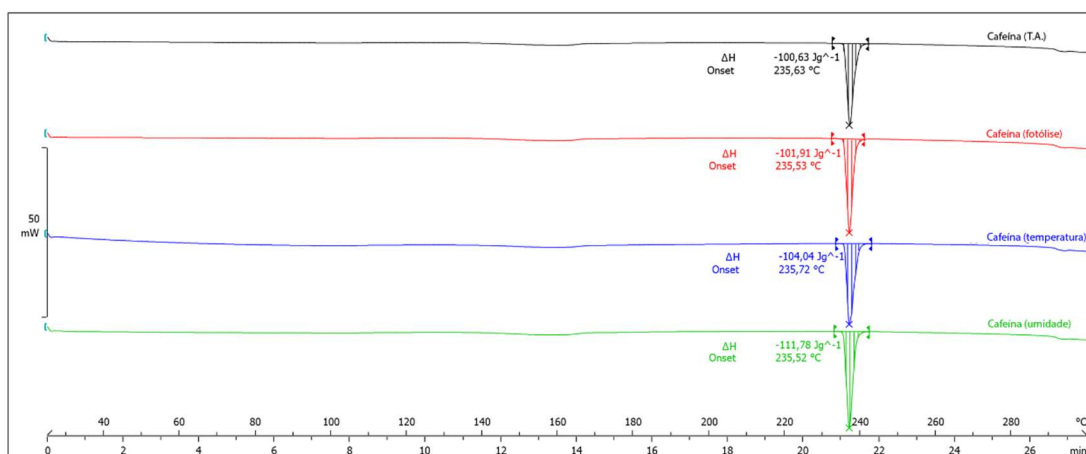


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para o cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.

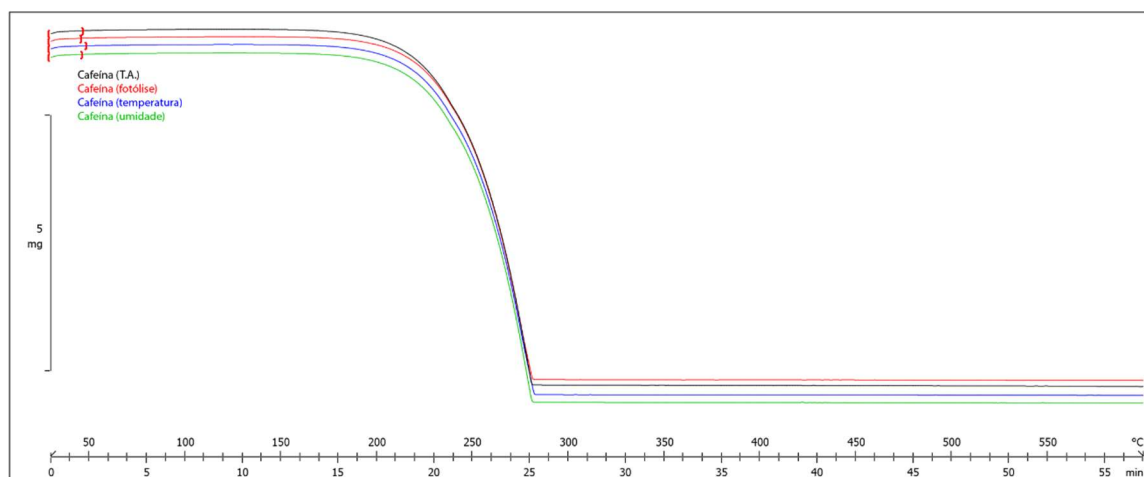


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para o cloridrato de fenilefrina em diferentes condições de estresse.

- Cafeína

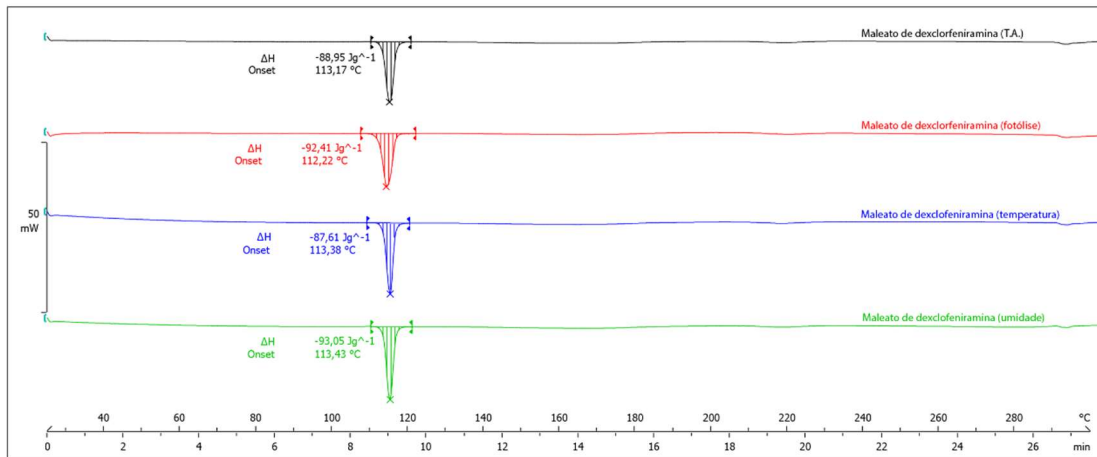


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a cafeína em diferentes condições de estresse.

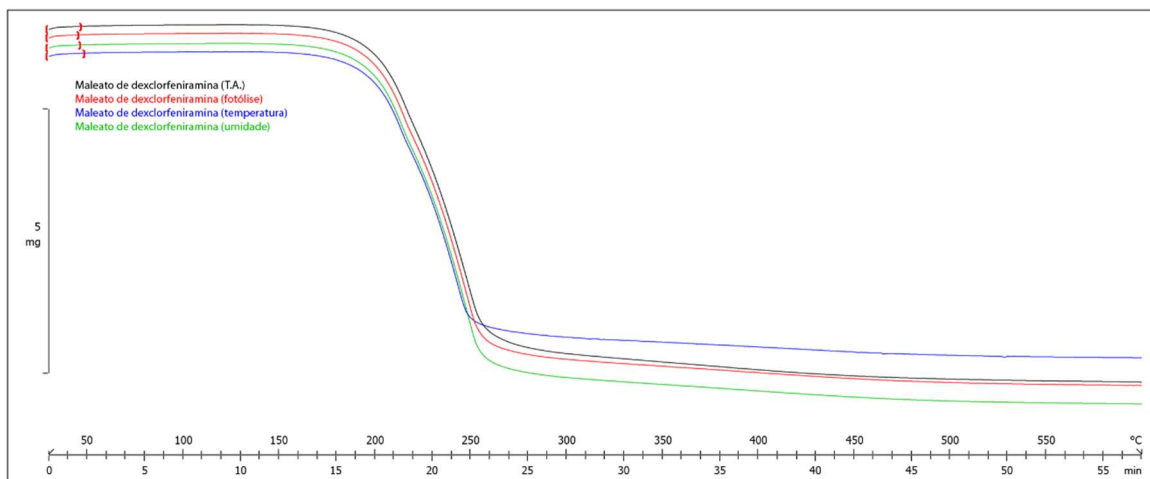


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a cafeína em diferentes condições de estresse.

- Maleato de dexclorfeniramina

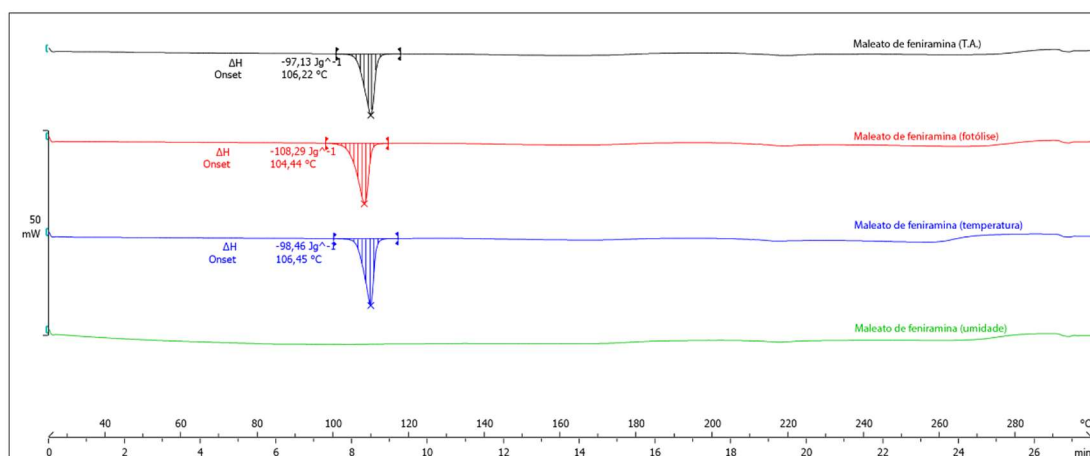


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para o maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

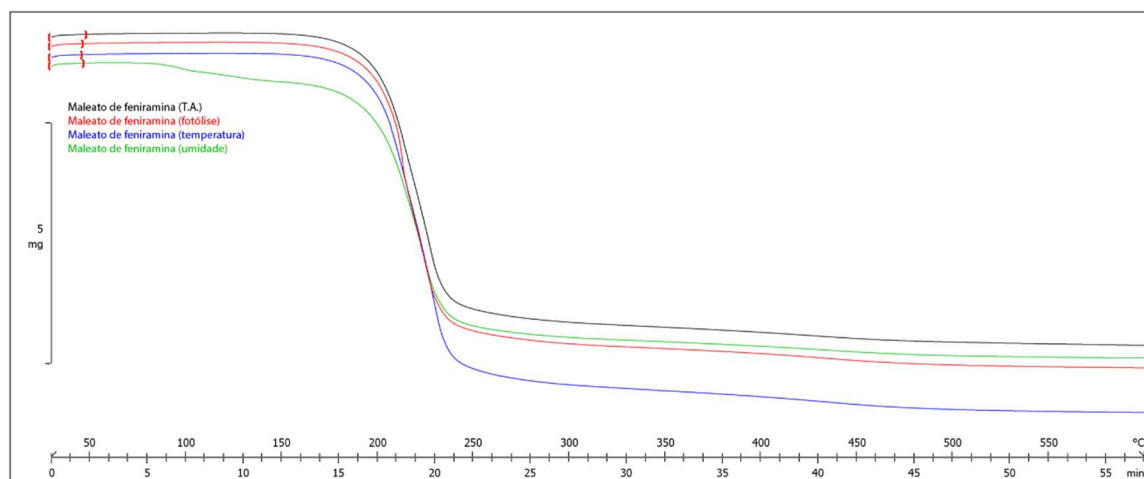


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para o maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

- Maleato de feniramina

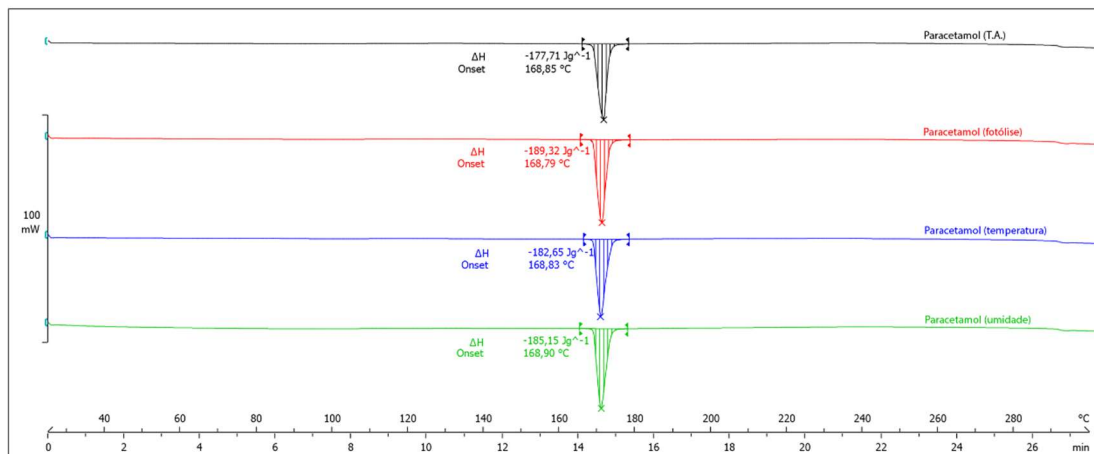


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para o maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

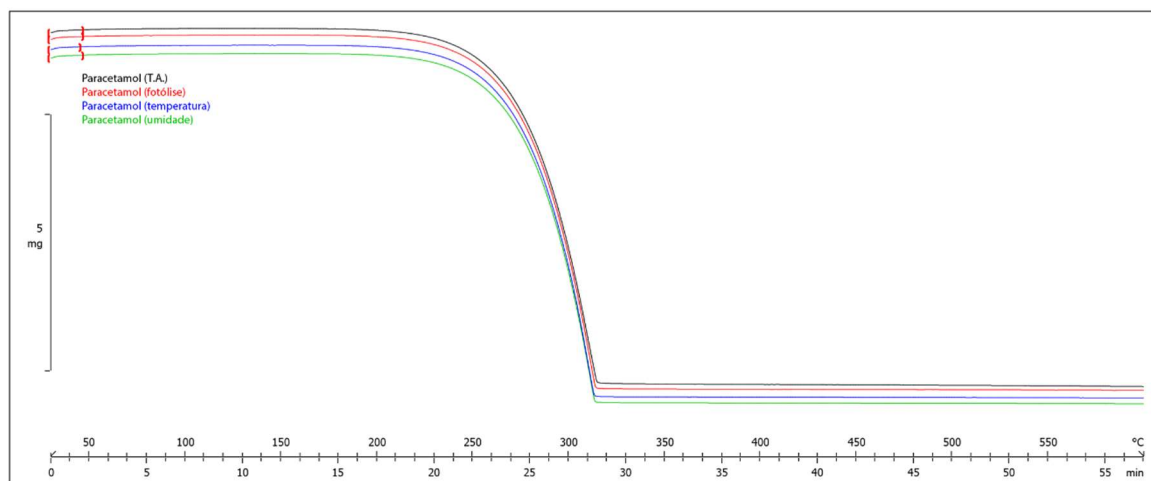


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para o maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

- Paracetamol

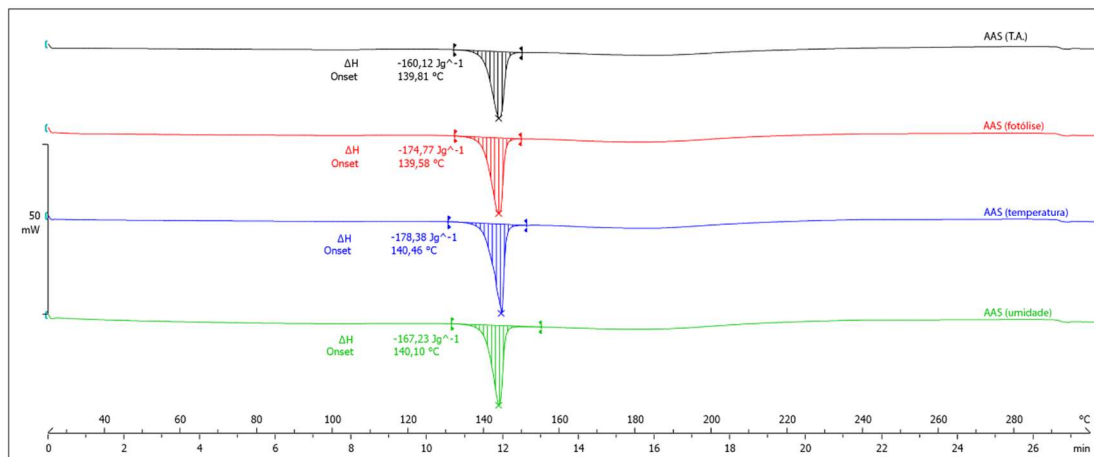


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para o paracetamol em diferentes condições de estresse.

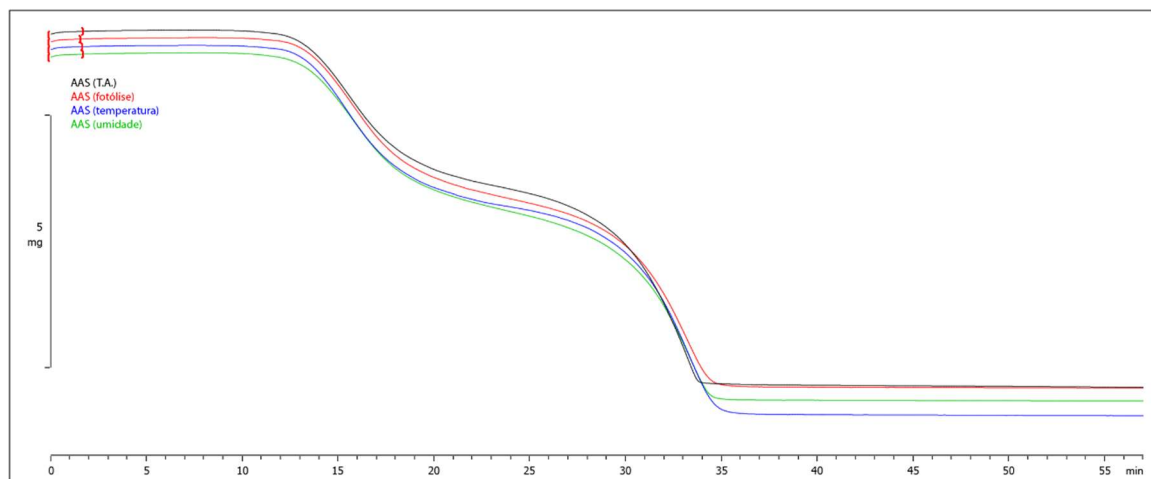


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para o paracetamol em diferentes condições de estresse.

- AAS



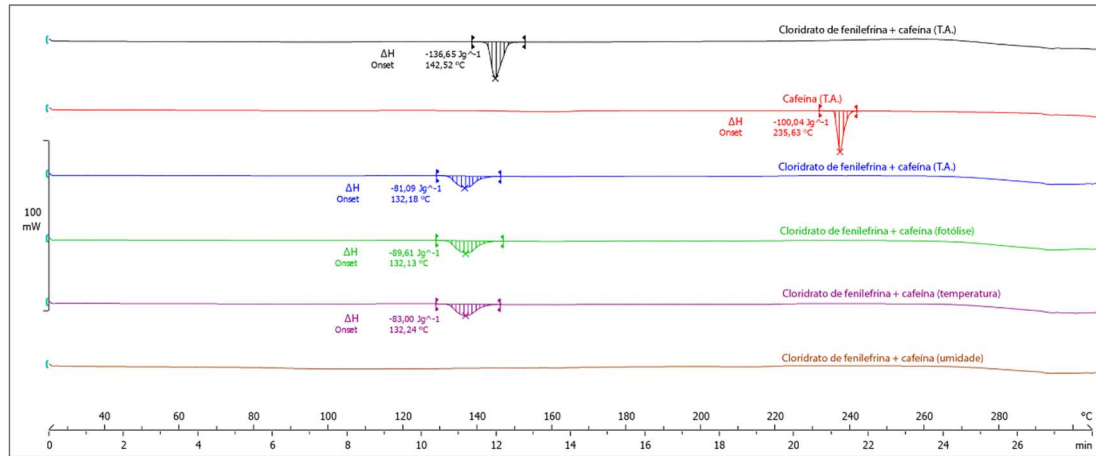
Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para o AAS em diferentes condições de estresse.



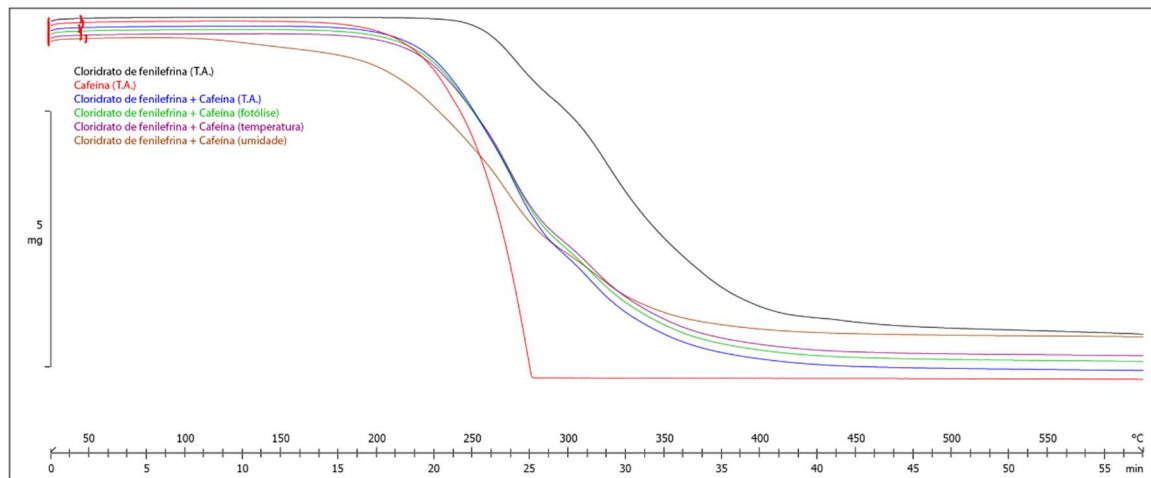
Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para o AAS em diferentes condições de estresse.

## Avaliação das misturas binárias fármaco-fármaco

- Cloridrato de fenilefrina x cafeína

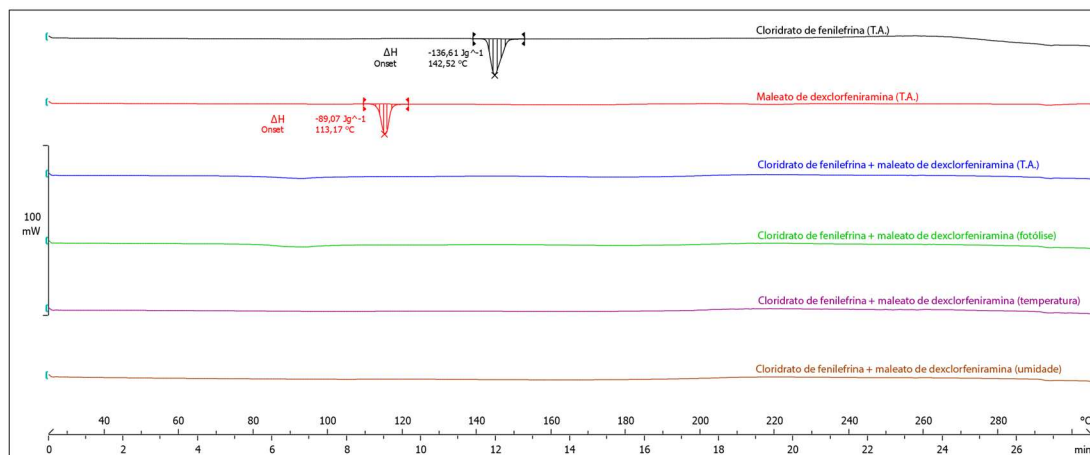


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a associação de cloridrato de fenilefrina x cafeína em diferentes condições de estresse.

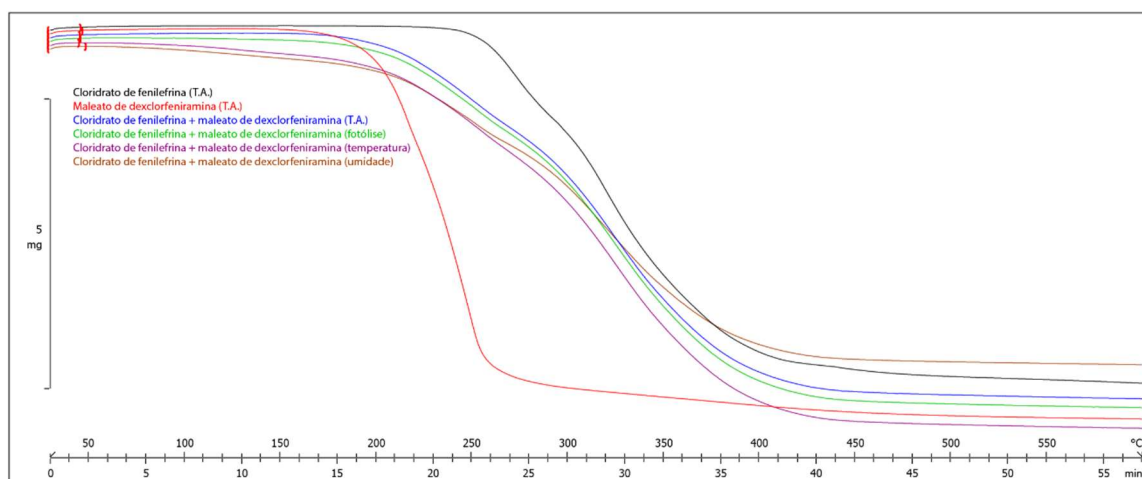


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a associação de cloridrato de fenilefrina x cafeína em diferentes condições de estresse.

- Cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina

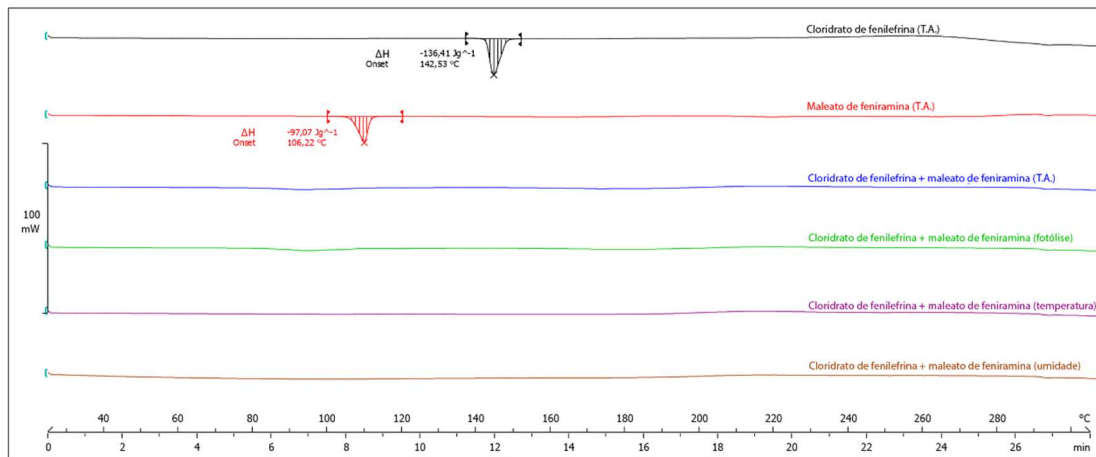


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

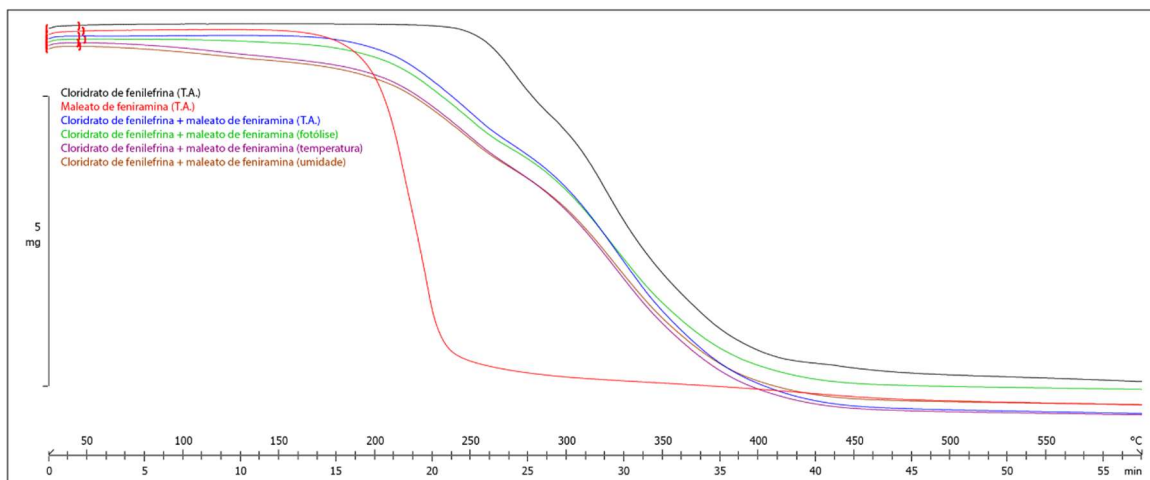


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina em diferentes condições de estresse.

- Cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina

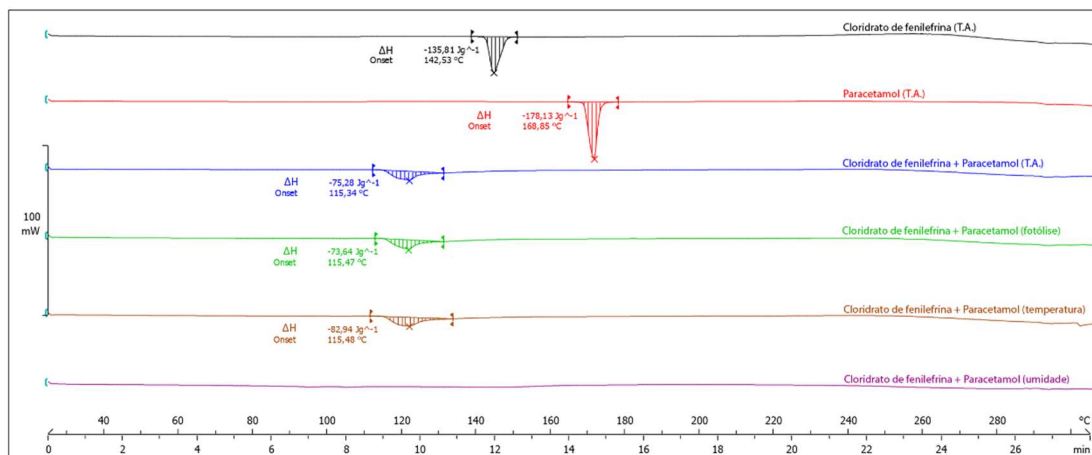


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

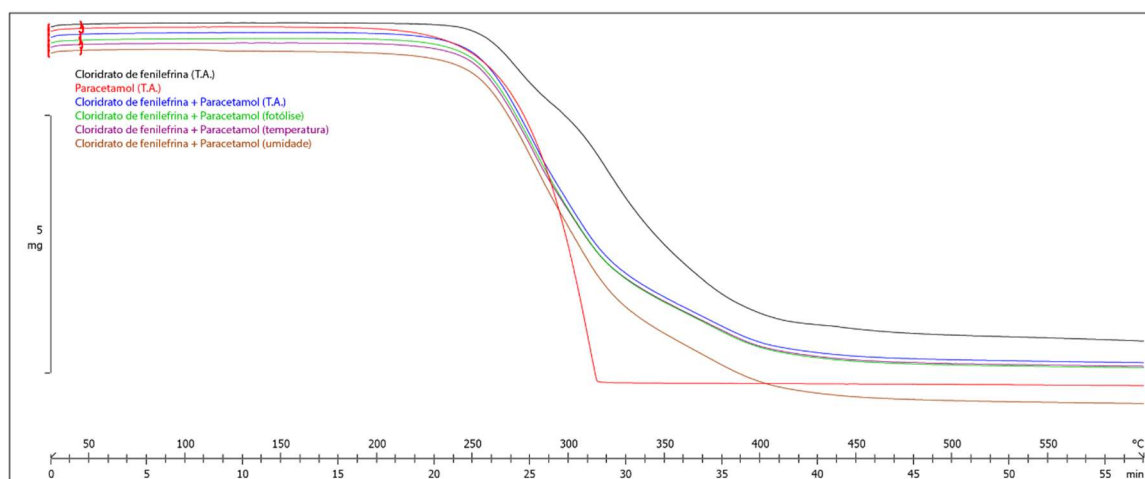


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a associação de cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina em diferentes condições de estresse.

- Cloridrato de fenilefrina x paracetamol

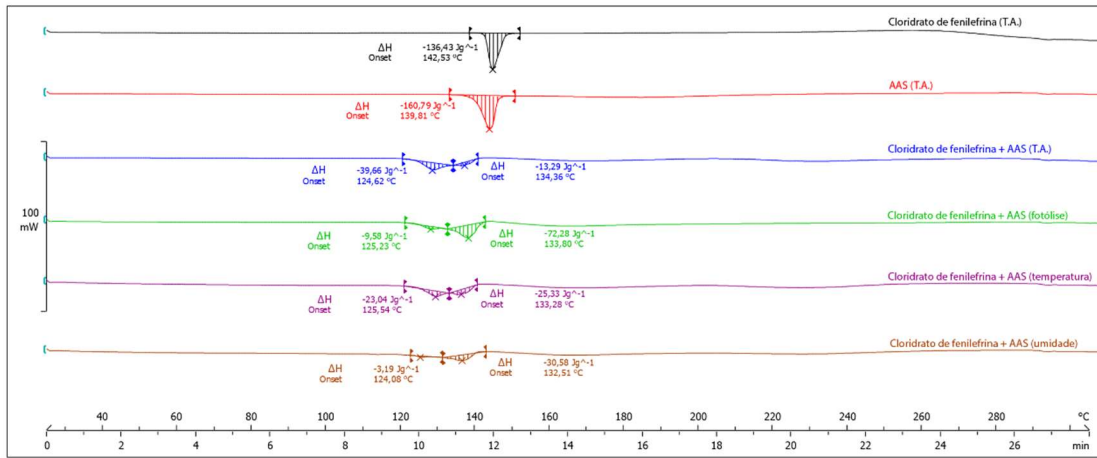


Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a associação de cloridrato de fenilefrina x paracetamol em diferentes condições de estresse.

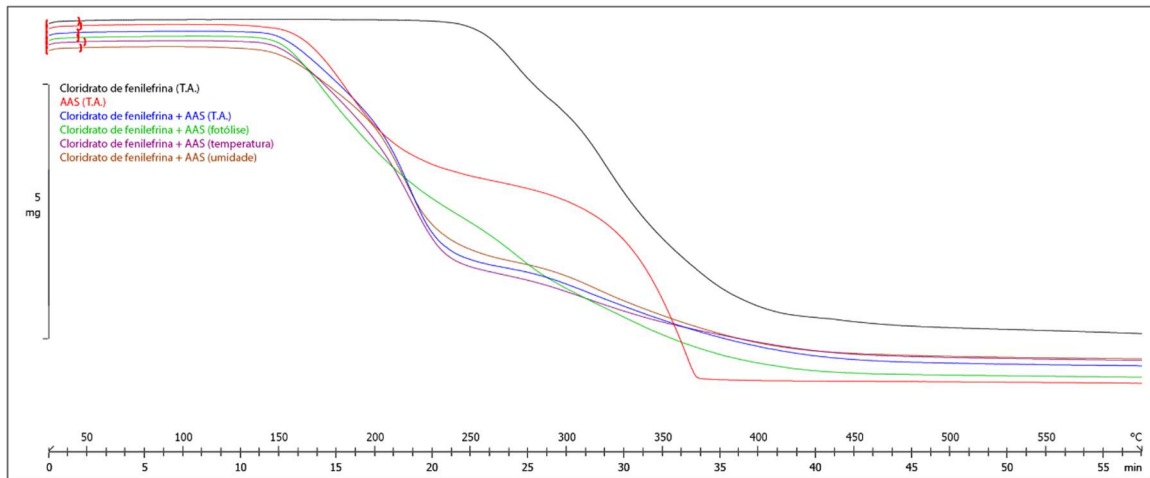


Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a associação de cloridrato de fenilefrina x paracetamol em diferentes condições de estresse.

- Cloridrato de fenilefrina x AAS



Sobreposição dos termogramas obtidos em DSC para a associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse.



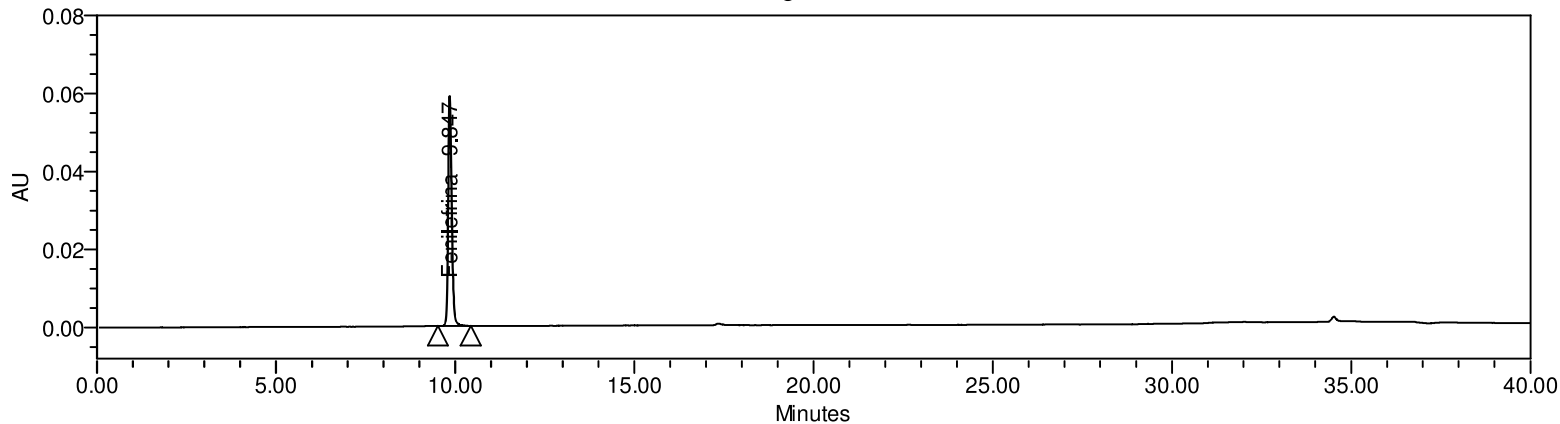
Sobreposição dos termogramas obtidos em TGA para a associação de cloridrato de fenilefrina x AAS em diferentes condições de estresse.

**ANEXO II**

**VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA - CROMATOGRAMAS OBTIDOS  
POR CLAE/UV-VIS/DAD**

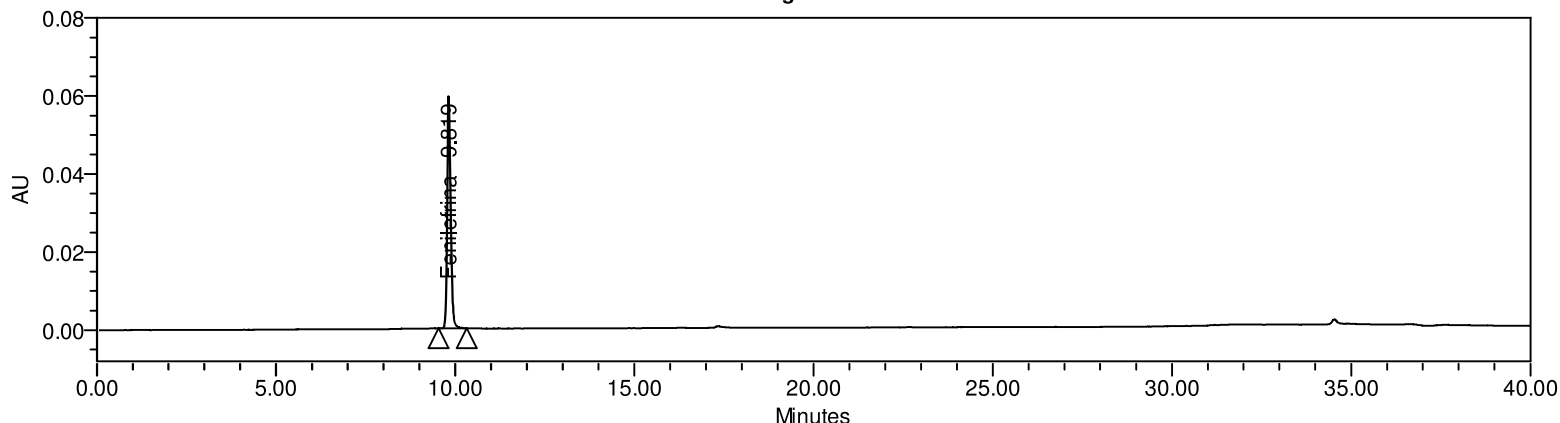
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



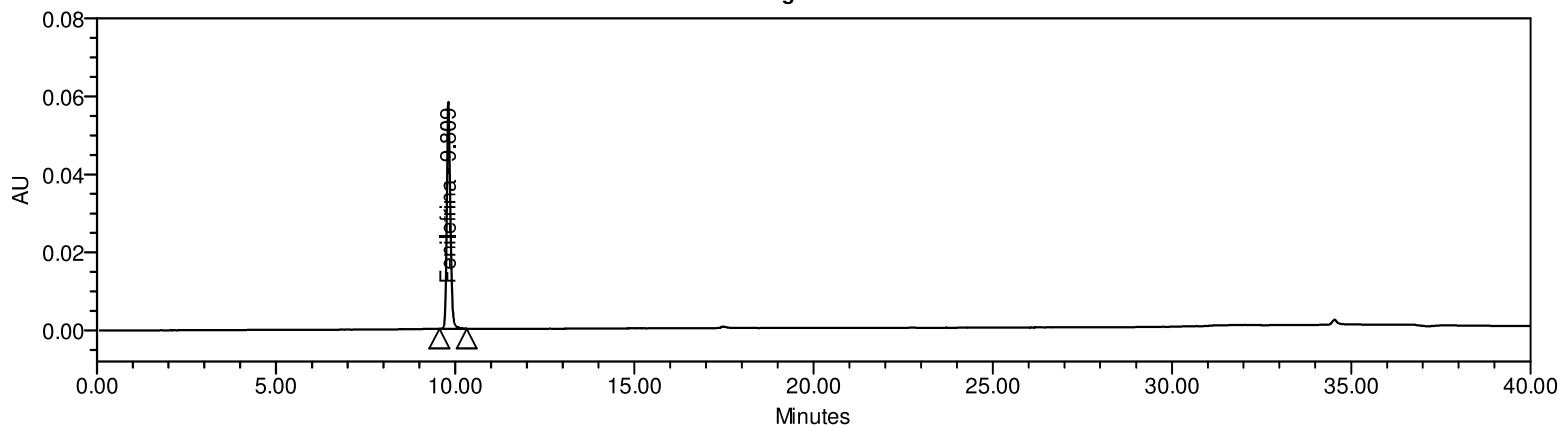
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:55 AM GMT+3; Result Id 69335

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:58 AM GMT+3; Result Id 69338

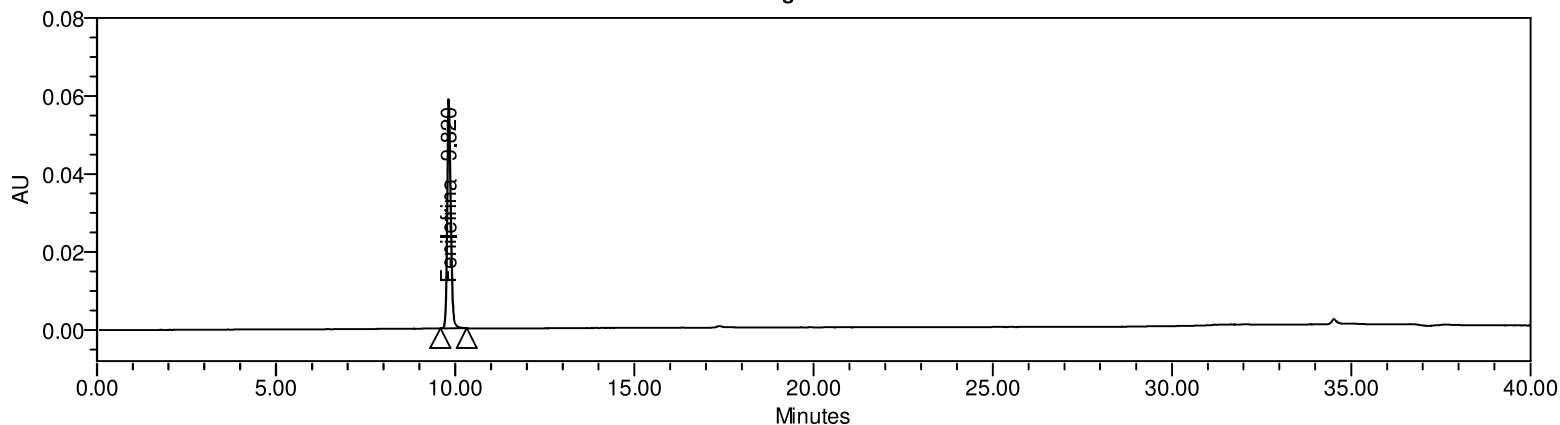
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:59 AM GMT+3; Result Id 69339

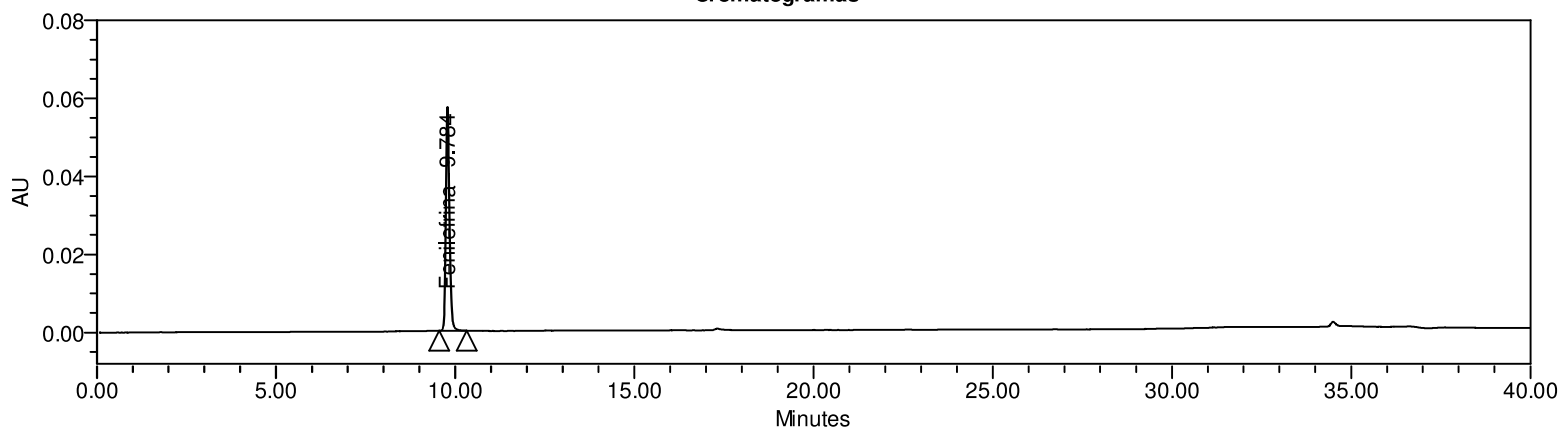
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



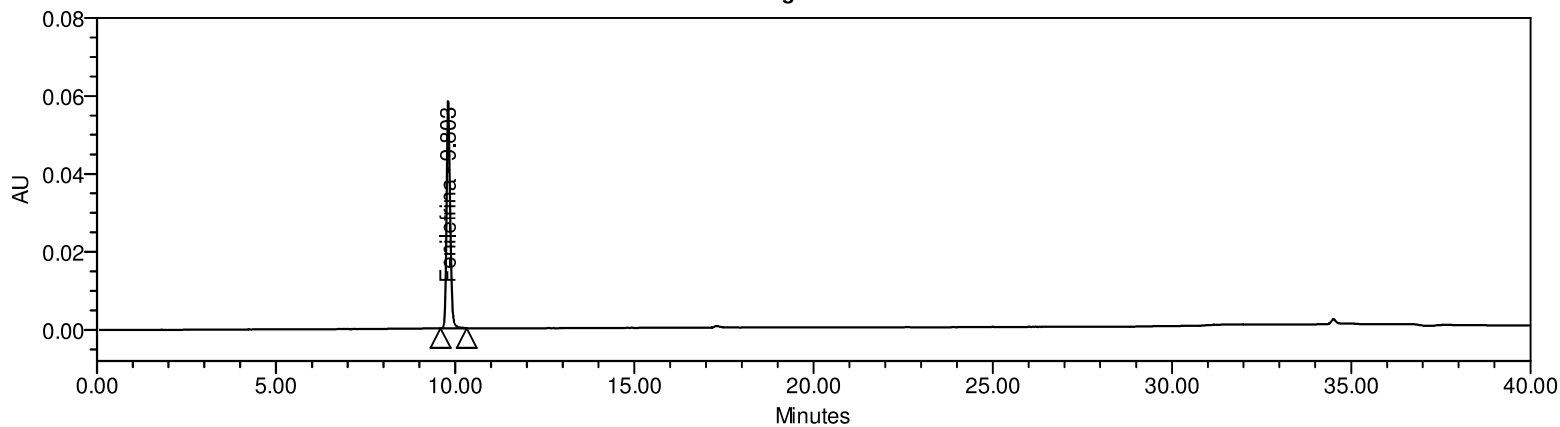
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:01 AM GMT+3; Result Id 69340

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:04 AM GMT+3; Result Id 69341

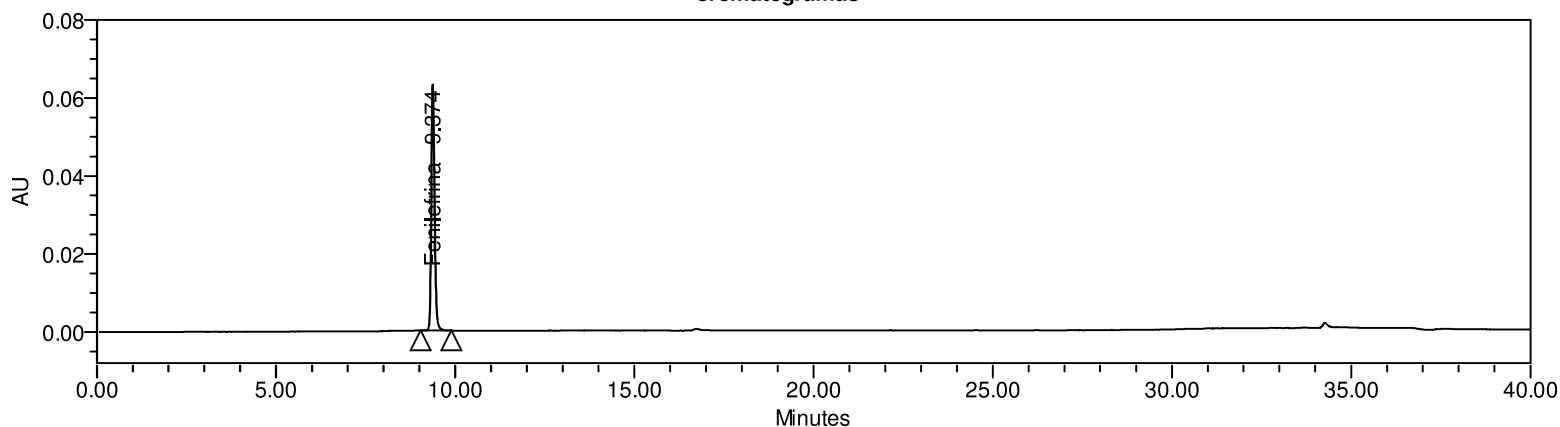
Cromatogramas



Vial 1:A,2; SampleName PD\_100%\_Check; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:51:46 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:08 AM GMT+3; Result Id 69342

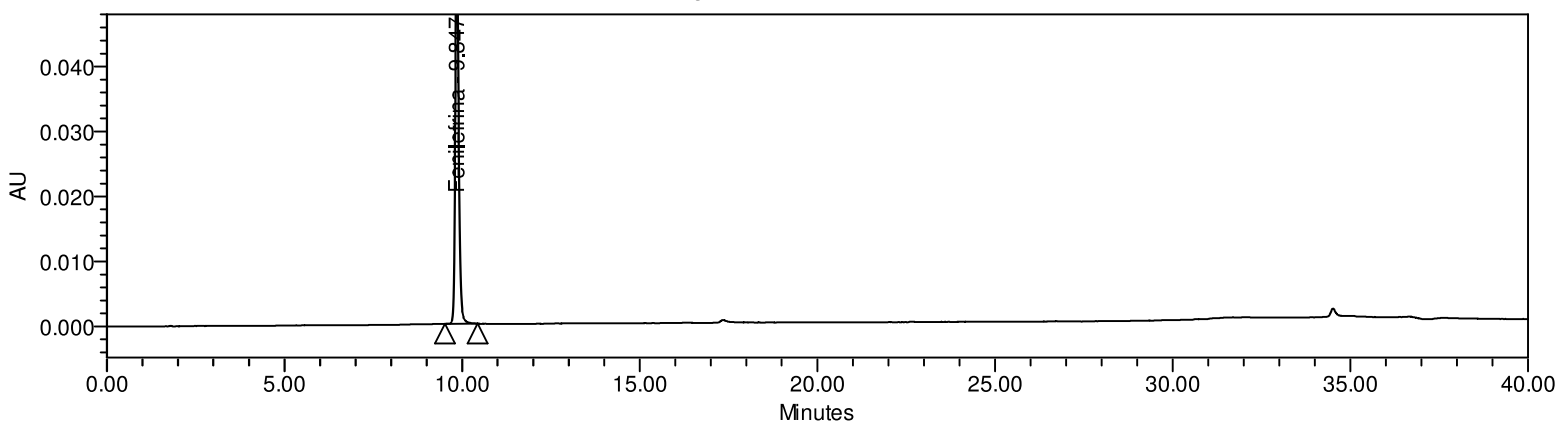
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



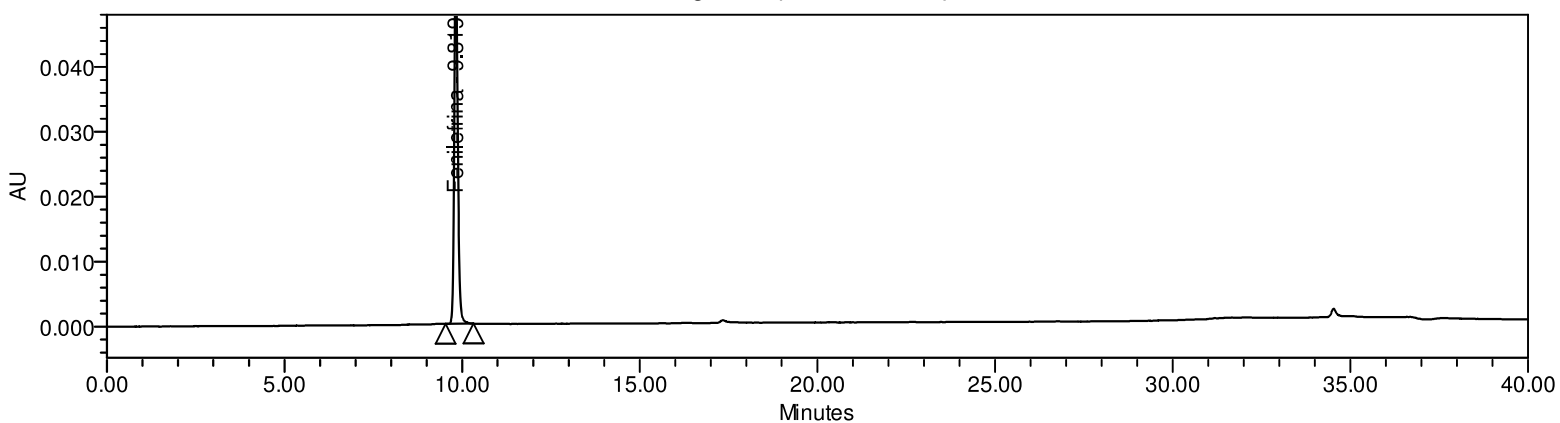
Vial 1:A,1; SampleName PD\_Final; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 9:30:49 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:12 AM GMT+3; Result Id 69343

## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:55 AM GMT+3; Result Id 69335

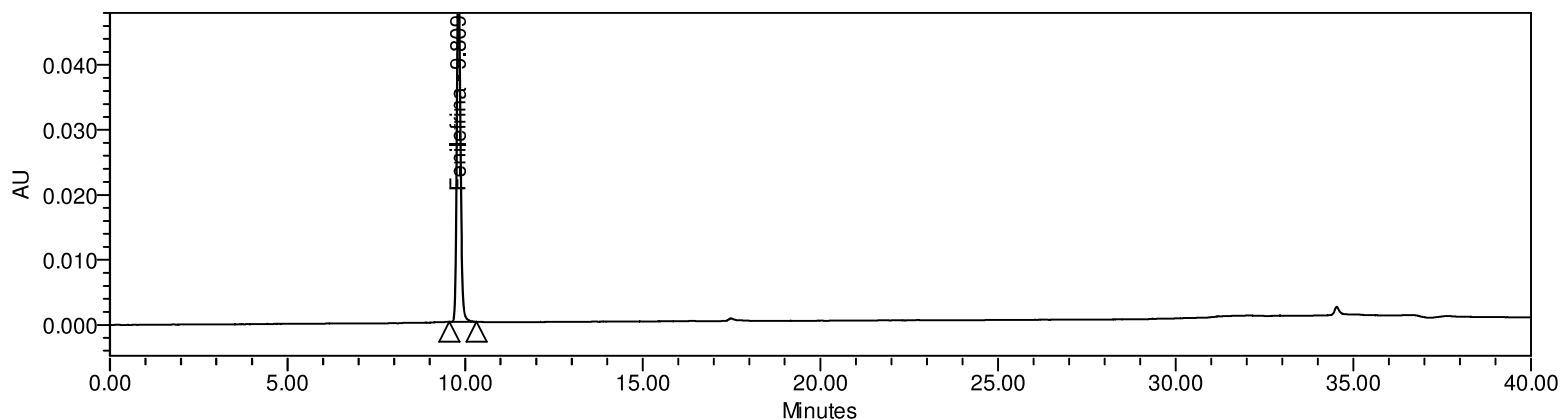
## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:58 AM GMT+3; Result Id 69338

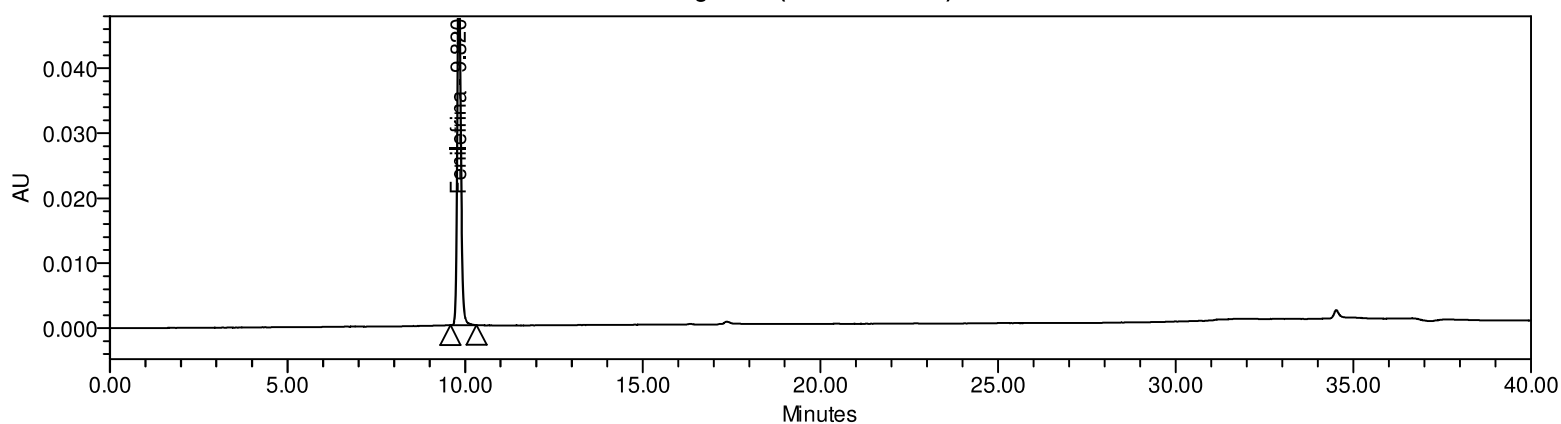
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



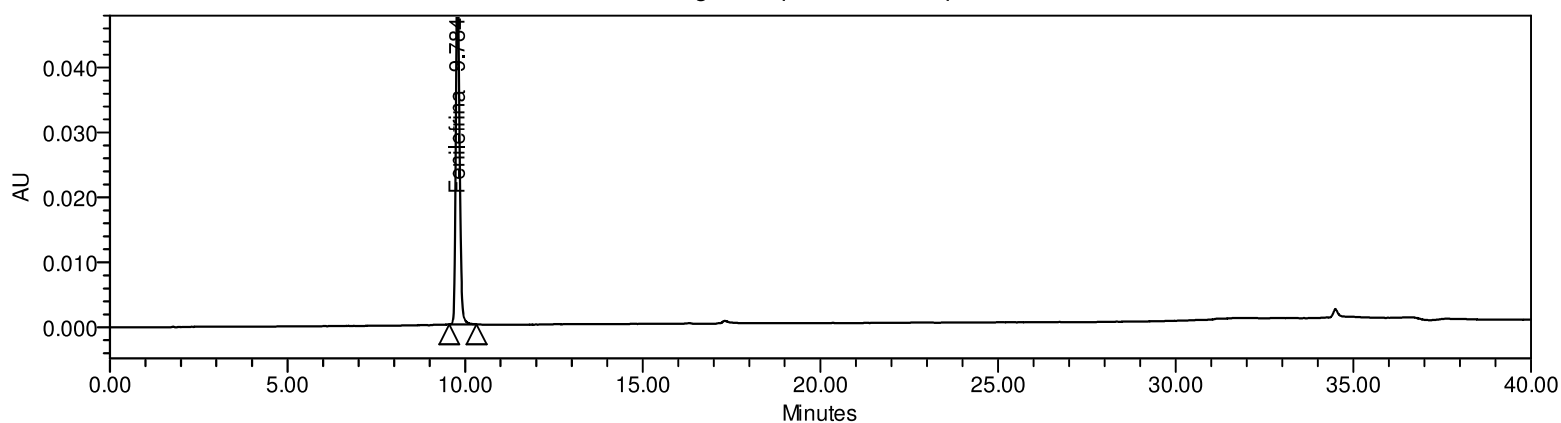
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:52:59 AM GMT+3; Result Id 69339

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:01 AM GMT+3; Result Id 69340

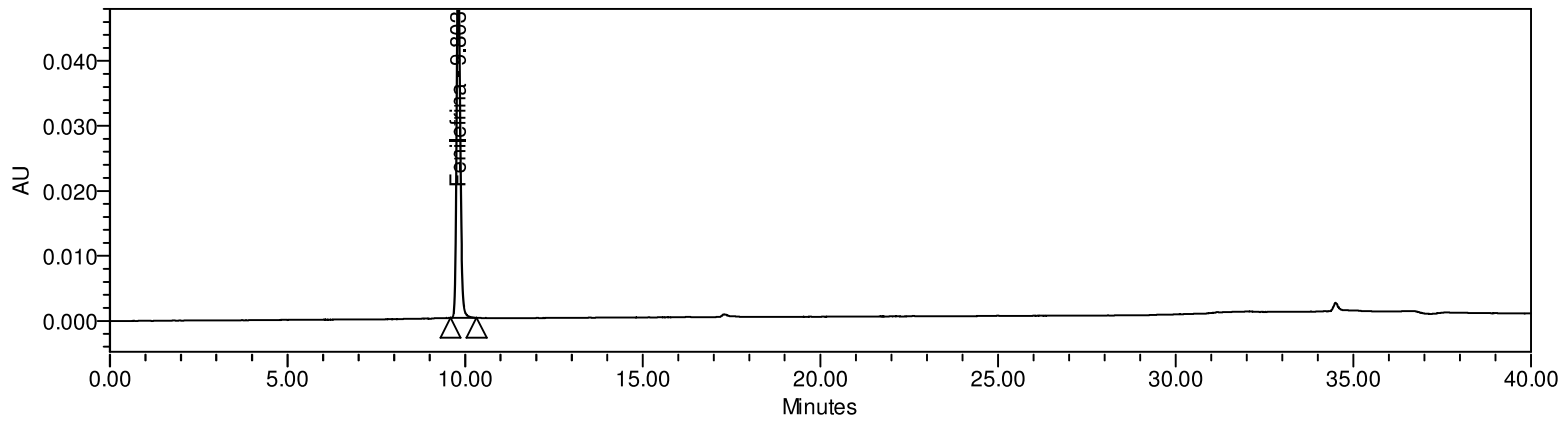
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:04 AM GMT+3; Result Id 69341

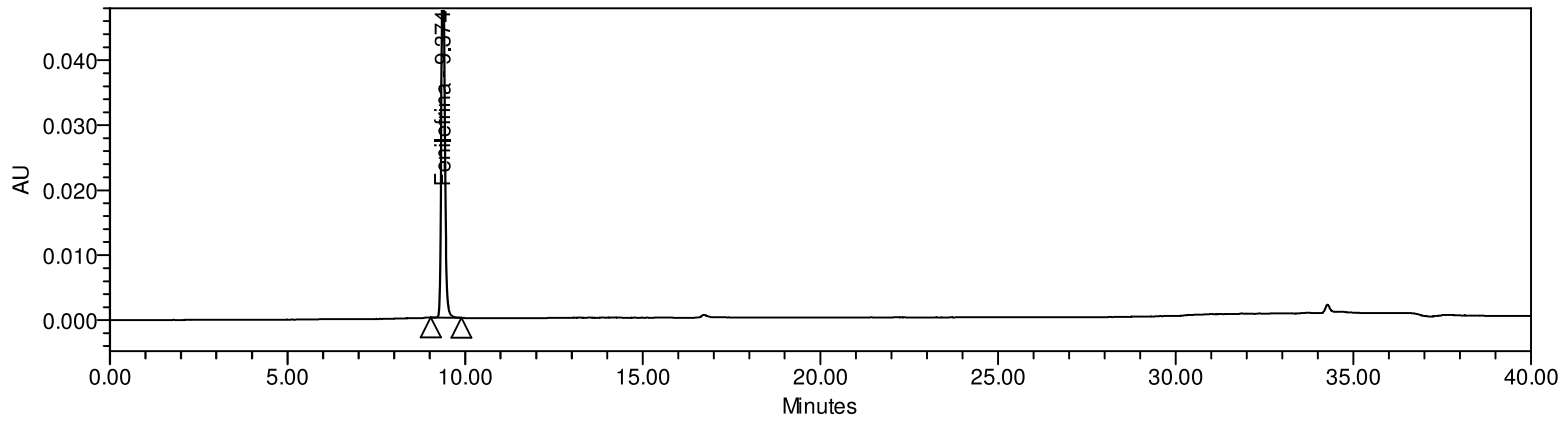
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,2; SampleName PD\_100%\_Check; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:51:46 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:08 AM GMT+3; Result Id 69342

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_Final; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 9:30:49 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 11:53:12 AM GMT+3; Result Id 69343

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405697	0.2000	8.3	1.3	48795	69335
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405342	0.2000	8.3	1.3	49355	69338
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404887	0.2000	8.3	1.2	47151	69339
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405276	0.2000	8.3	1.2	48163	69340
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406121	0.2000	8.2	1.2	45240	69341
Mean						9.8	405465	0.2000	8.3	1.2	47741	
Std. Dev.							466.3	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Nome da Amostra: PD\_100%\_Check

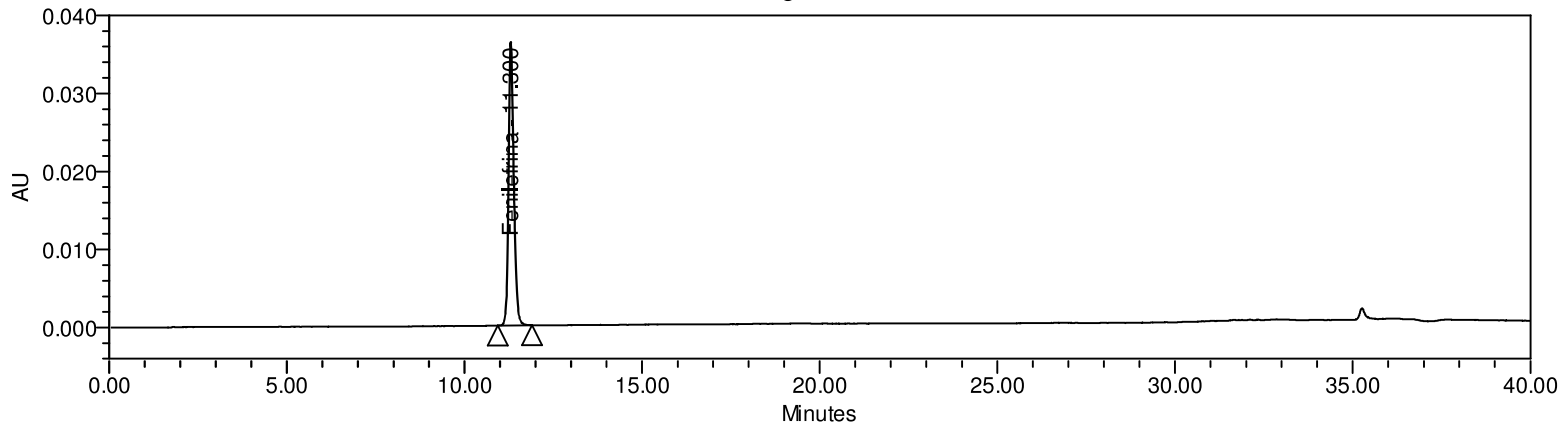
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,2	1	2.0	PD_100%_Check	Fenilefrina	9.8	408295	100.70	8.2	1.2	46719	69342

## Nome da Amostra: PD\_Final

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_Final	Fenilefrina	9.4	399169	98.45	7.8	1.2	52709	69343

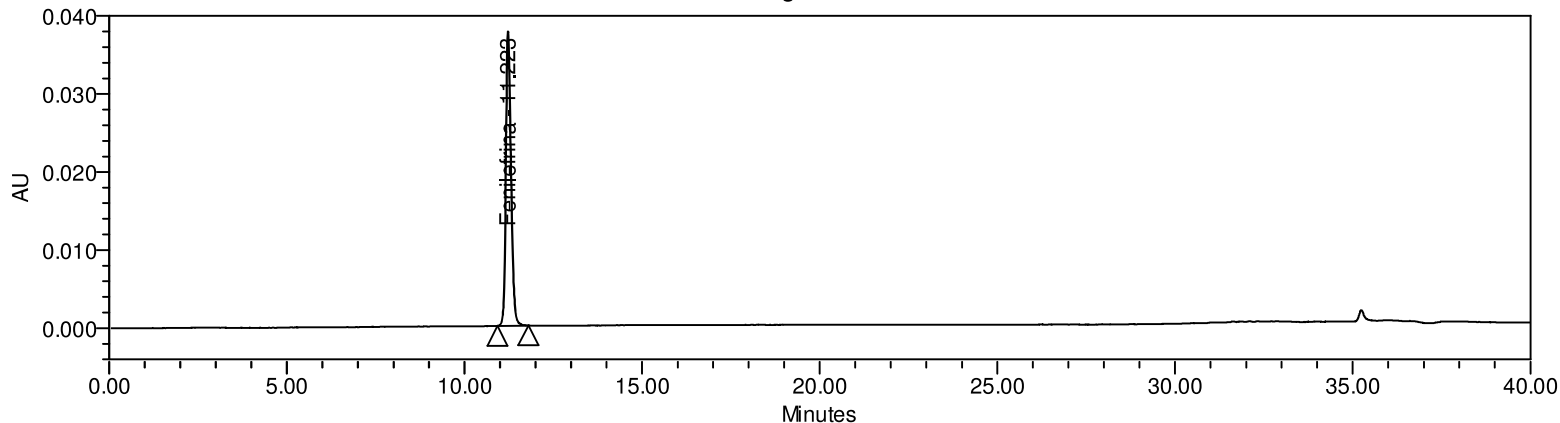
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



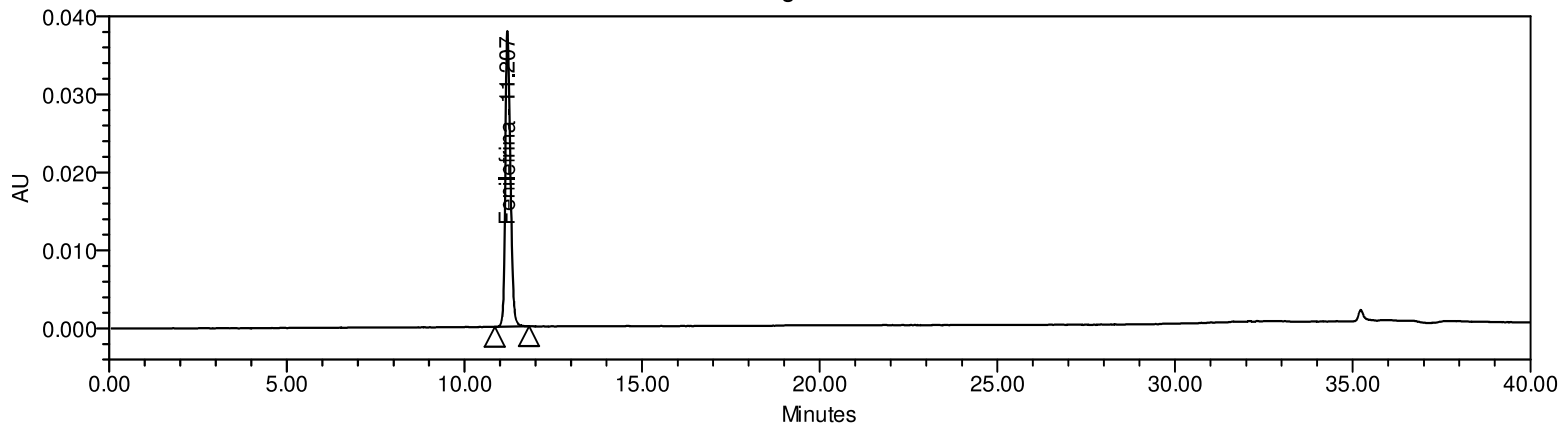
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:48 AM GMT+3; Result Id 69106

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:52 AM GMT+3; Result Id 69109

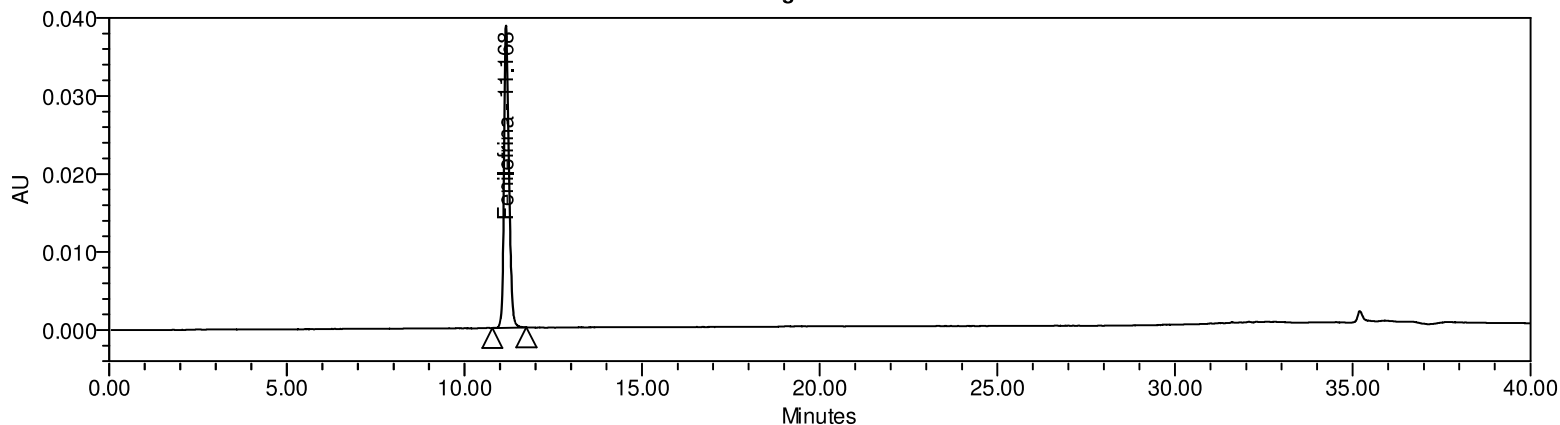
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:54 AM GMT+3; Result Id 69110

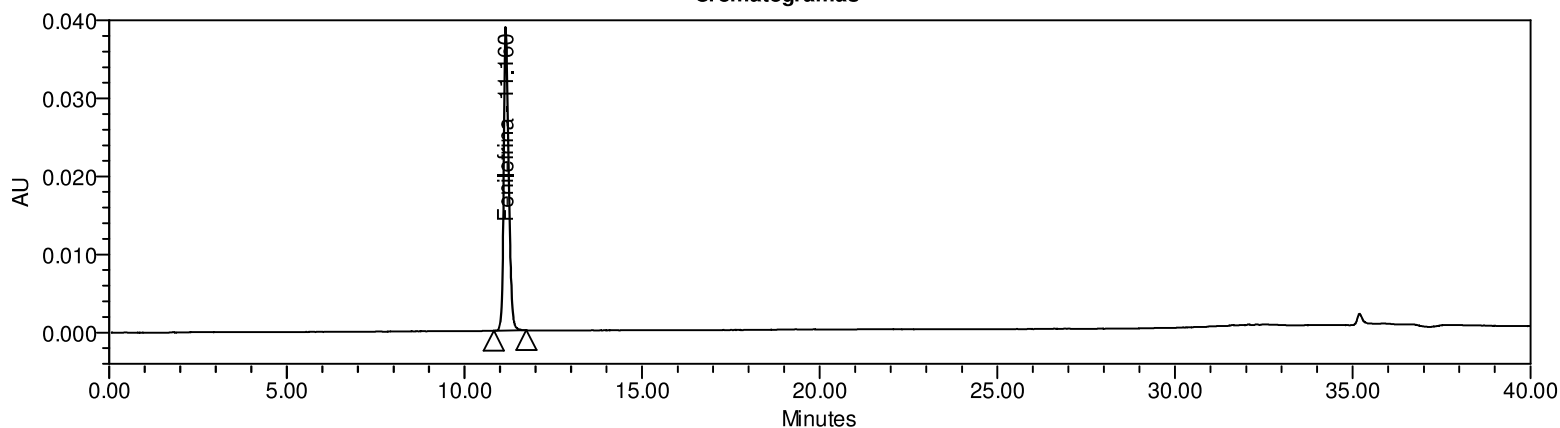
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



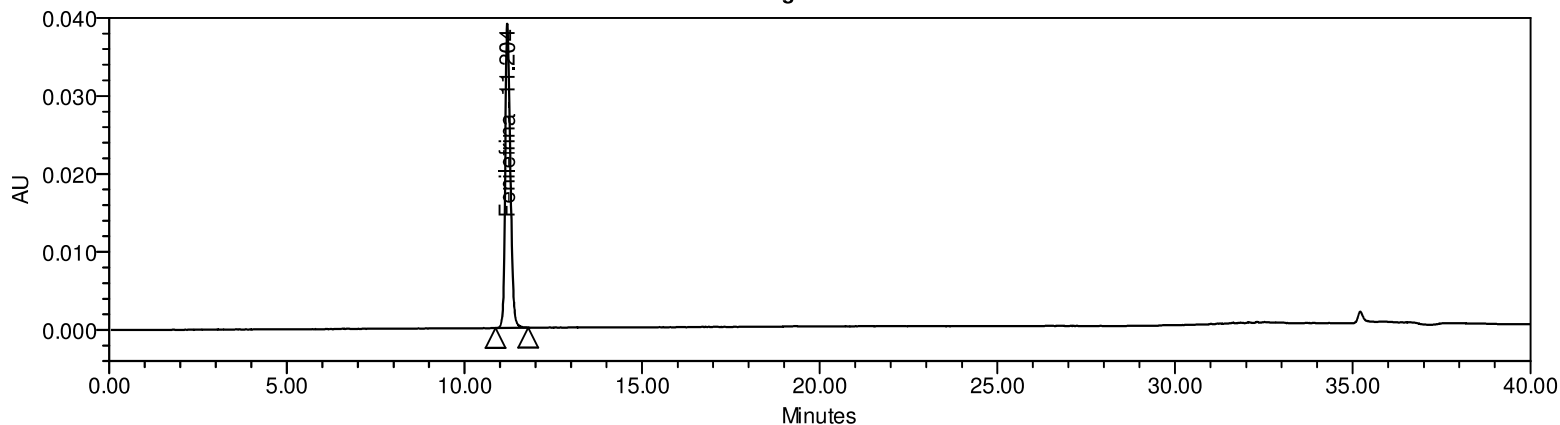
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:56 AM GMT+3; Result Id 69111

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:58 AM GMT+3; Result Id 69112

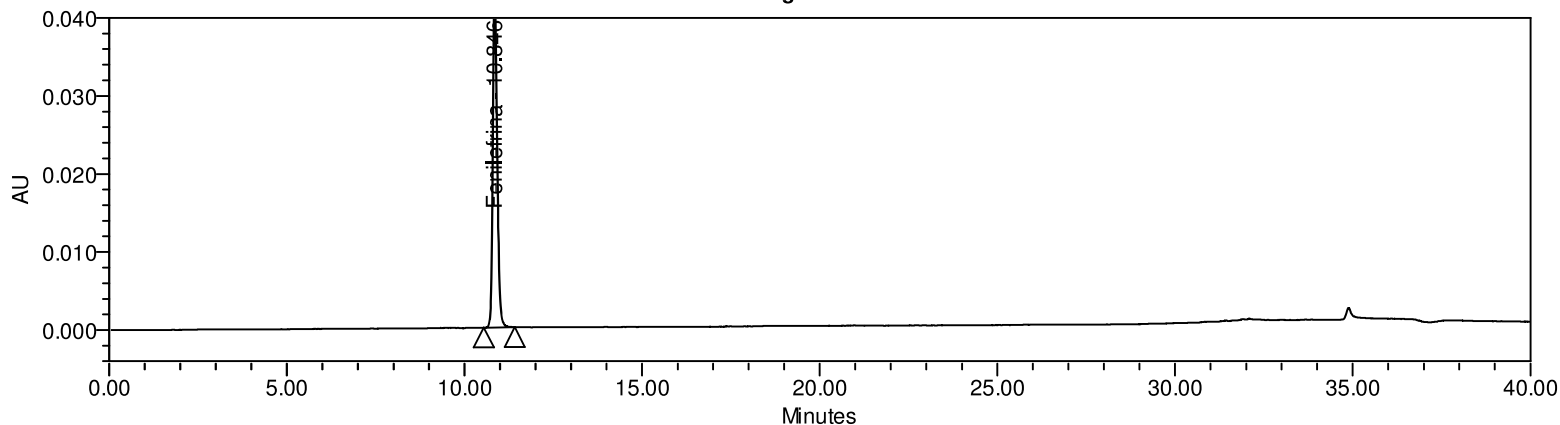
Cromatogramas



Vial 1:A,2; SampleName PD\_100%\_Check; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:50:36 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:22:01 AM GMT+3; Result Id 69113

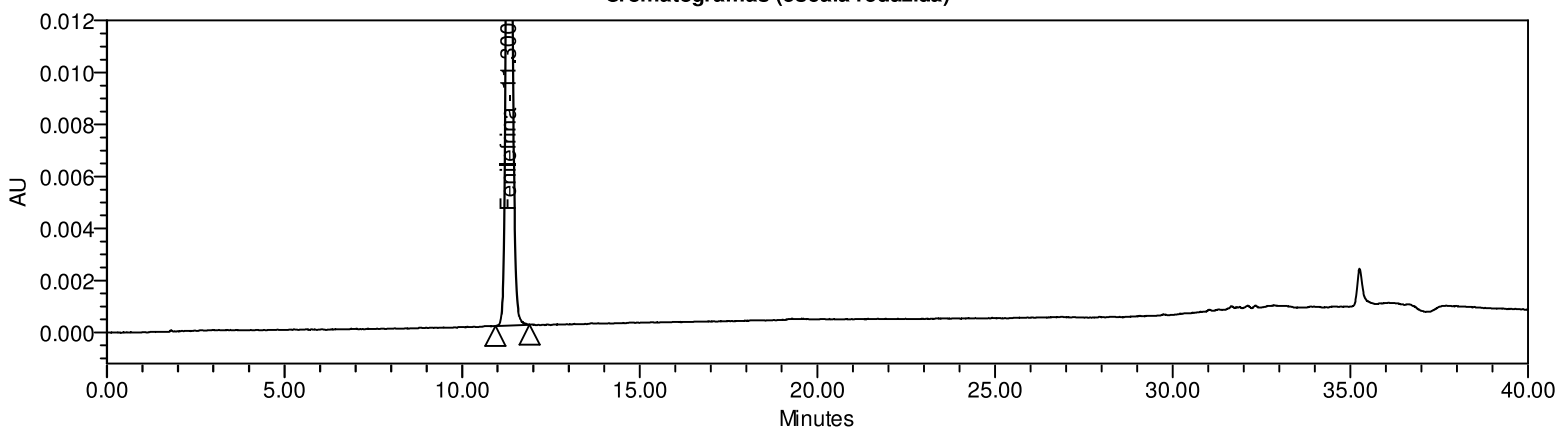
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



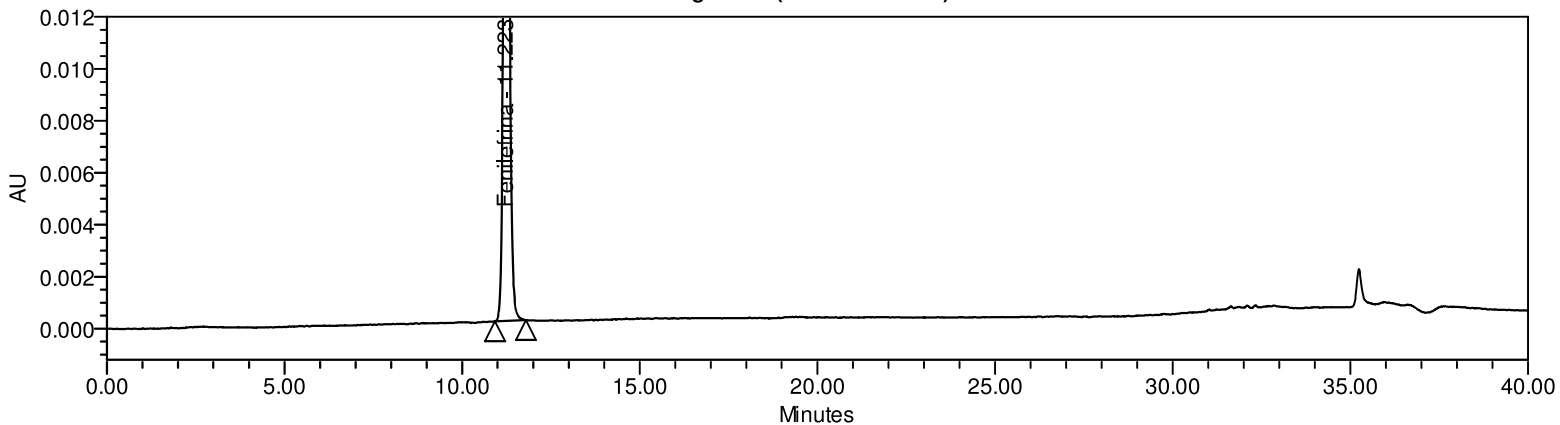
Vial 1:A,1; SampleName PD\_Final; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 4:02:02 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:22:05 AM GMT+3; Result Id 69114

## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:48 AM GMT+3; Result Id 69106

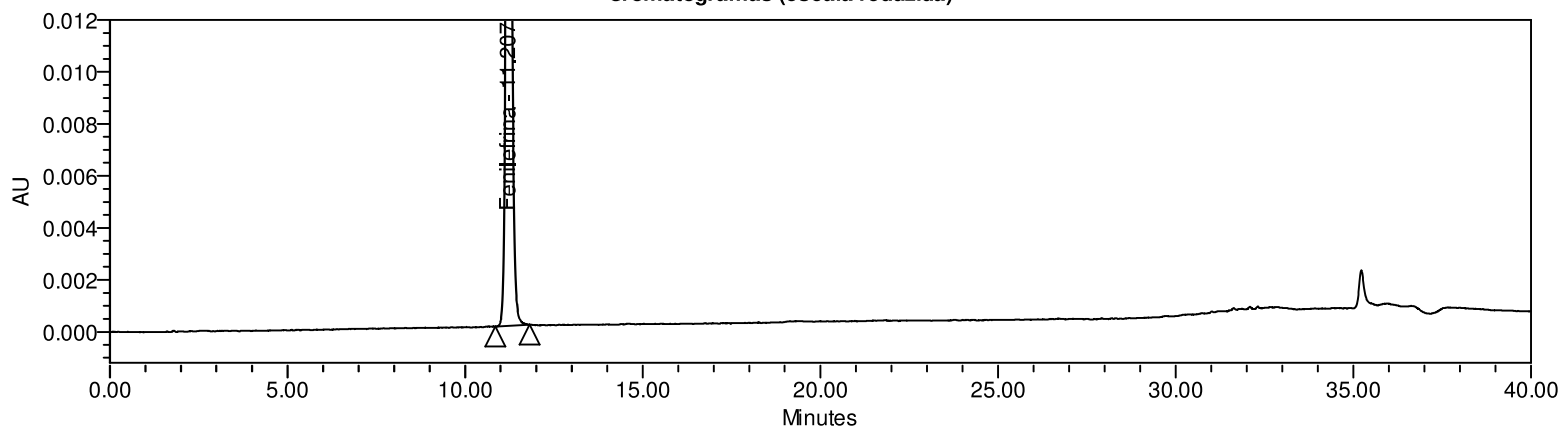
## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:52 AM GMT+3; Result Id 69109

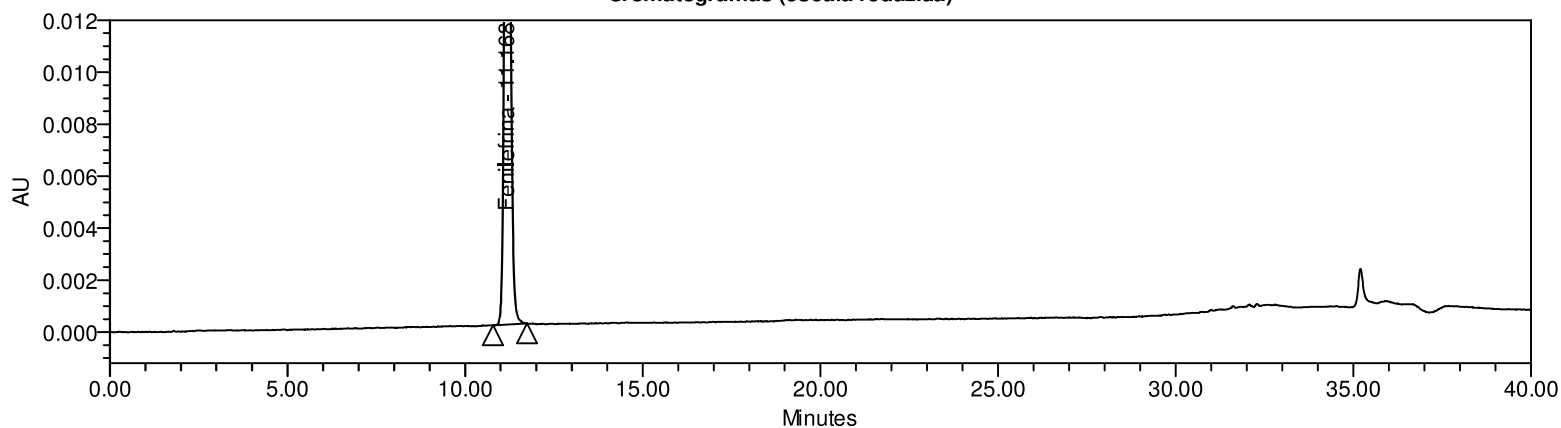
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



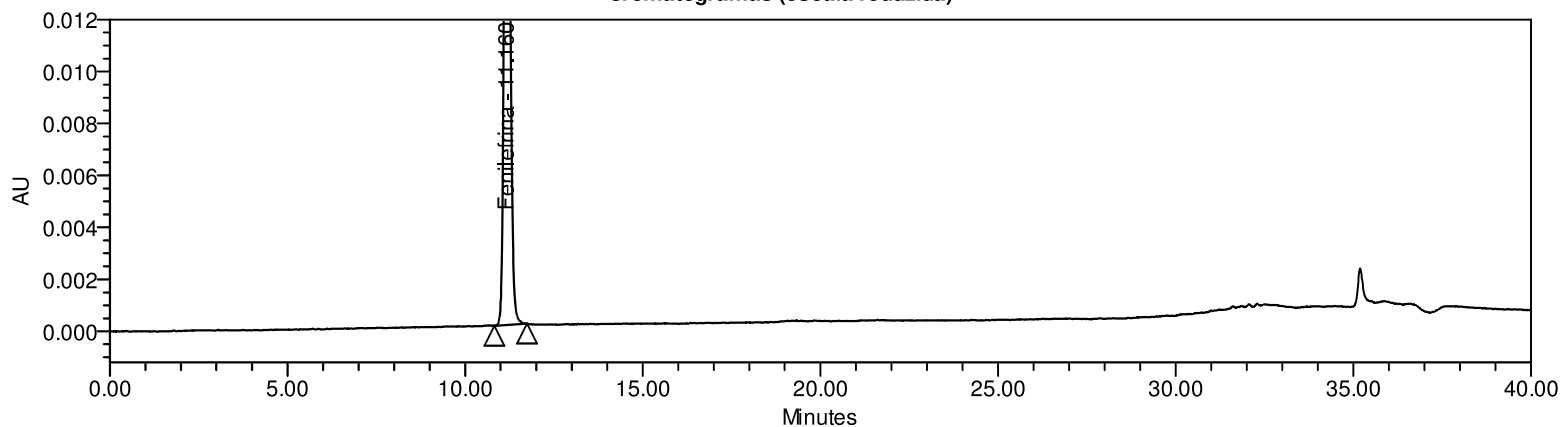
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:54 AM GMT+3; Result Id 69110

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:56 AM GMT+3; Result Id 69111

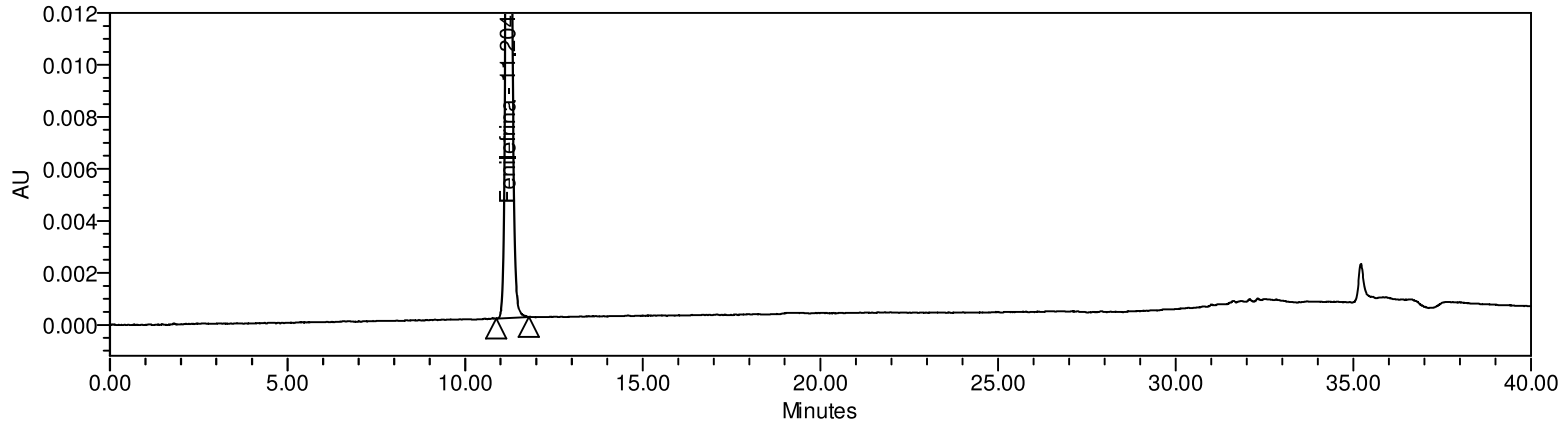
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:21:58 AM GMT+3; Result Id 69112

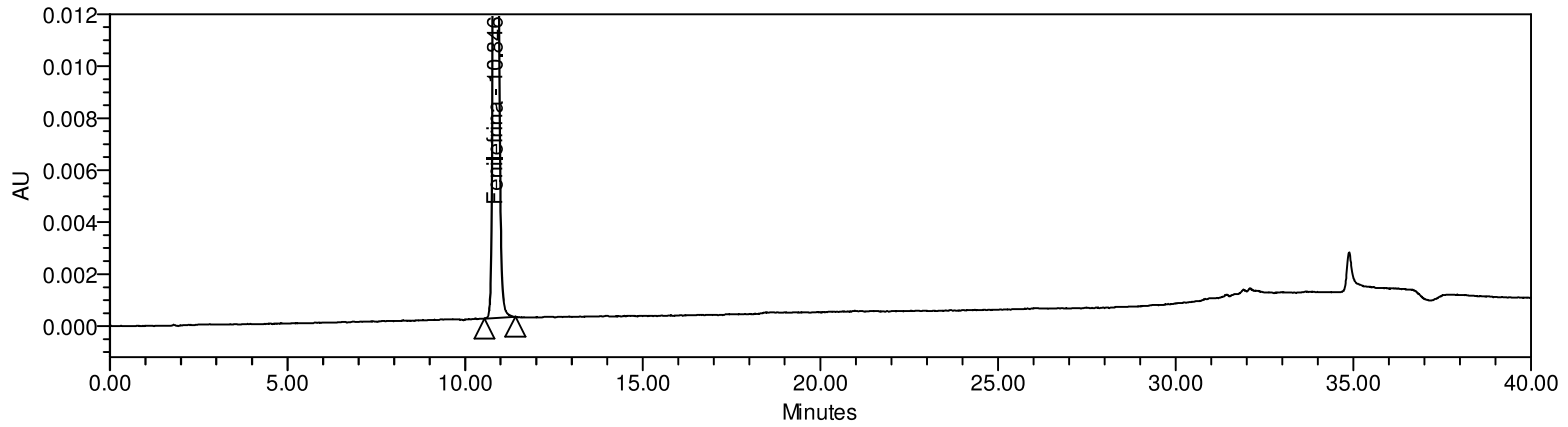
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,2; SampleName PD\_100%\_Check; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:50:36 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:22:01 AM GMT+3; Result Id 69113

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_Final; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 4:02:02 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 9:22:05 AM GMT+3; Result Id 69114

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.3	372784	0.2000	9.7	1.3	28485	69106
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376138	0.2000	9.6	1.3	29673	69109
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	374437	0.2000	9.6	1.3	30156	69110
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376872	0.2000	9.5	1.3	30744	69111
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	378516	0.2000	9.5	1.3	30708	69112
Mean						11.2	375749	0.2000	9.6	1.3	29953	
Std. Dev.							2212.5	0.0				
% RSD							0.6	0.0				

## Nome da Amostra: PD\_100%\_Check

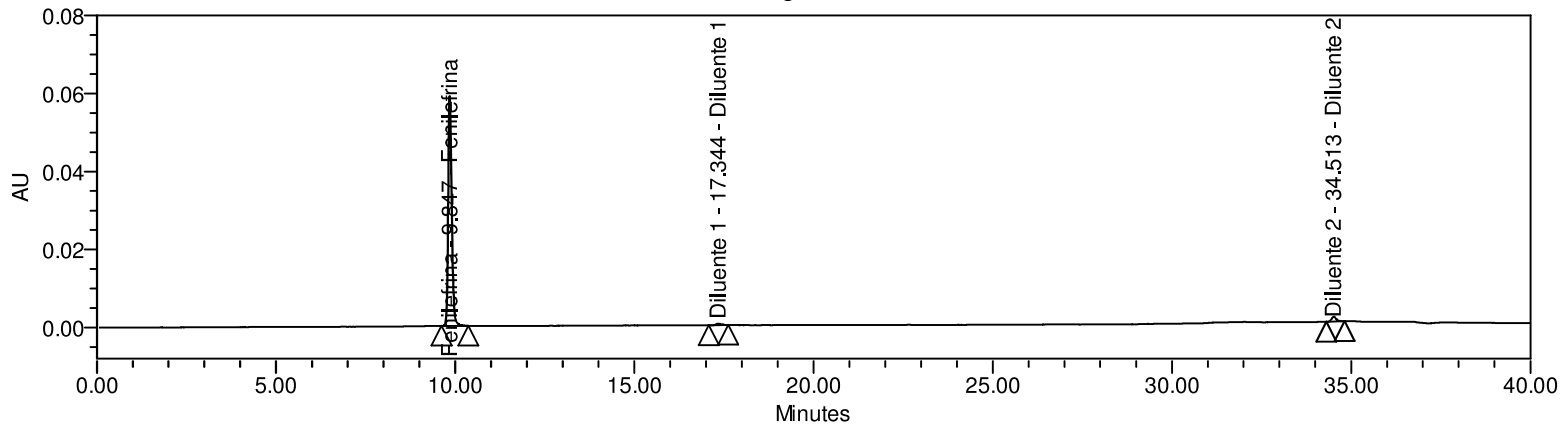
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,2	1	2.0	PD_100%_Check	Fenilefrina	11.2	388796	100.95	9.6	1.3	29624	69113

## Nome da Amostra: PD\_Final

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_Final	Fenilefrina	10.8	377763	100.54	9.2	1.3	39206	69114

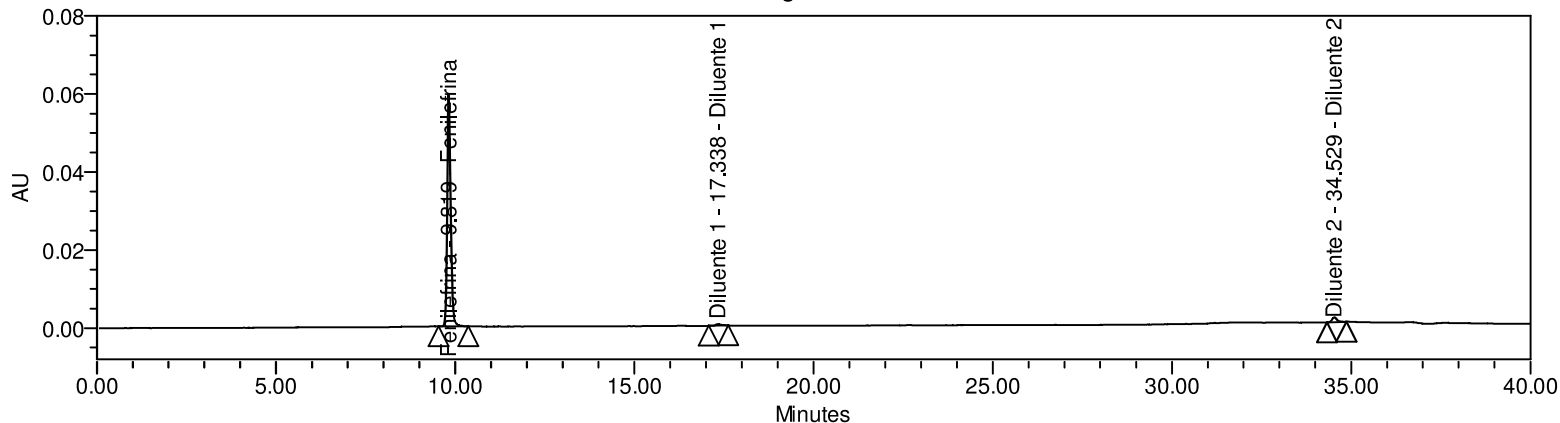
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



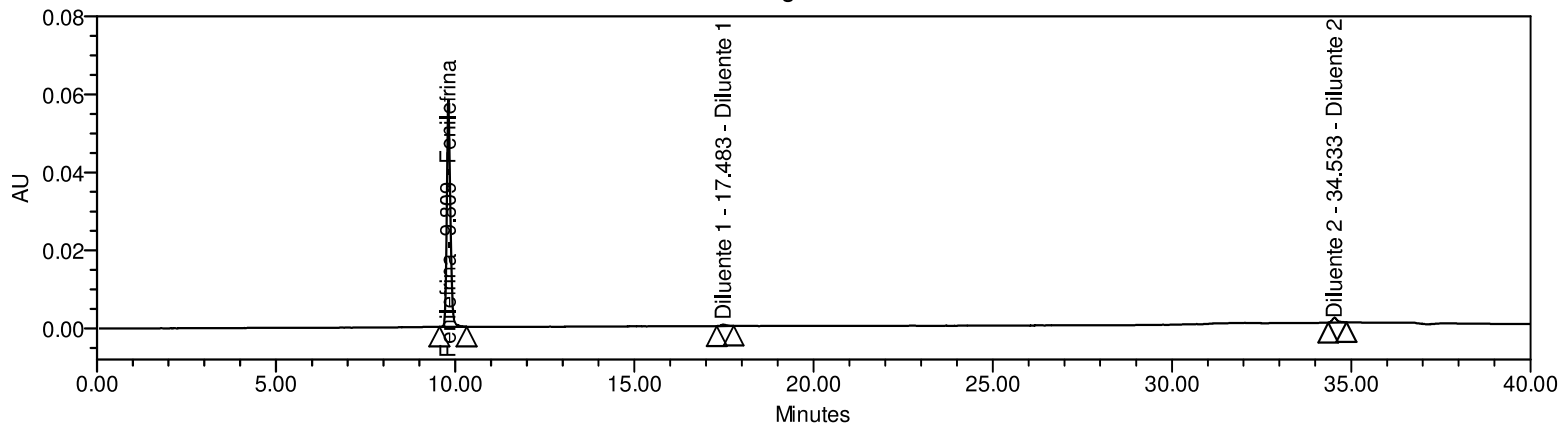
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:04 PM GMT+3; Result Id 69976

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:14 PM GMT+3; Result Id 69982

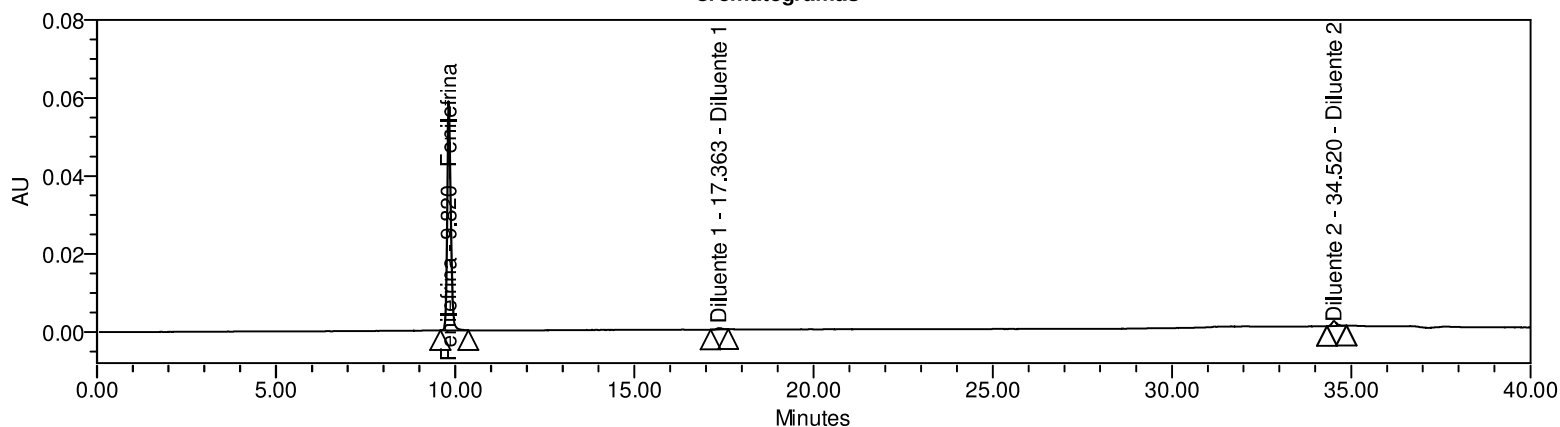
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:15 PM GMT+3; Result Id 69983

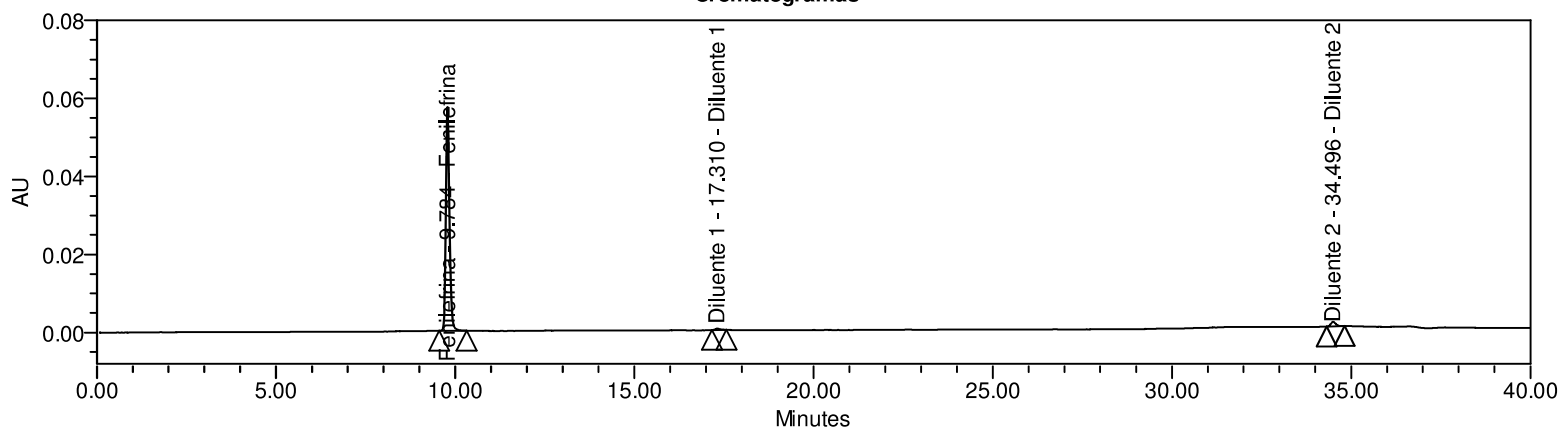
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



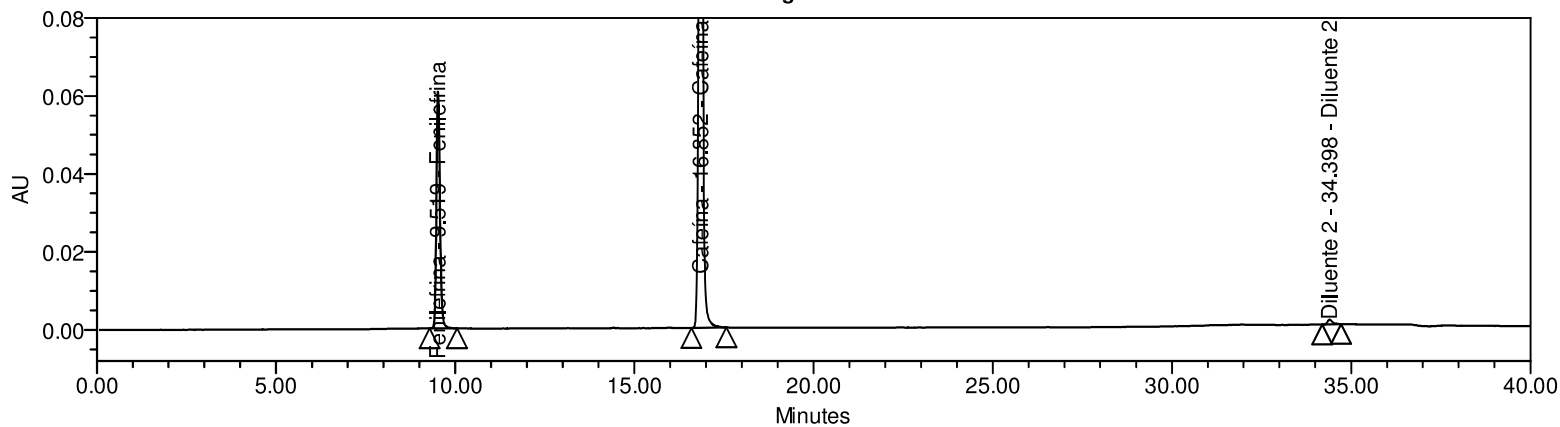
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:17 PM GMT+3; Result Id 69984

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:19 PM GMT+3; Result Id 69985

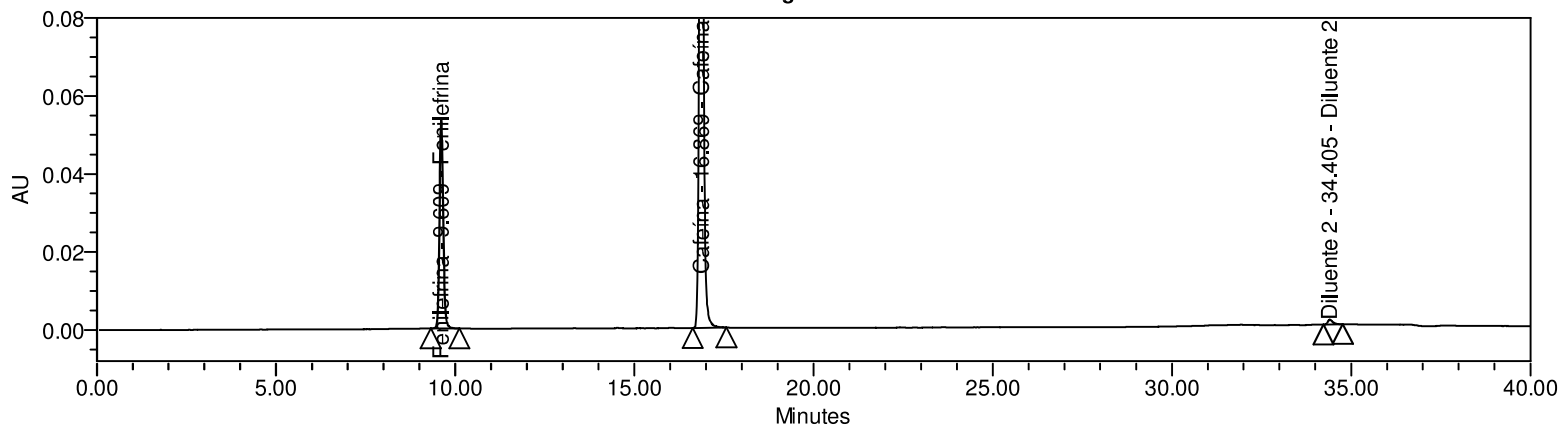
Cromatogramas



Vial 2:A,3; SampleName Fenilefrina + Cafeína Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 1:38:33 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:34 PM GMT+3; Result Id 69990

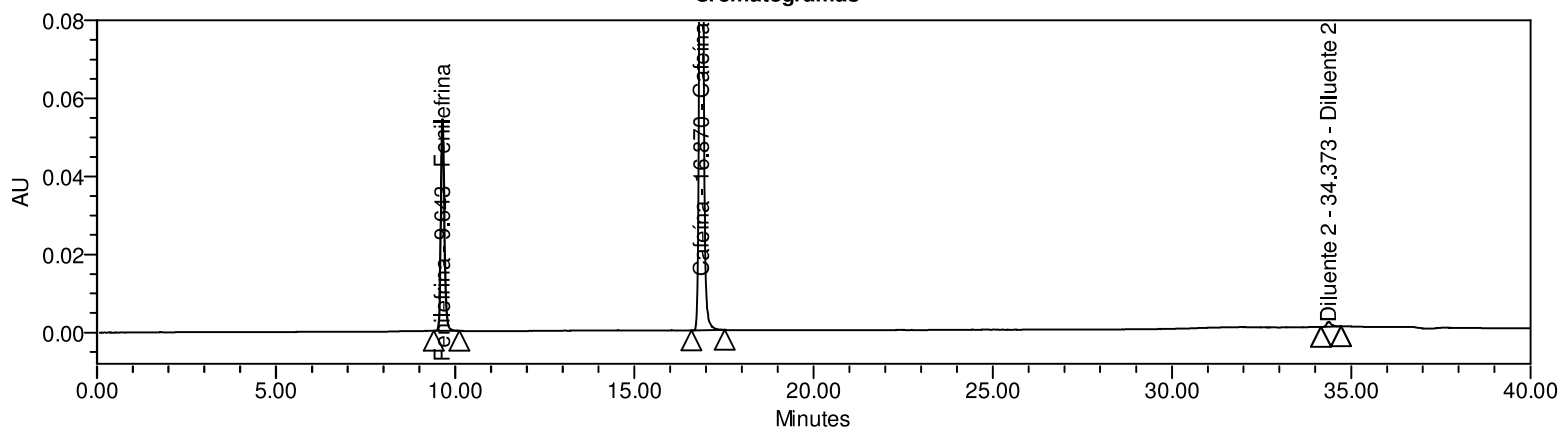
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



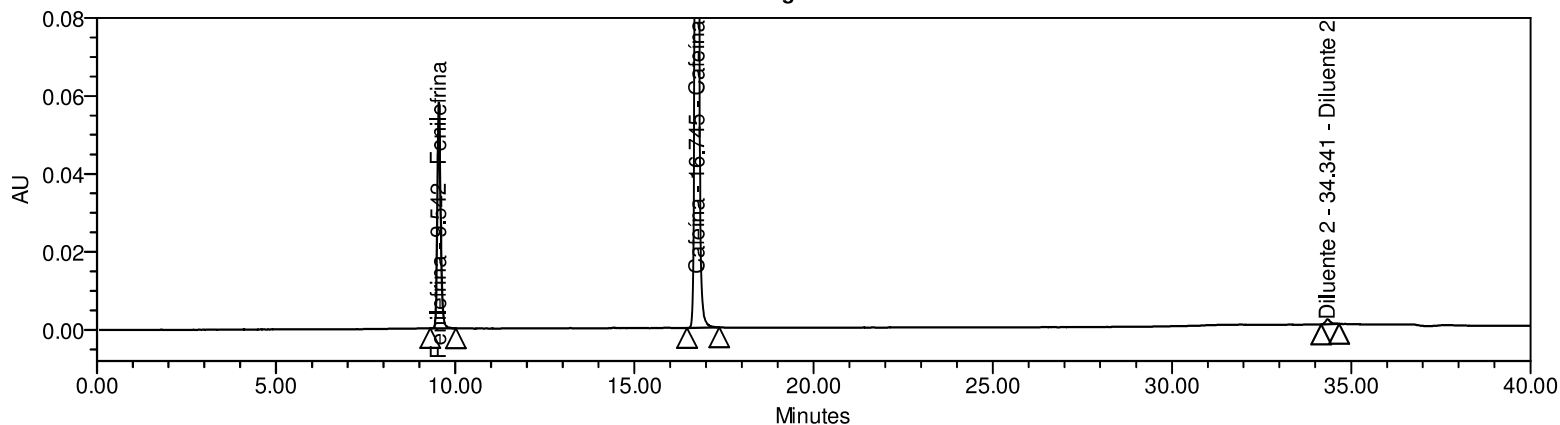
Vial 2:B,3; SampleName Fenilefrina + Caf Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:04:07 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:27 PM GMT+3; Result Id 69988

Cromatogramas



Vial 2:C,2; SampleName Fenilefrina + Cafeína Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 11:48:56 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:24 PM GMT+3; Result Id 69987

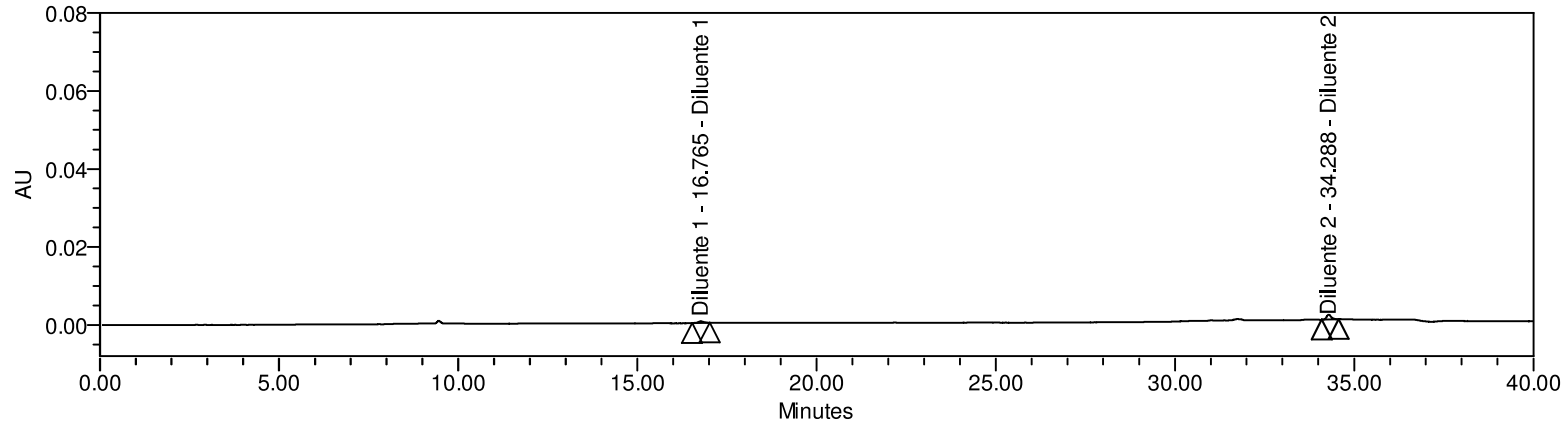
Cromatogramas



Vial 2:D,1; SampleName Fenilefrina + Cafeína Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 4:33:49 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:31 PM GMT+3; Result Id 69989

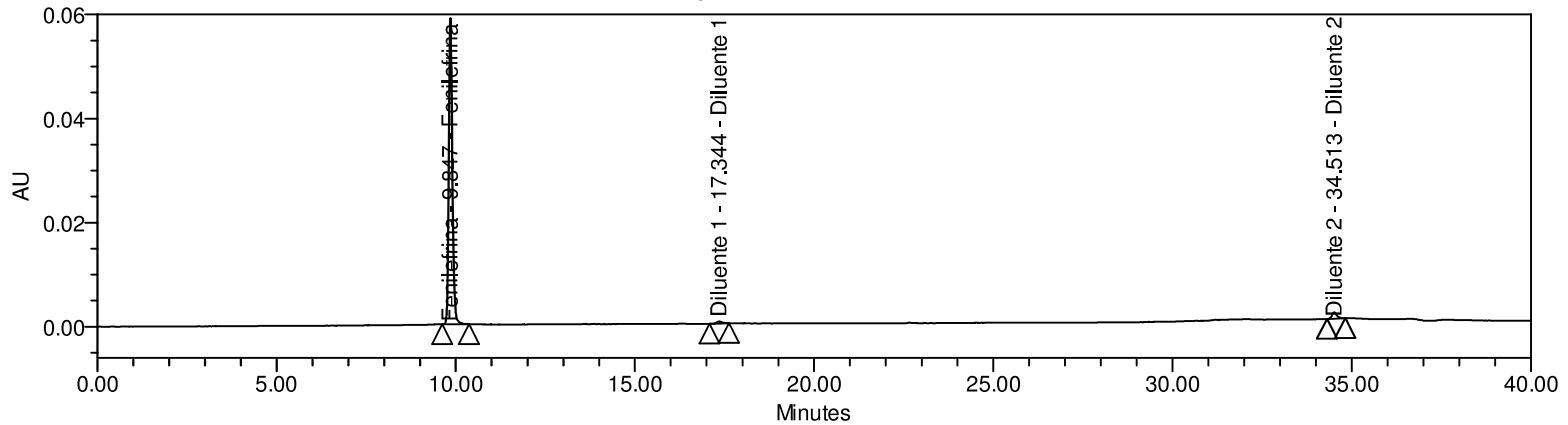
# Validação/Verificação de Método Analítico

### Cromatogramas



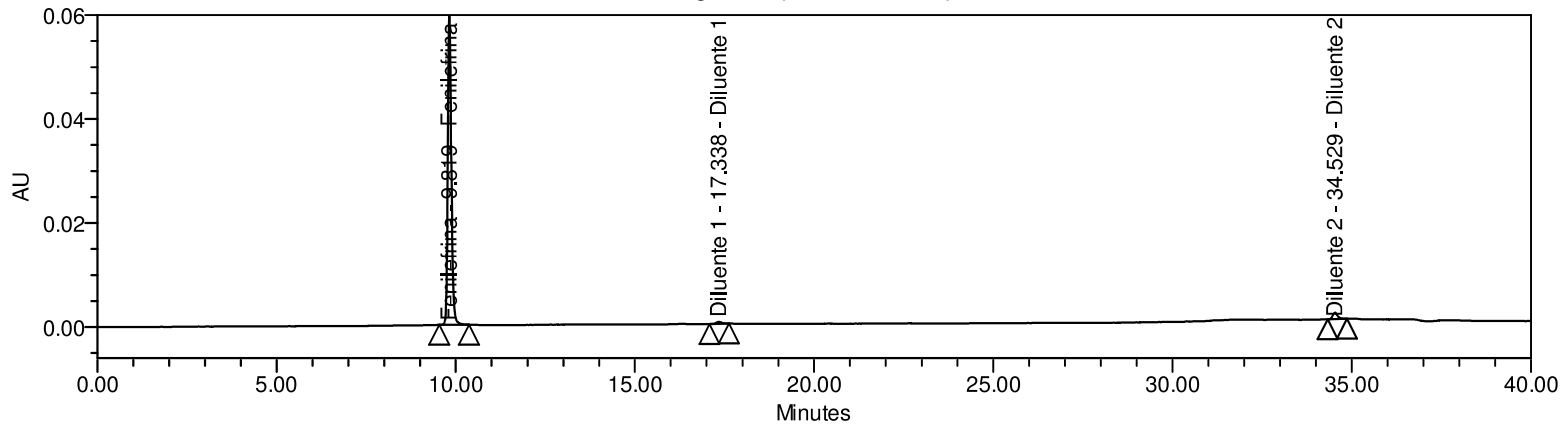
Vial 1:E,1; SampleName Diluente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 7:45:16 AM GMT+3; Result Id 70021

### Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:04 PM GMT+3; Result Id 69976

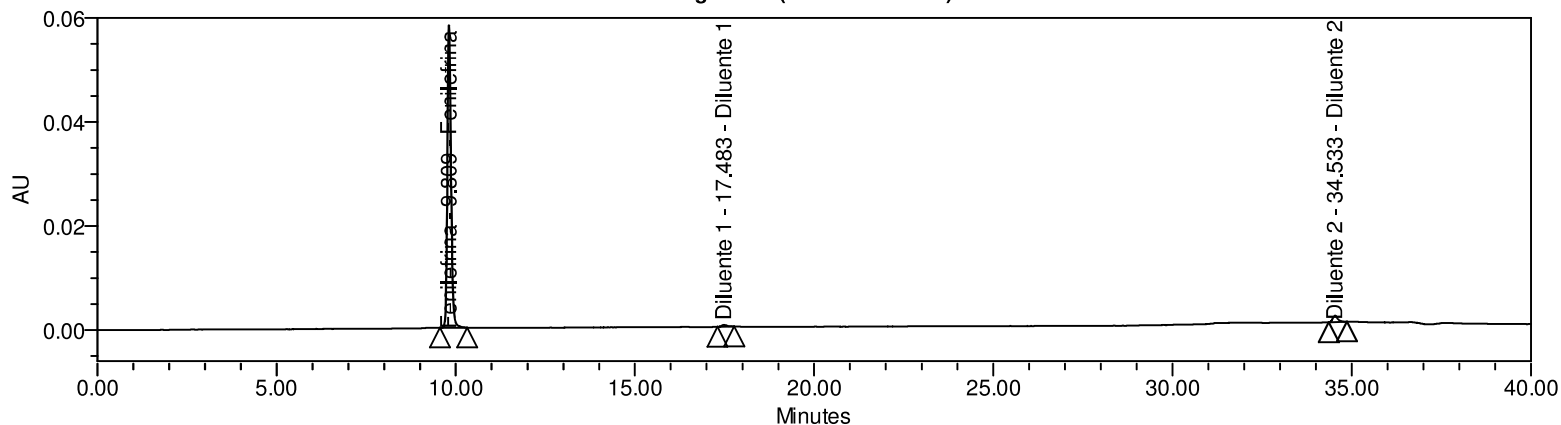
### Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:14 PM GMT+3; Result Id 69982

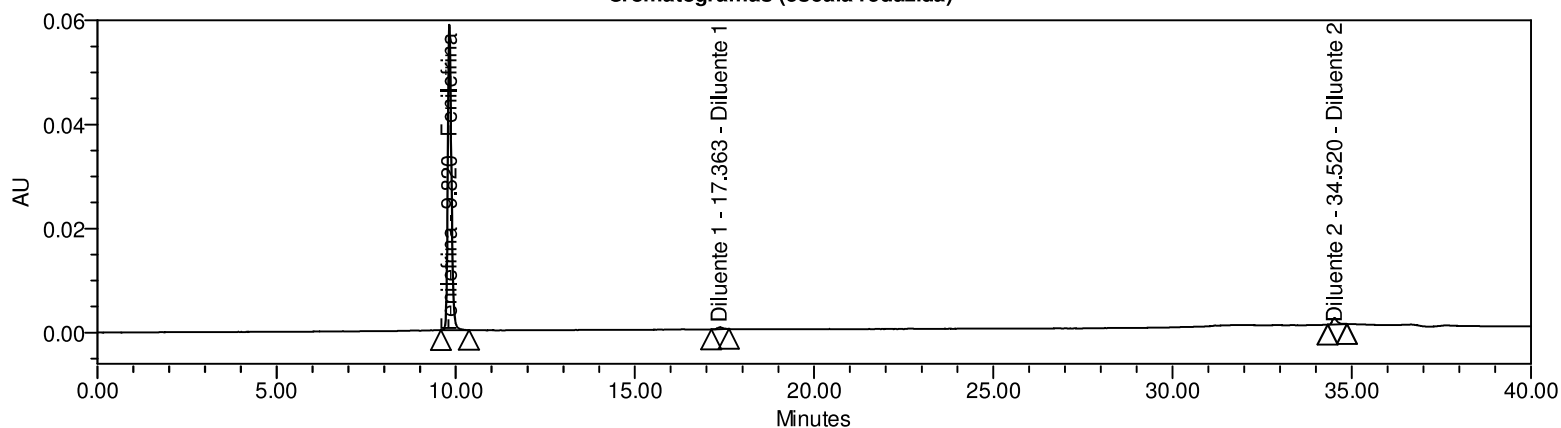
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



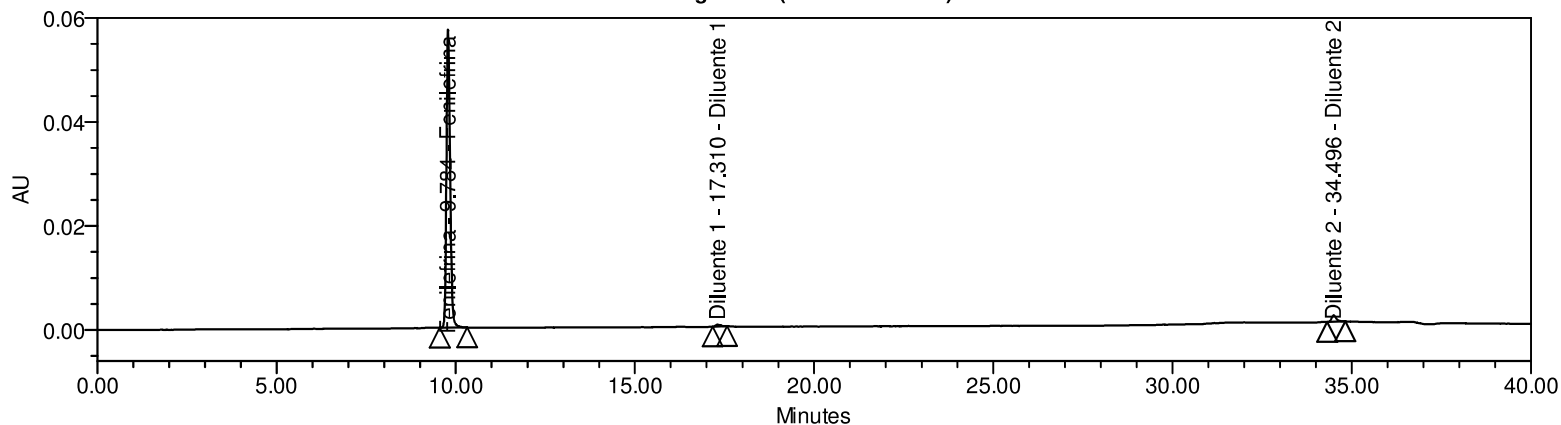
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:15 PM GMT+3; Result Id 69983

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:17 PM GMT+3; Result Id 69984

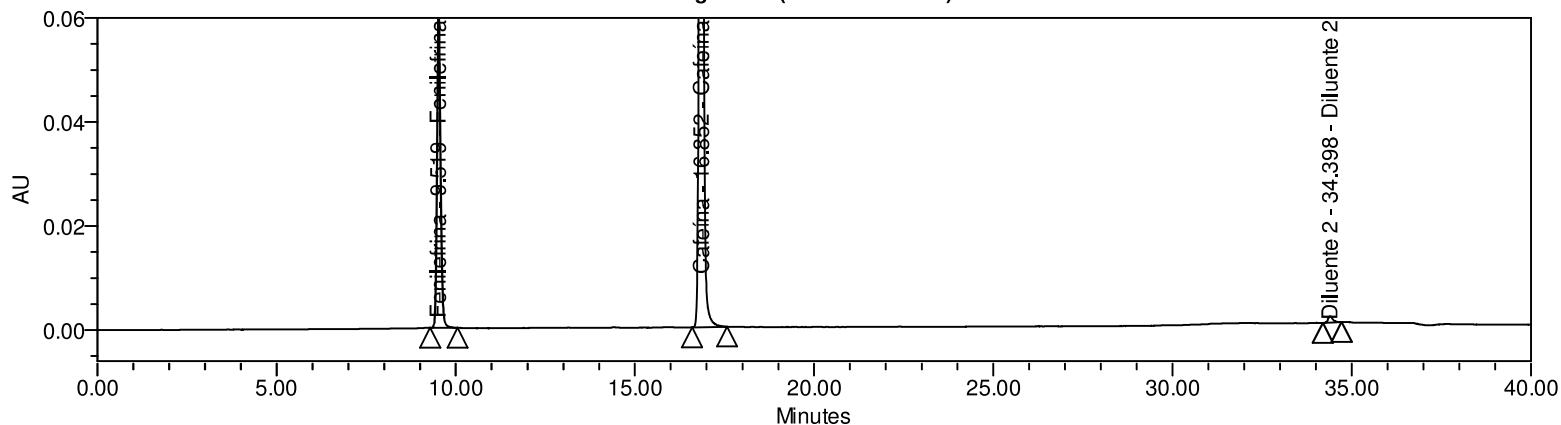
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:19 PM GMT+3; Result Id 69985

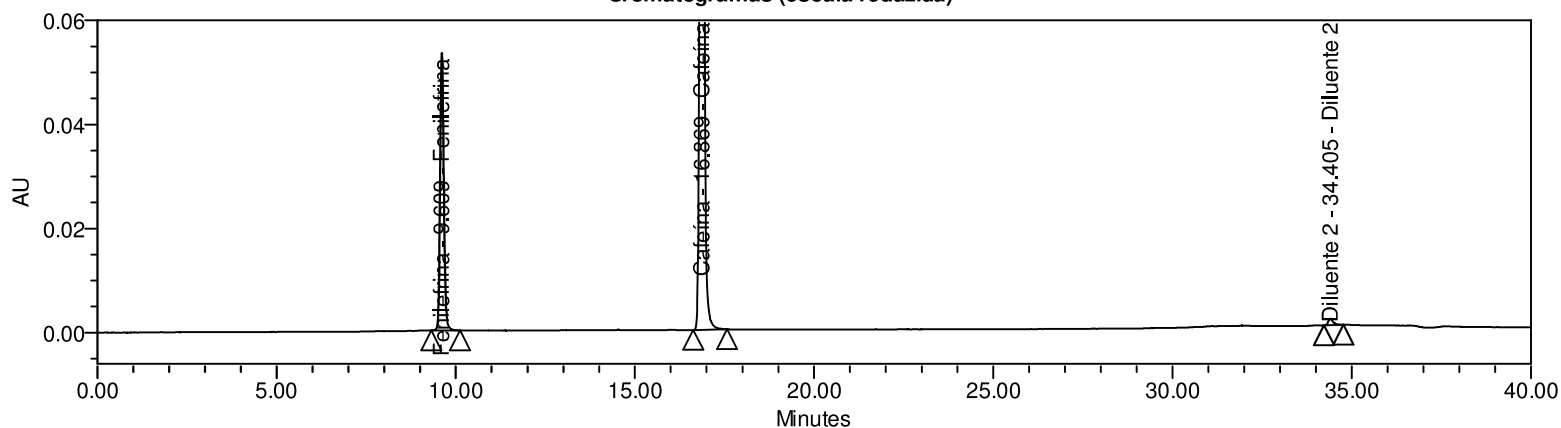
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



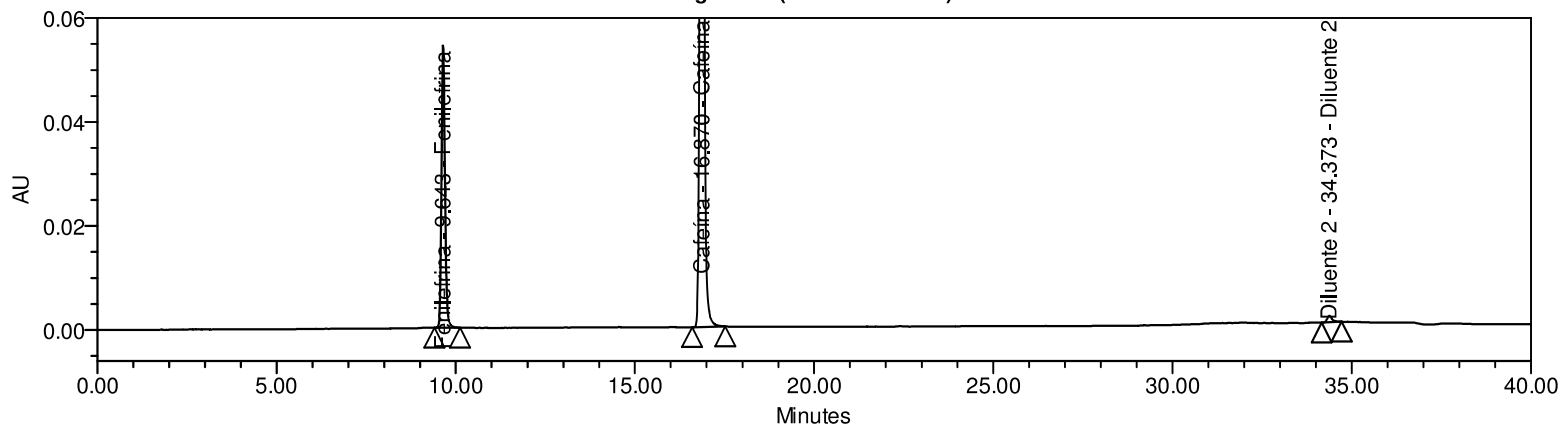
Vial 2:A,3; SampleName Fenilefrina + Cafeína Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 1:38:33 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:34 PM GMT+3; Result Id 69990

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:B,3; SampleName Fenilefrina + Caf Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:04:07 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:27 PM GMT+3; Result Id 69988

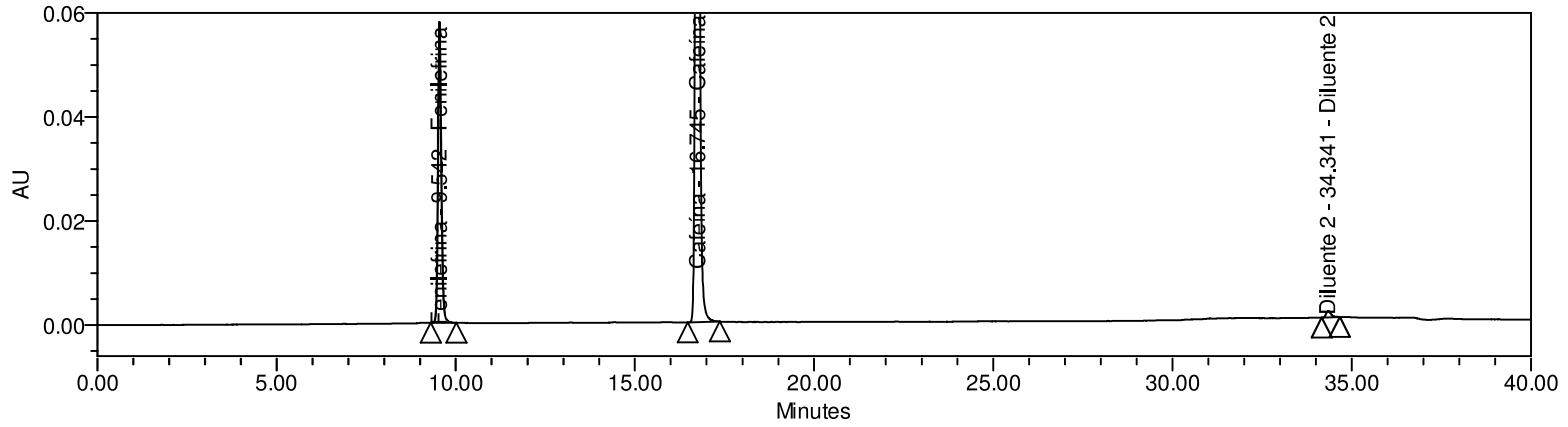
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:C,2; SampleName Fenilefrina + Cafeína Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 11:48:56 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:24 PM GMT+3; Result Id 69987

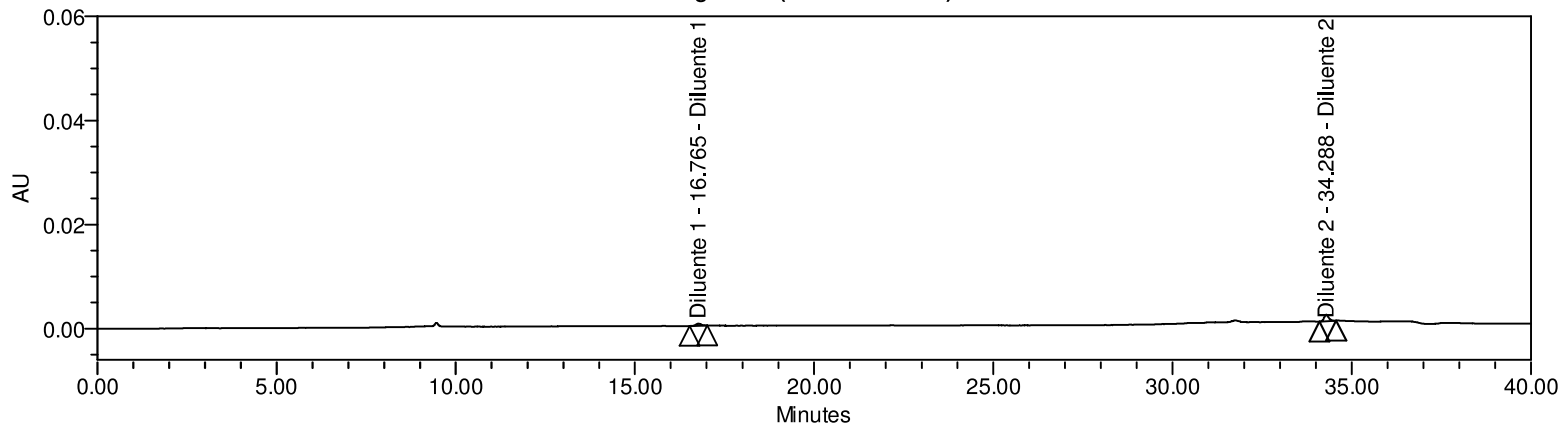
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:D,1; SampleName Fenilefrina + Cafeína Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 4:33:49 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 4:42:31 PM GMT+3; Result Id 69989

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,1; SampleName Diluyente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 7:45:16 AM GMT+3; Result Id 70021

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Cafeína

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Cafeína	16.8	69976
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Cafeína	16.8	69982
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Cafeína	16.8	69983
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Cafeína	16.8	69984
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Cafeína	16.8	69985
Mean						16.8	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3935	15.4	0.9	63813	32.6	69976
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3875	15.4	1.0	65332	33.1	69982
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.5	3603	15.5	1.3	69060	33.9	69983
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.4	3592	15.4	1.0	72246	33.8	69984
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3507	15.3	1.4	64533	32.7	69985
Mean						17.4	3702	15.4	1.1	66997	33.2	
Std. Dev.							189.9					
% RSD							5.1					

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11585	31.6	1.2	335560	65.6	69976
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11644	31.6	1.2	338902	66.3	69982
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11753	31.6	1.2	330434	66.2	69983
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11872	31.6	1.2	333312	67.1	69984
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11538	31.5	1.2	332606	66.4	69985
Mean						34.5	11678	31.6	1.2	334163	66.3	
Std. Dev.							134.9					
% RSD							1.2					

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404956	0.2000	8.3	1.2	48812	69976
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405499	0.2000	8.3	1.3	49351	69982
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404798	0.2000	8.3	1.2	47153	69983
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405550	0.2000	8.3	1.2	48156	69984
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406056	0.2000	8.2	1.2	45242	69985
Mean						9.8	405372	0.2000	8.3	1.2	47743	
Std. Dev.							504.5	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Cafeína

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:A,3	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Foto	Cafeína	16.9	2277307	0.2100	100.0000	14.9	1.0	200303	43.5	69990
2	2:B,3	1	2.0	Fenilefrina + Caf Umid	Cafeína	16.9	2459454	0.2000	100.0000	14.9	1.1	202332	42.0	69988
3	2:C,2	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Inic	Cafeína	16.9	2284182	0.1900	100.0000	14.9	1.1	209781	43.5	69987
4	2:D,1	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Temp	Cafeína	16.7	2305232	0.1900	100.0000	14.8	1.1	207557	45.0	69989
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Cafeína	16.2		0.2000	100.0000					70021

## Name: Diluyente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:A,3	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Foto	Diluyente 1	17.6		0.2100	100.0000				69990
2	2:B,3	1	2.0	Fenilefrina + Caf Umid	Diluyente 1	17.6		0.2000	100.0000				69988
3	2:C,2	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Inic	Diluyente 1	17.6		0.1900	100.0000				69987
4	2:D,1	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Temp	Diluyente 1	17.6		0.1900	100.0000				69989
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 1	16.8	4002	0.2000	100.0000	14.8	1.1	65199	70021

## Name: Diluyente 2

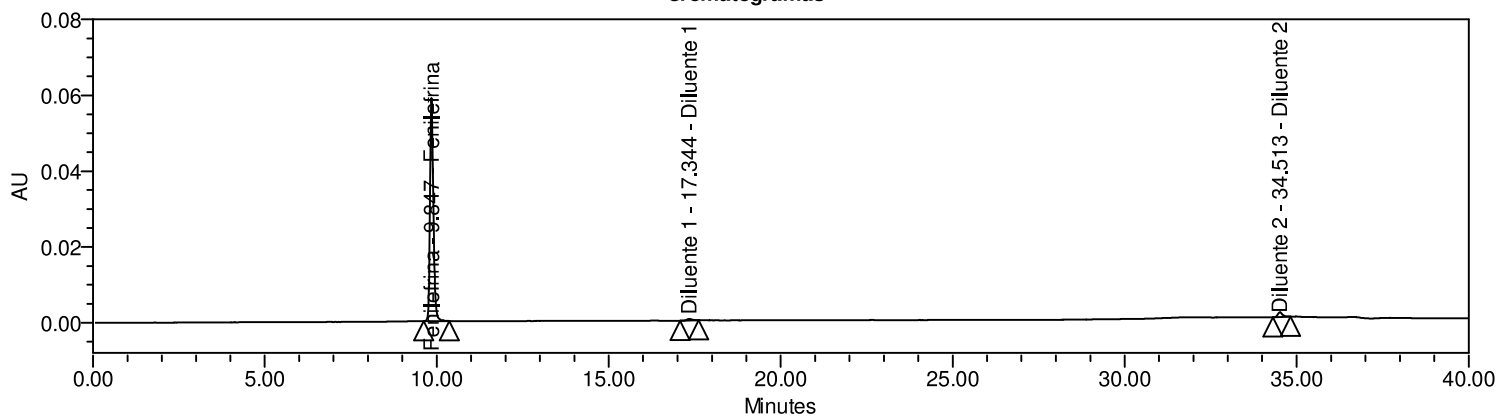
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:A,3	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Foto	Diluyente 2	34.4	11902	0.2100	100.0000	31.5	1.2	324189	87.2	69990
2	2:B,3	1	2.0	Fenilefrina + Caf Umid	Diluyente 2	34.4	12201	0.2000	100.0000	31.5	1.2	319703	86.5	69988
3	2:C,2	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Inic	Diluyente 2	34.4	12238	0.1900	100.0000	31.4	1.2	315074	86.7	69987
4	2:D,1	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Temp	Diluyente 2	34.3	12264	0.1900	100.0000	31.4	1.3	321237	87.5	69989
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 2	34.3	11010	0.2000	100.0000	31.3	1.1	359978	70.1	70021

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:A,3	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Foto	Fenilefrina	9.5	419334	0.2100	100.0000	98.52	8.0	1.2	45434	69990
2	2:B,3	1	2.0	Fenilefrina + Caf Umid	Fenilefrina	9.6	388290	0.2000	100.0000	95.79	8.1	1.2	41402	69988
3	2:C,2	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Inic	Fenilefrina	9.6	374554	0.1900	100.0000	97.26	8.1	1.2	46536	69987
4	2:D,1	1	2.0	Fenilefrina + Cafeína Temp	Fenilefrina	9.5	374362	0.1900	100.0000	97.21	8.0	1.2	52318	69989
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Fenilefrina	9.4		0.2000	100.0000					70021

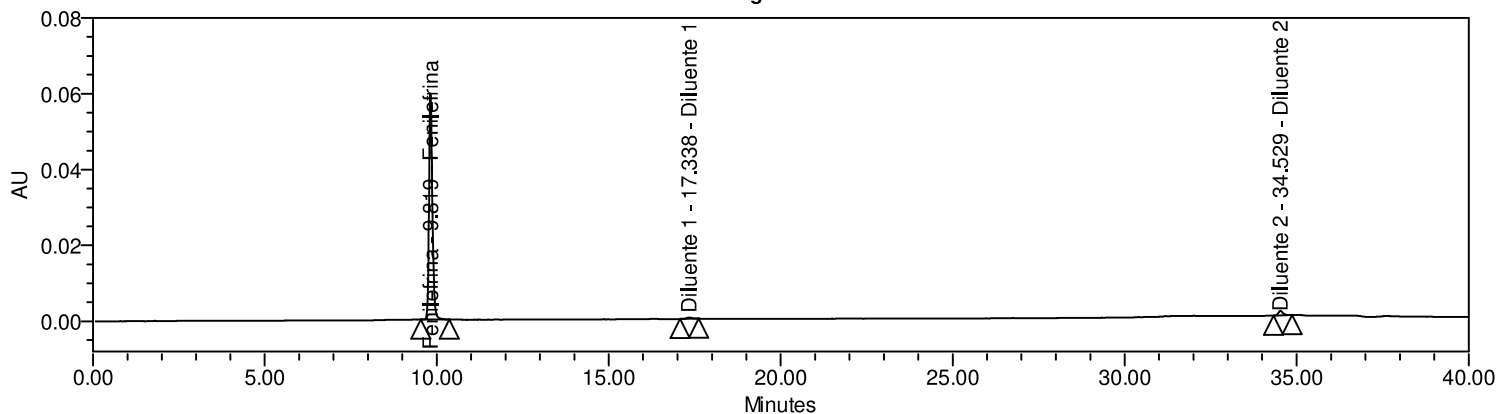
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



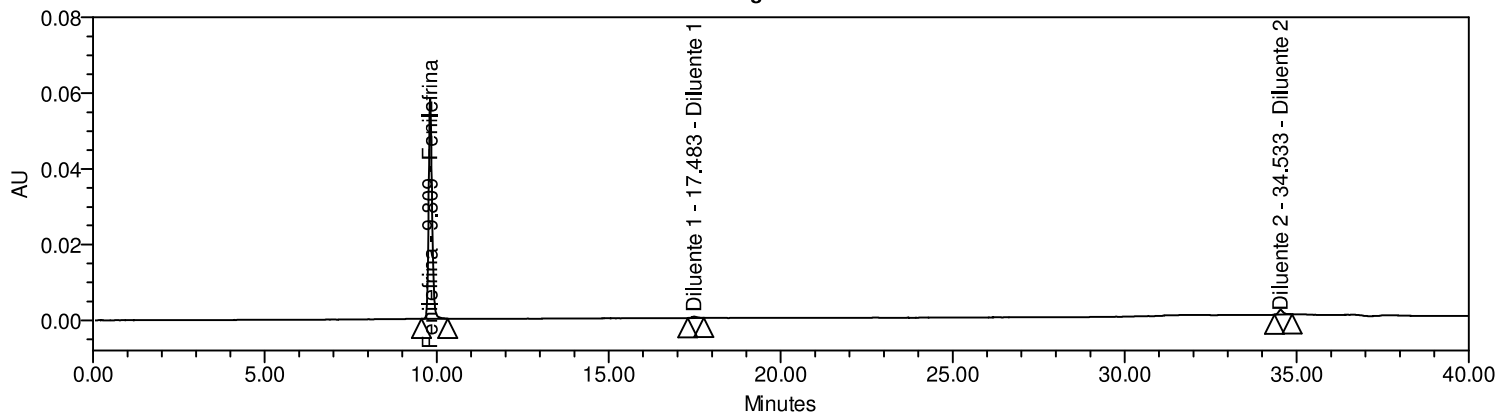
Vial 1:A;1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:02 PM GMT+3; Result Id 69874

Cromatogramas



Vial 1:A;1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:04 PM GMT+3; Result Id 69882

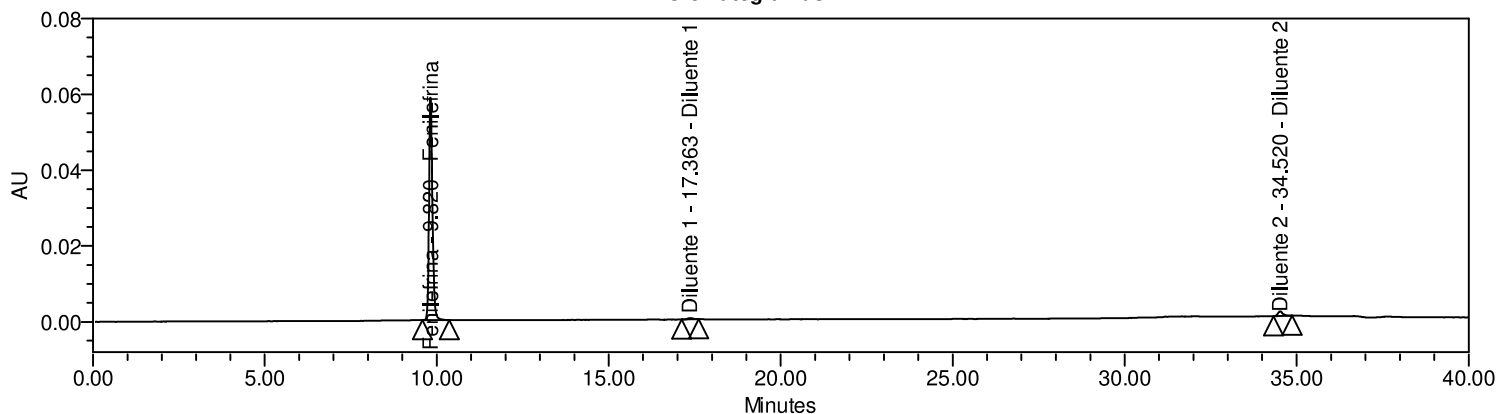
Cromatogramas



Vial 1:A;1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:05 PM GMT+3; Result Id 69883

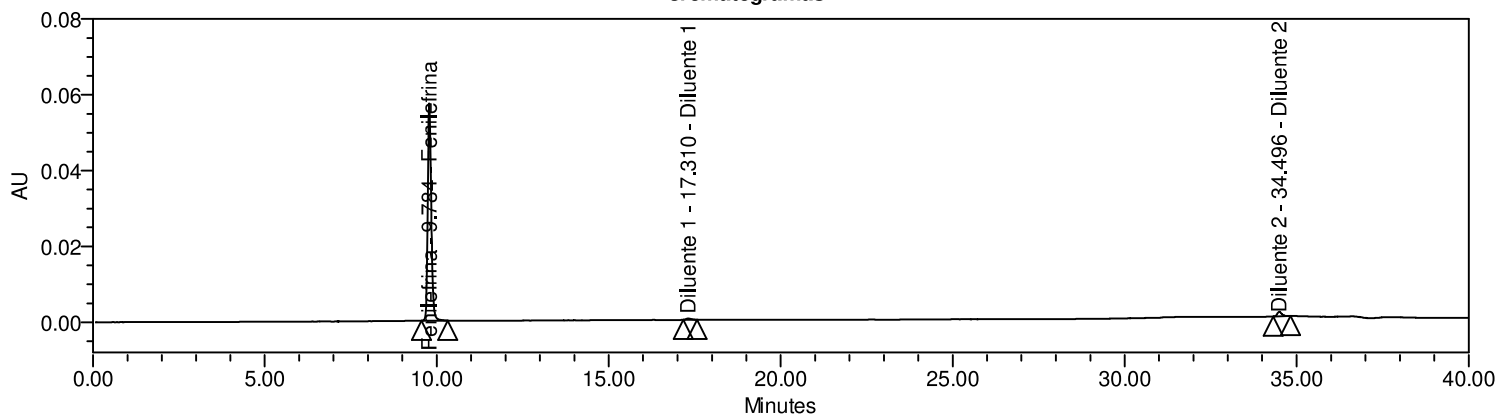
# Validação/Verificação de Método Analítico

### Cromatogramas



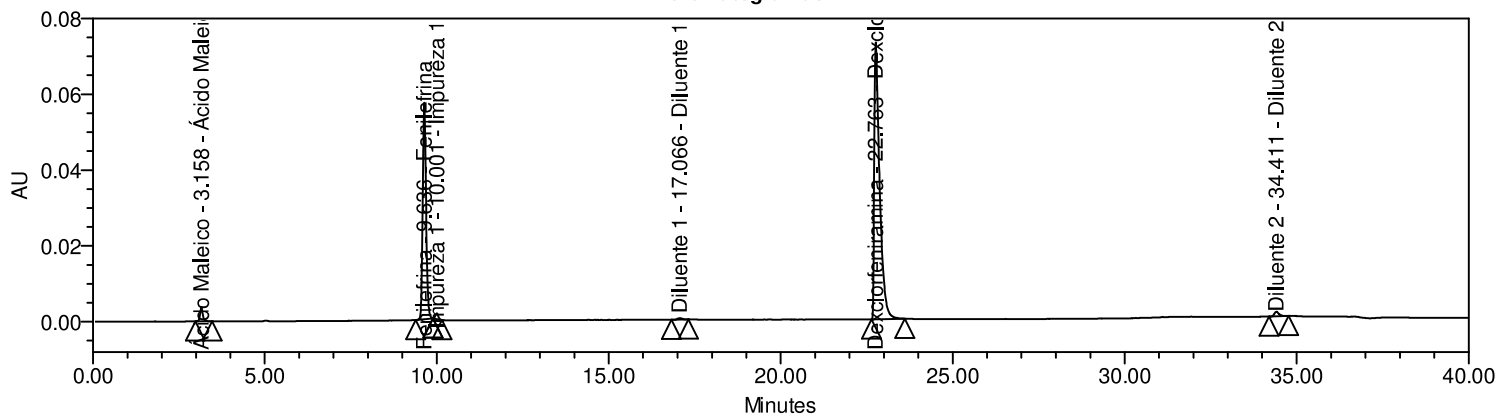
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:07 PM GMT+3; Result Id 69884

### Cromatogramas



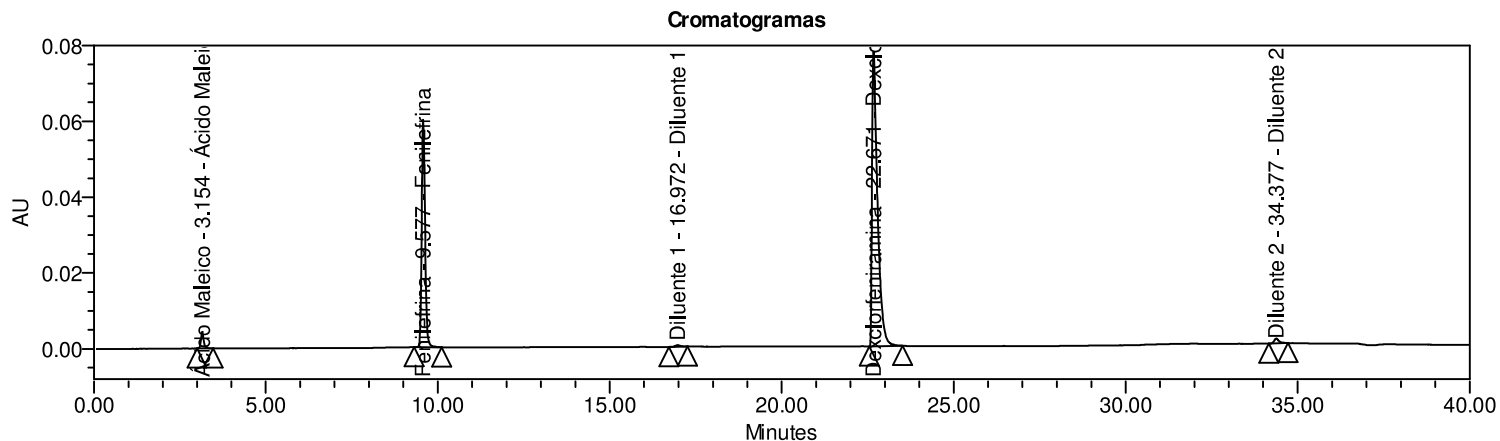
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:08 PM GMT+3; Result Id 69885

### Cromatogramas

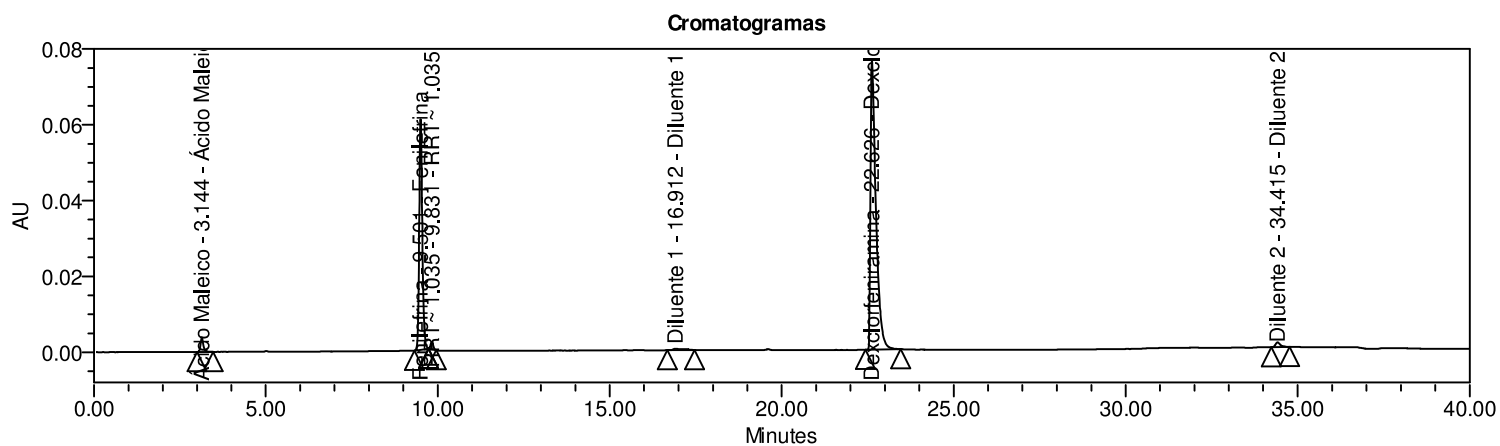


Vial 2:B,5; SampleName Fenilefrina + Dexclor Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 8:25:30 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:13 PM GMT+3; Result Id 69888

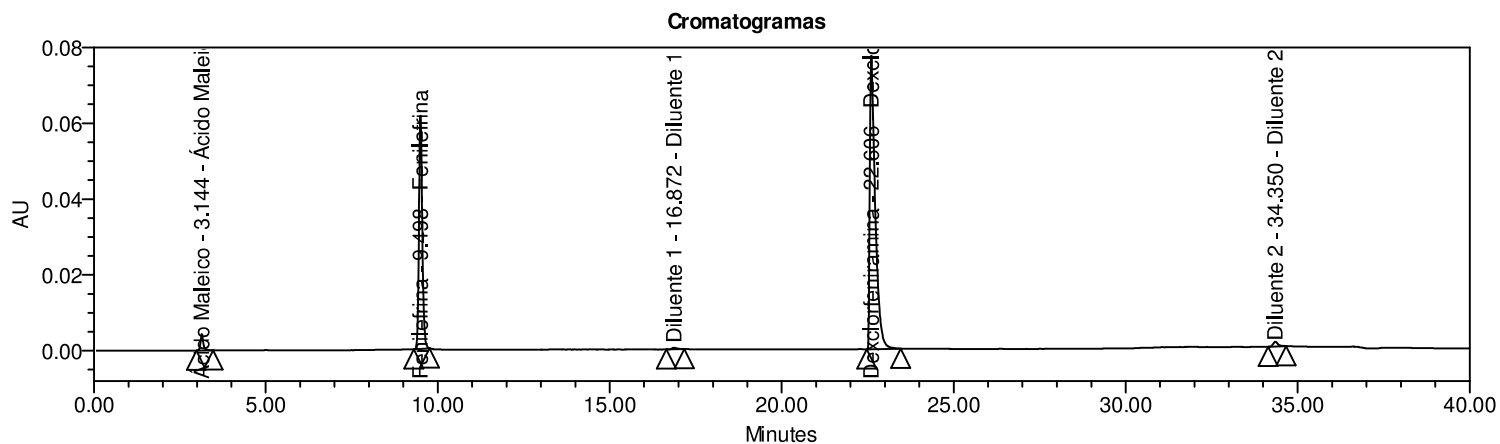
# Validação/Verificação de Método Analítico



Vial 2:C,5; SampleName Fenilefrina + Dexclor Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 1:51:03 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:10 PM GMT+3; Result Id 69887

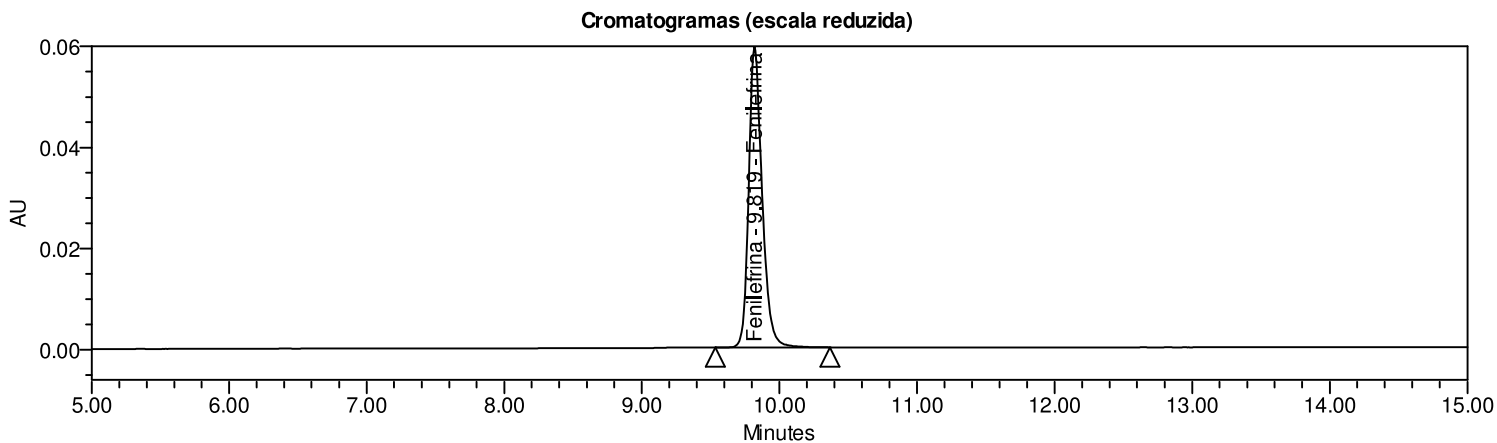
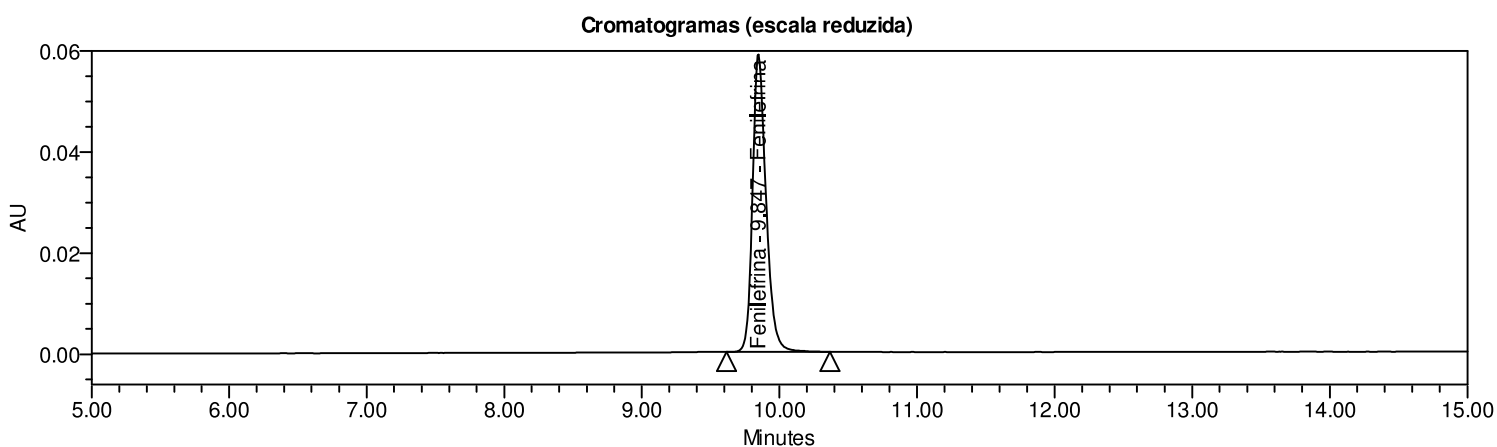
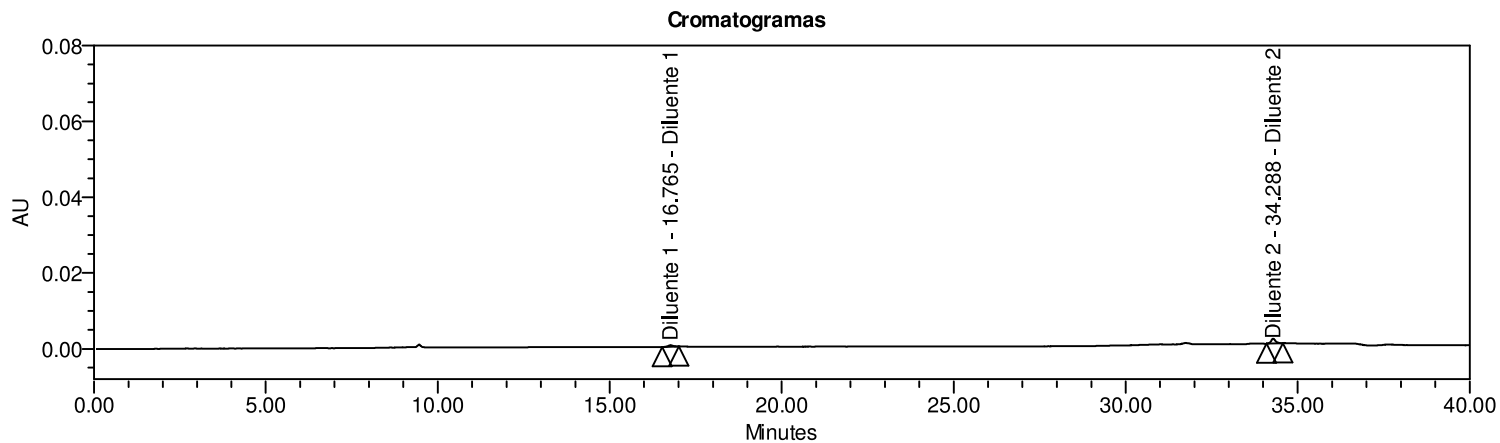


Vial 2:D,3; SampleName Fenilefrina + Dexclorf Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 5:55:10 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:15 PM GMT+3; Result Id 69889



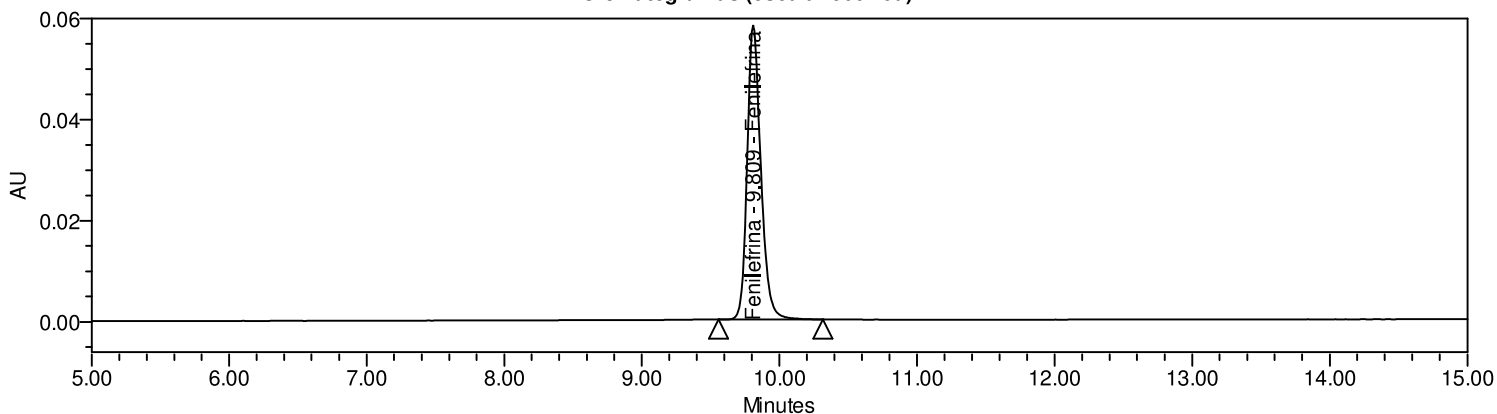
Vial 2:E,2; SampleName Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 12:01:20 PM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:16 PM GMT+3; Result Id 69890

# Validação/Verificação de Método Analítico



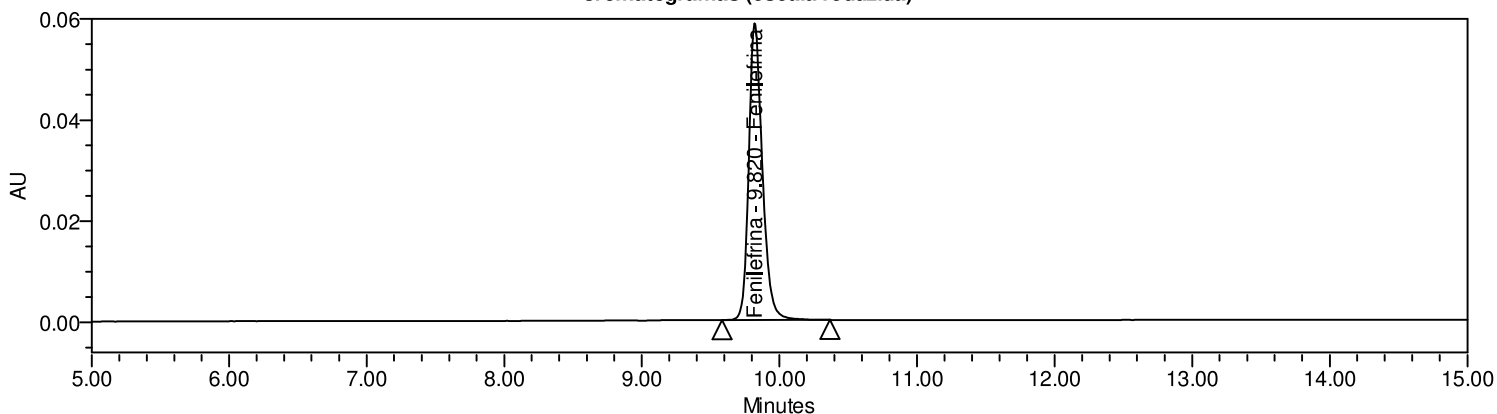
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



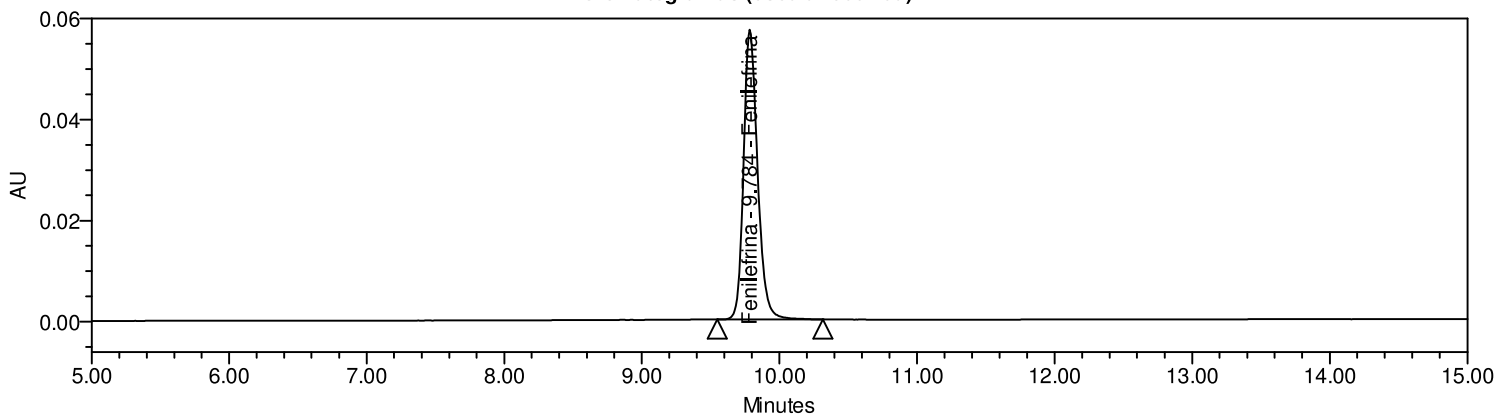
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:05 PM GMT+3; Result Id 69883

Cromatogramas (escala reduzida)



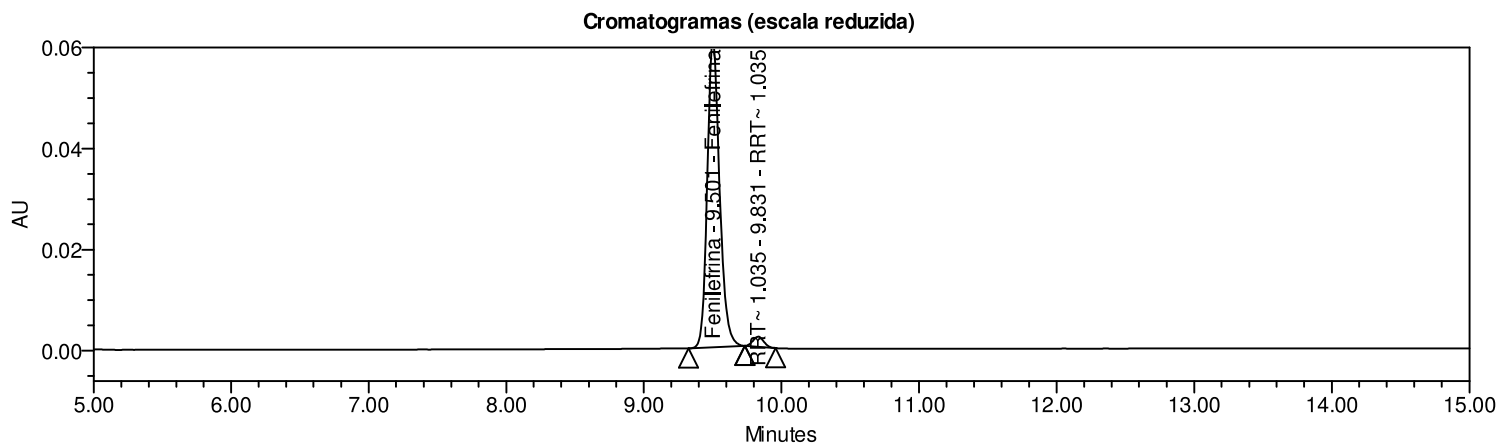
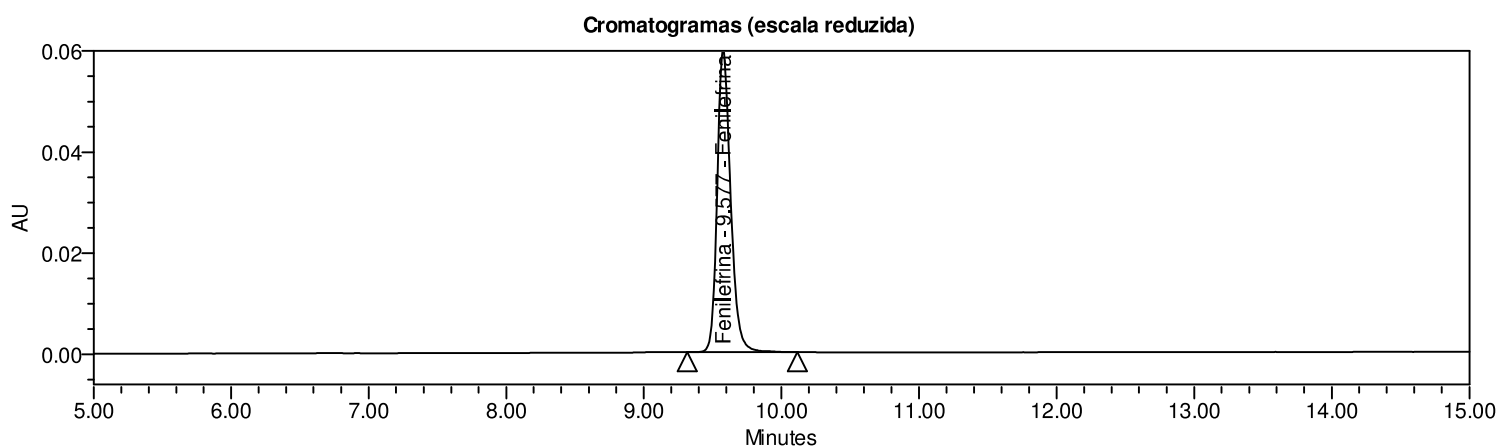
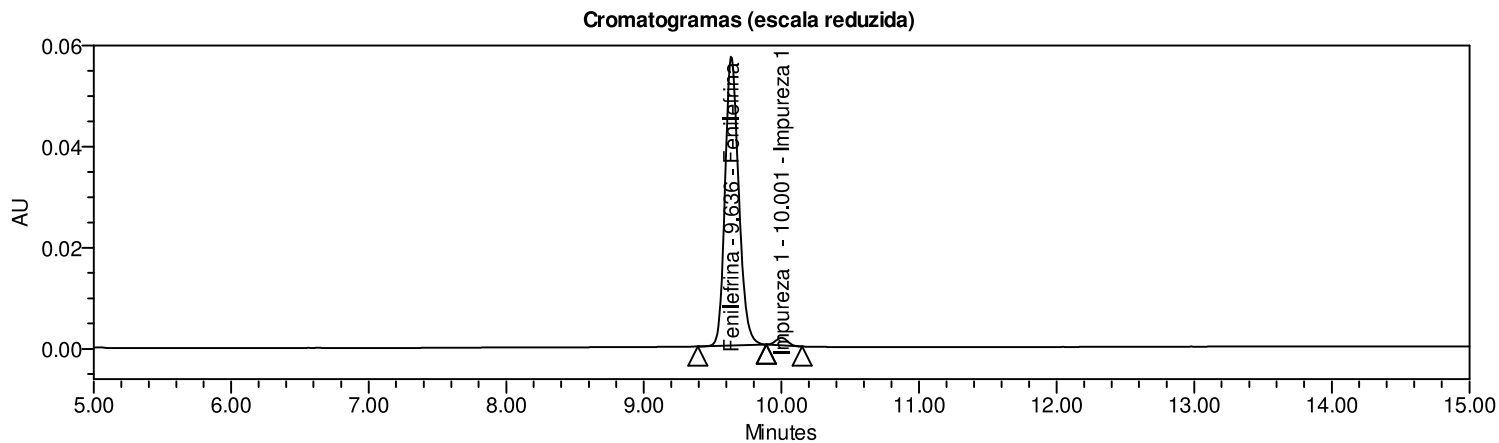
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:07 PM GMT+3; Result Id 69884

Cromatogramas (escala reduzida)

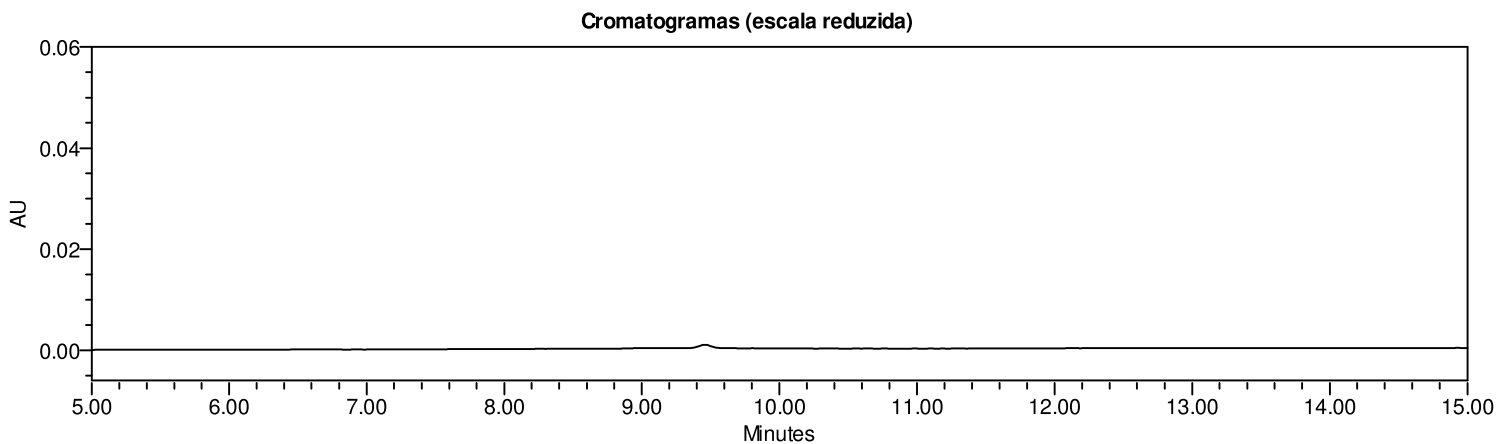
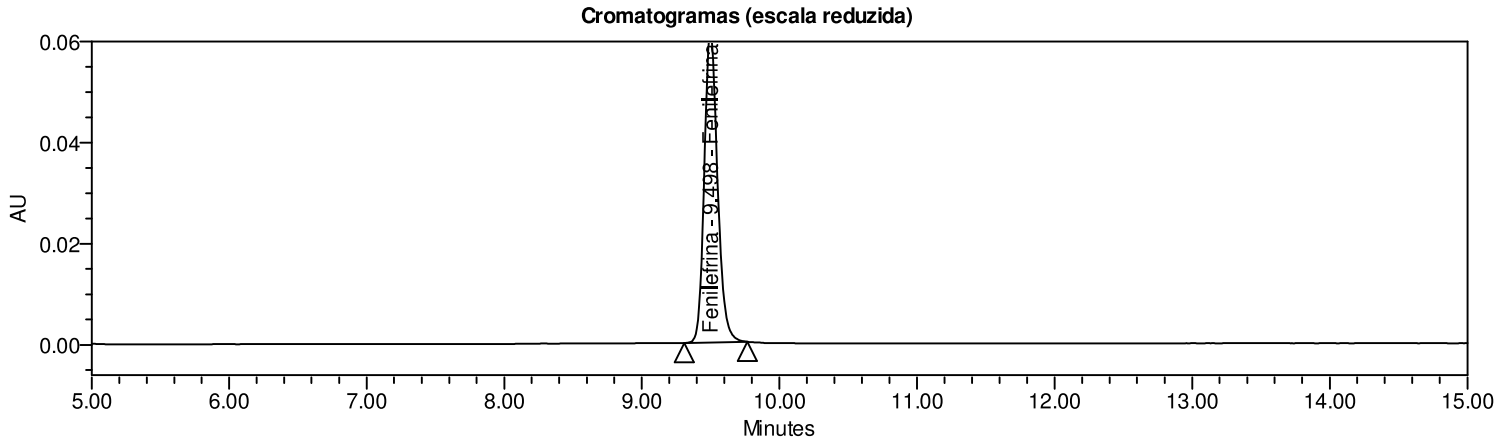


Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/23/2021 1:50:08 PM GMT+3; Result Id 69885

# Validação/Verificação de Método Analítico



# Validação/Verificação de Método Analítico



# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Dexclorfeniramina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Dexclorfeniramina	22.7	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Dexclorfeniramina	22.7	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Dexclorfeniramina	22.7	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Dexclorfeniramina	22.7	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Dexclorfeniramina	22.7	69885
Mean						22.7	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3935	15.4	0.9	63813	32.6	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3875	15.4	1.0	65332	33.1	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.5	3603	15.5	1.3	69060	33.9	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.4	3592	15.4	1.0	72246	33.8	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3507	15.3	1.4	64533	32.7	69885
Mean						17.4	3702	15.4	1.1	66997	33.2	
Std. Dev.							189.9					
% RSD							5.1					

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11585	31.6	1.2	335560	65.6	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11644	31.6	1.2	338902	66.3	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11753	31.6	1.2	330434	66.2	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11872	31.6	1.2	333312	67.1	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11538	31.5	1.2	332606	66.4	69885
Mean						34.5	11678	31.6	1.2	334163	66.3	
Std. Dev.							134.9					
% RSD							1.2					

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404956	0.2000	8.3	1.2	48812	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405499	0.2000	8.3	1.3	49351	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404798	0.2000	8.3	1.2	47153	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405550	0.2000	8.3	1.2	48156	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406056	0.2000	8.2	1.2	45242	69885
Mean						9.8	405372	0.2000	8.3	1.2	47743	
Std. Dev.							504.5	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Impureza 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.2	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.2	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.2	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.2	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.2	69885
Mean						10.2	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Ácido Maleico

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	69874
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	69882
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	69883
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	69884
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	69885
Mean						3.2	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Dexclorfeniramina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Umid	Dexclorfeniramina	22.8	798098	0.2000	100.0000	20.5	2.4	101042	20.0	69888
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Inic	Dexclorfeniramina	22.7	854220	0.2000	100.0000	20.4	2.4	98623	19.8	69887
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Temp	Dexclorfeniramina	22.6	837397	0.2000	100.0000	20.3	2.4	98933	12.4	69889
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Mal Foto	Dexclorfeniramina	22.6	842496	0.2000	100.0000	20.3	2.4	100249	20.3	69890
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Dexclorfeniramina	22.7		0.2000	100.0000					69891

## Name: Diluyente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Umid	Diluyente 1	17.1	3970	0.2000	100.0000	15.1	1.0	64442	32.6	69888
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Inic	Diluyente 1	17.0	4093	0.2000	100.0000	15.0	1.0	63349	32.8	69887
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Temp	Diluyente 1	16.9	8818	0.2000	100.0000	15.0	1.8	2280	18.4	69889
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Mal Foto	Diluyente 1	16.9	4046	0.2000	100.0000	14.9	1.0	66898	33.3	69890
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 1	16.8	4002	0.2000	100.0000	14.8	1.1	65199		69891

## Name: Diluyente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Umid	Diluyente 2	34.4	12263	0.2000	100.0000	31.5	1.2	319411	42.2	69888
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Inic	Diluyente 2	34.4	12463	0.2000	100.0000	31.4	1.3	321552	42.0	69887
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Temp	Diluyente 2	34.4	12582	0.2000	100.0000	31.5	1.3	324503	42.8	69889
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclor Mal Foto	Diluyente 2	34.3	12568	0.2000	100.0000	31.4	1.3	316018	42.3	69890
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 2	34.3	11010	0.2000	100.0000	31.3	1.1	359978	70.1	69891

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Umid	Fenilefrina	9.6	394735	0.2000	100.0000	97.38	8.1	1.2	45375	40.0
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Inic	Fenilefrina	9.6	407366	0.2000	100.0000	100.49	8.0	1.2	47572	40.1
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Temp	Fenilefrina	9.5	379052	0.2000	100.0000	93.51	8.0	1.2	54166	41.3
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto	Fenilefrina	9.5	413466	0.2000	100.0000	102.00	8.0	1.2	46844	39.8
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Fenilefrina	9.4		0.2000	100.0000					

## Name: Fenilefrina

	Result Id
1	69888
2	69887
3	69889
4	69890
5	69891

## Name: Impureza 1

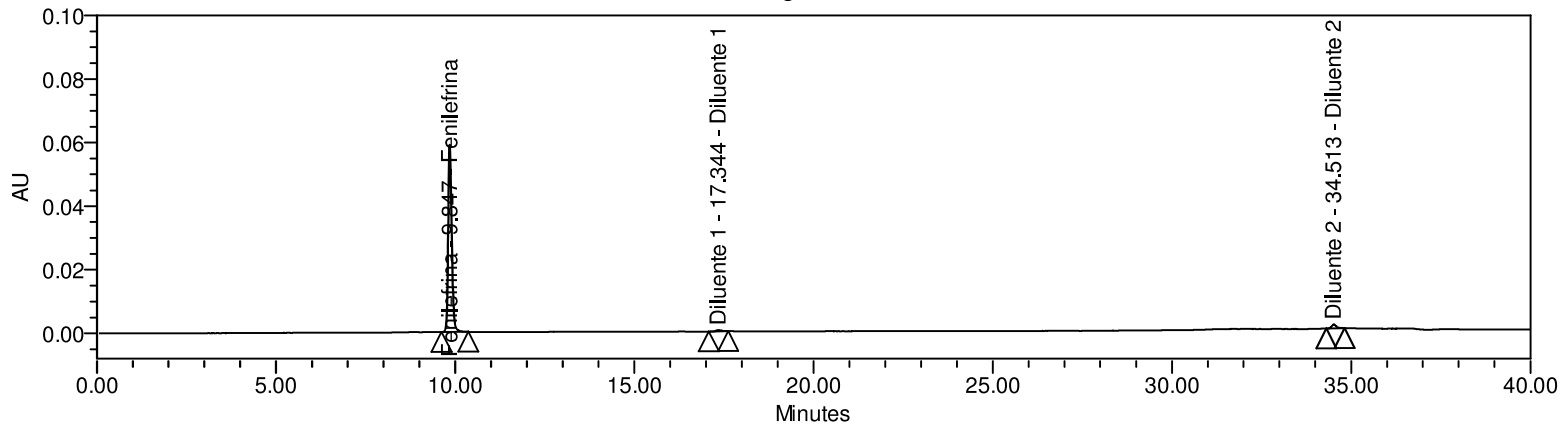
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Umid	Impureza 1	10.0	9175	0.2000	100.0000	8.4	1.1	60519	2.1	69888
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Inic	Impureza 1	10.2		0.2000	100.0000					69887
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Temp	Impureza 1	10.2		0.2000	100.0000					69889
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto	Impureza 1	10.2		0.2000	100.0000					69890
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Impureza 1	10.2		0.2000	100.0000					69891

## Name: Ácido Maleico

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:B,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Umid	Ácido Maleico	3.2	20996	0.2000	100.0000	2.0	1.3	8566	69888
2	2:C,5	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Inic	Ácido Maleico	3.2	24748	0.2000	100.0000	2.0	1.3	8717	69887
3	2:D,3	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Temp	Ácido Maleico	3.1	21670	0.2000	100.0000	2.0	1.3	8608	69889
4	2:E,2	1	2.0	Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto	Ácido Maleico	3.1	23997	0.2000	100.0000	2.0	1.3	8637	69890
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Ácido Maleico	3.2		0.2000	100.0000				69891

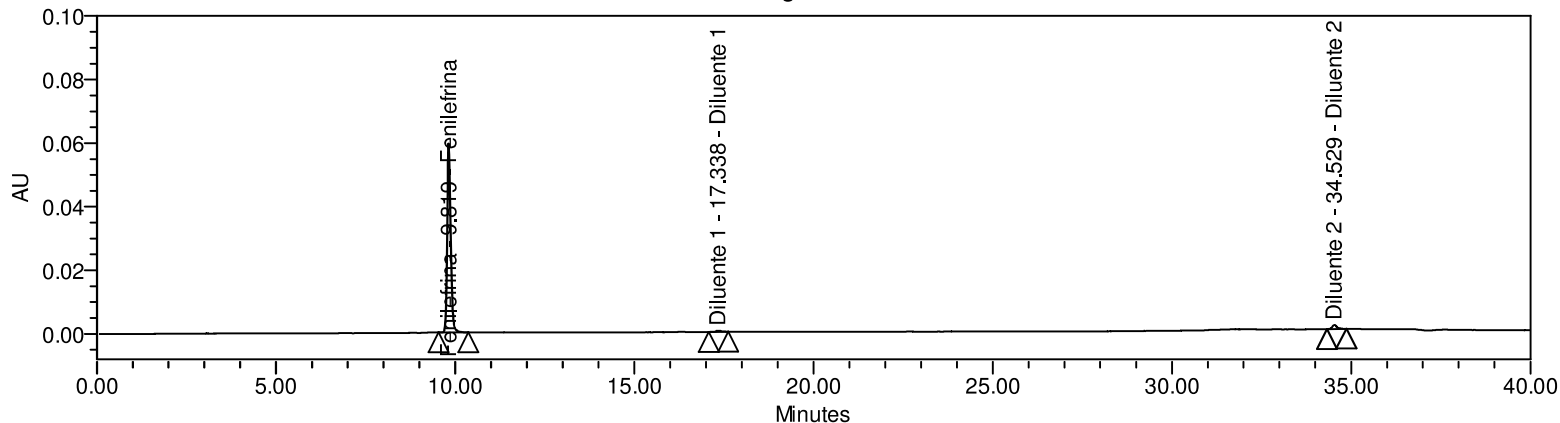
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



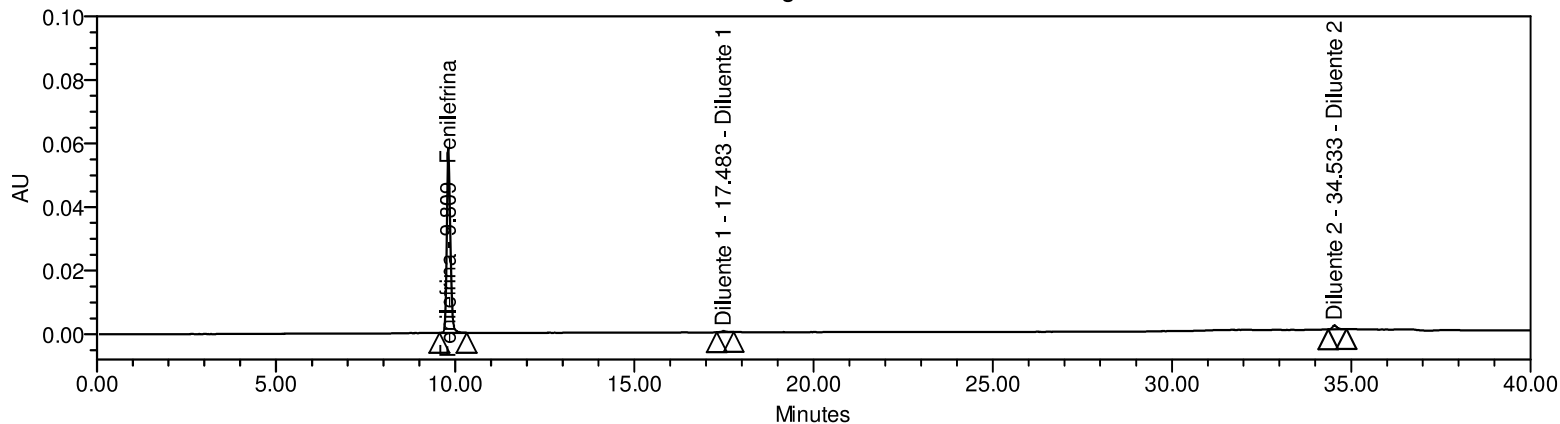
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:47 AM GMT+3; Result Id 70123

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:50 AM GMT+3; Result Id 70131

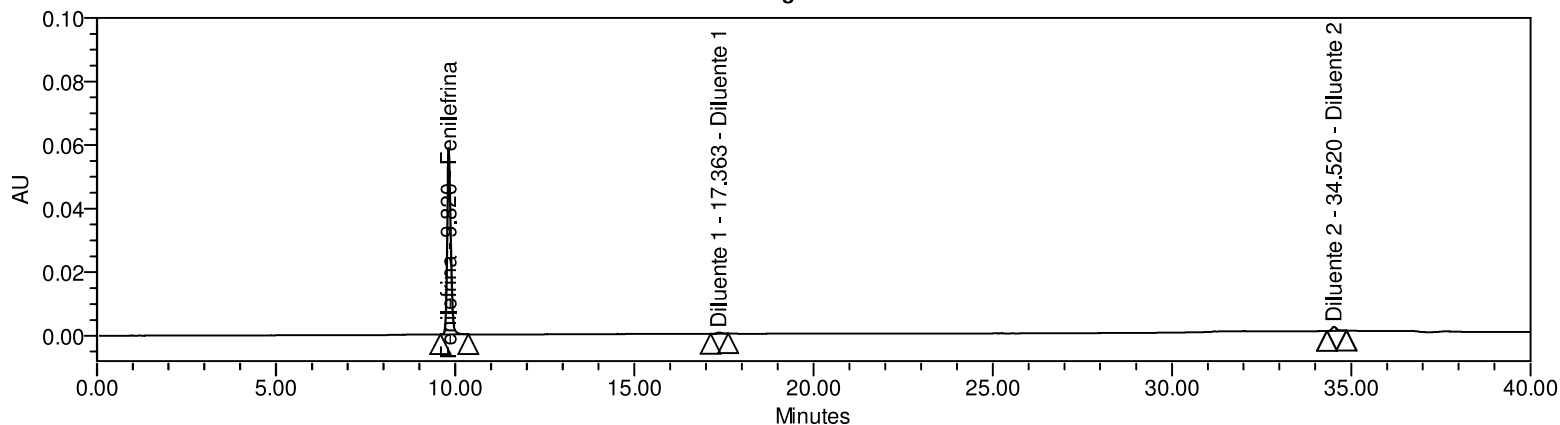
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:52 AM GMT+3; Result Id 70132

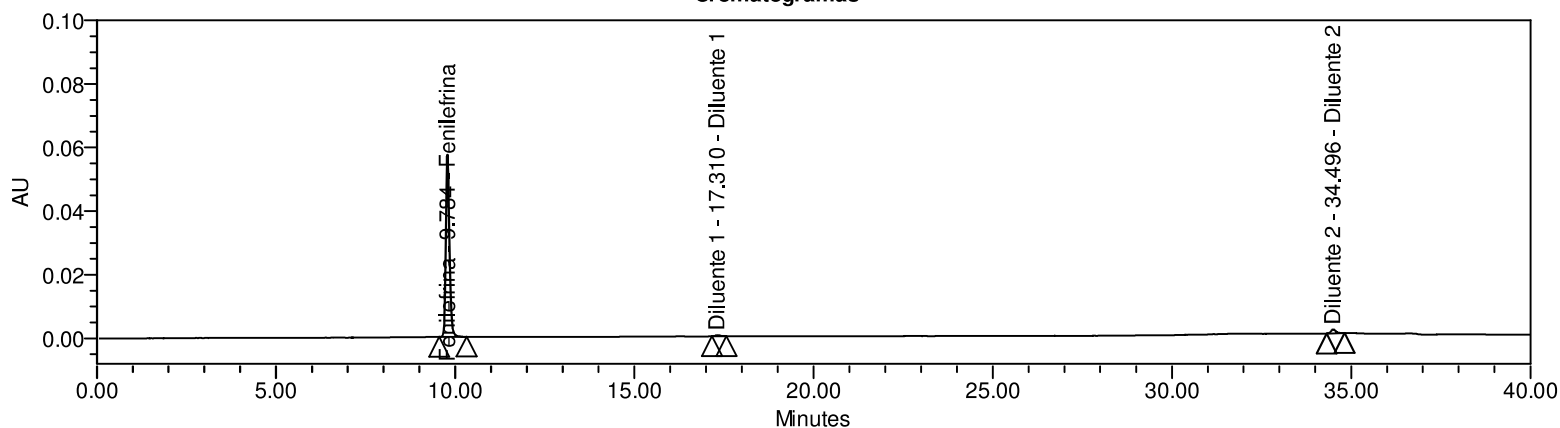
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



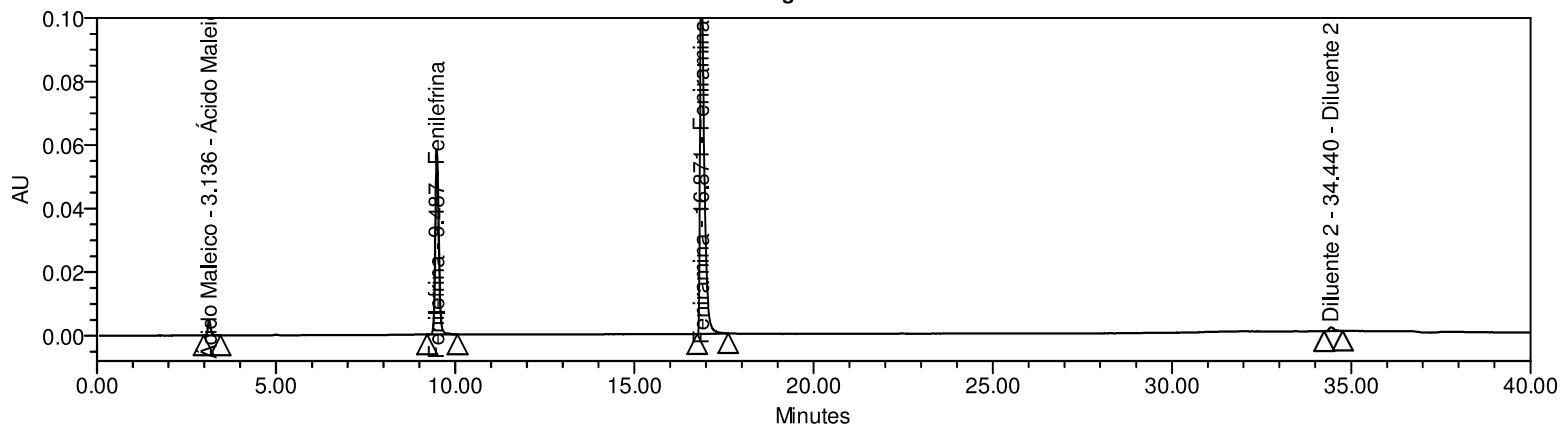
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:54 AM GMT+3; Result Id 70133

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:57 AM GMT+3; Result Id 70134

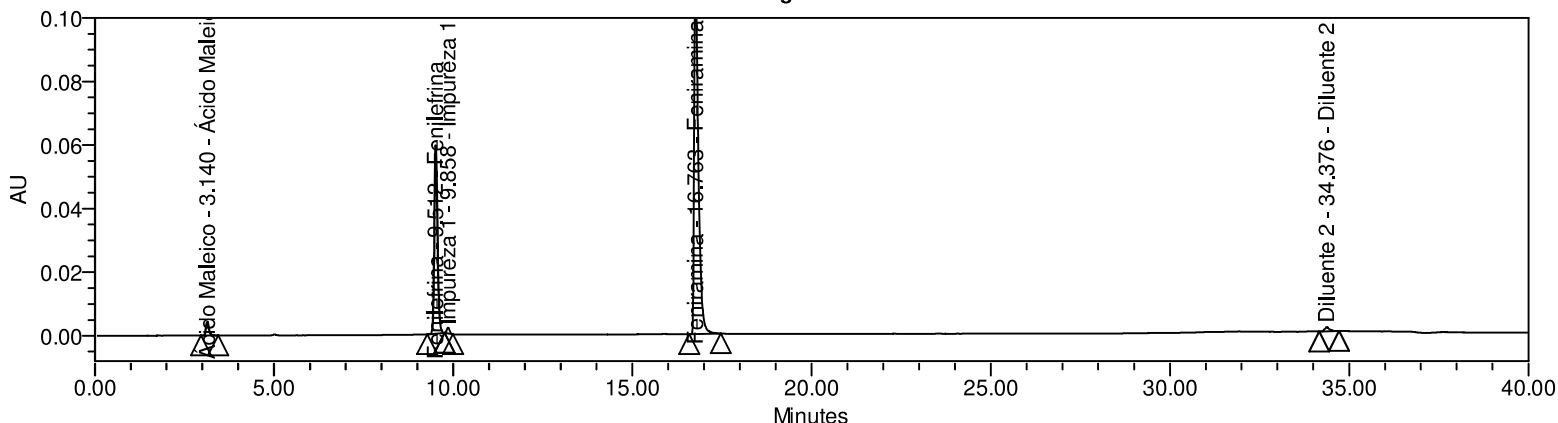
Cromatogramas



Vial 2:A,4; SampleName Fenilefrina + Feniramina Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 2:19:17 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:14 AM GMT+3; Result Id 70138

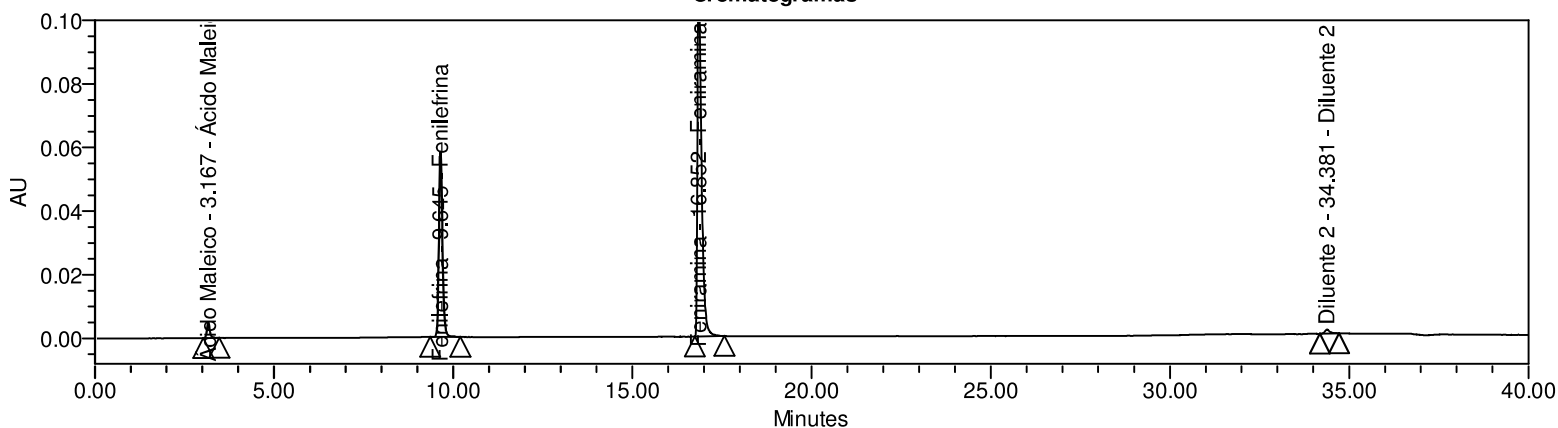
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



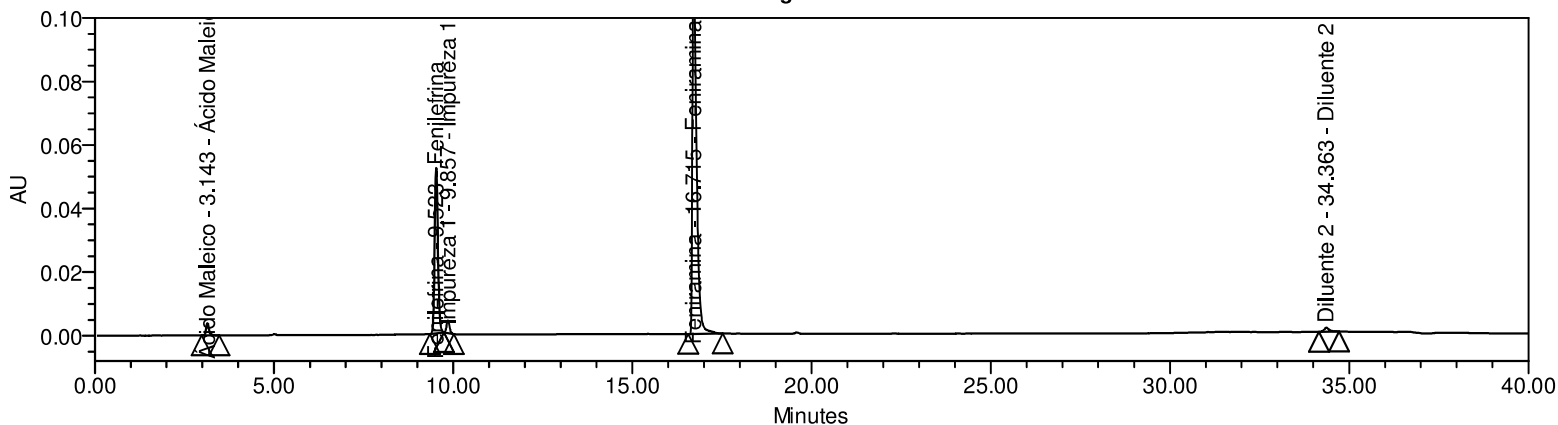
Vial 2:A,7; SampleName Fenilefrina + Fenira Umidade; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:21:20 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:06 AM GMT+3; Result Id 70136

Cromatogramas



Vial 2:C,3; SampleName Fenilefrina + Feniramina Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 12:29:40 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:00 AM GMT+3; Result Id 70135

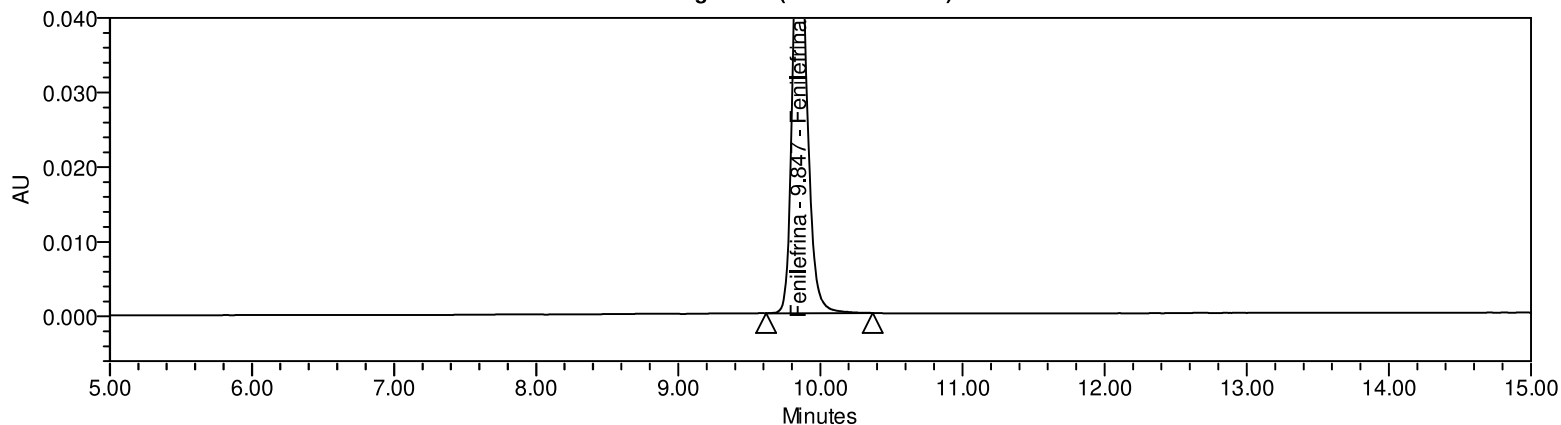
Cromatogramas



Vial 2:D,6; SampleName Fenilefrina + Feniramina Mal Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 7:57:15 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:10 AM GMT+3; Result Id 70137

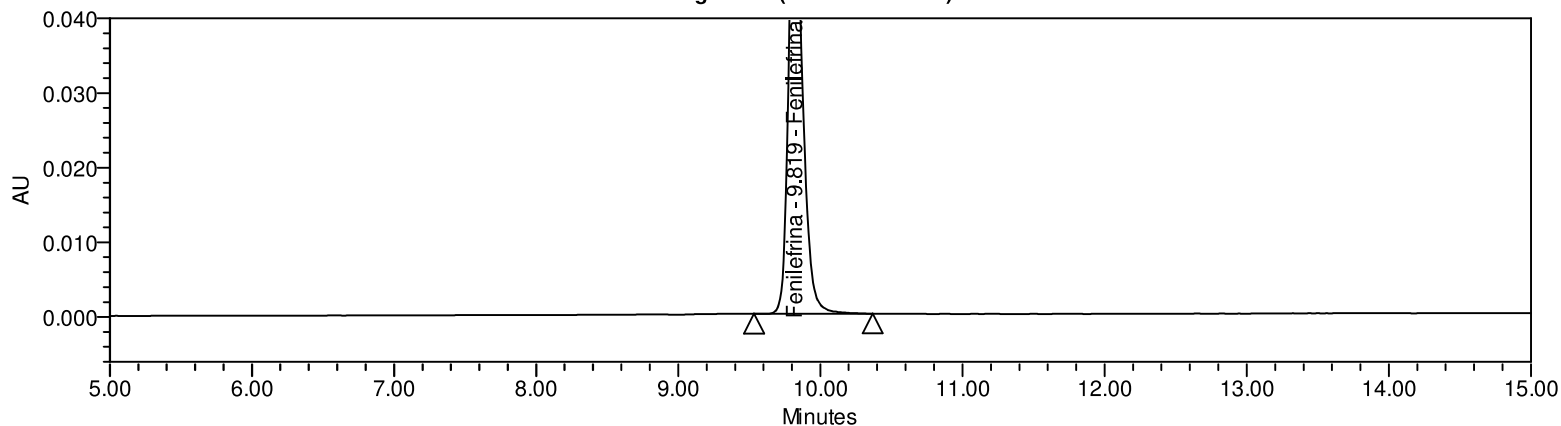
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



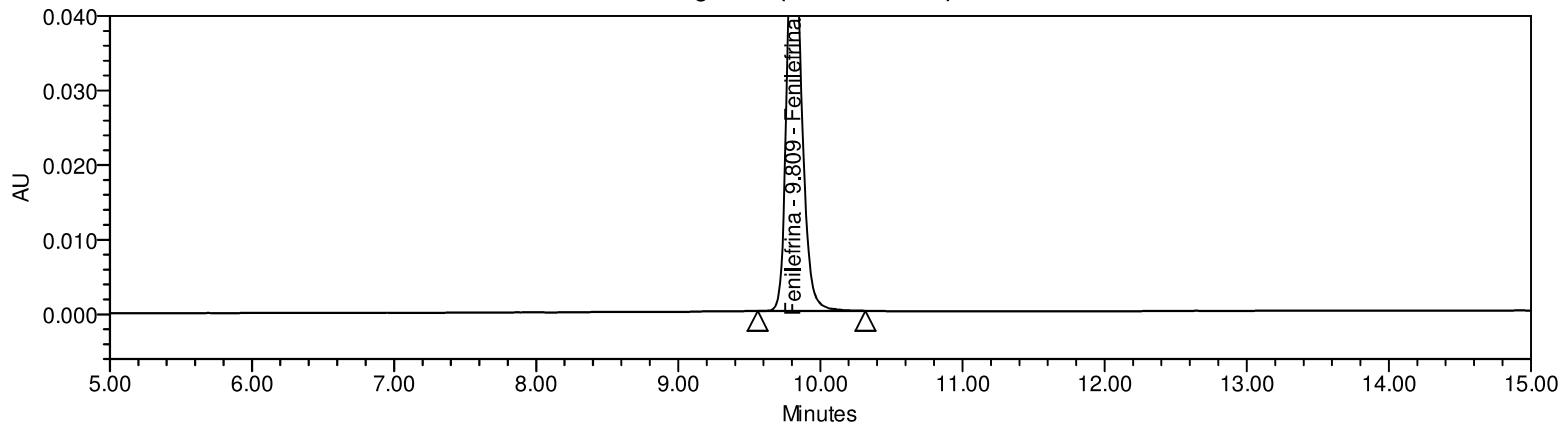
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:47 AM GMT+3; Result Id 70123

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:50 AM GMT+3; Result Id 70131

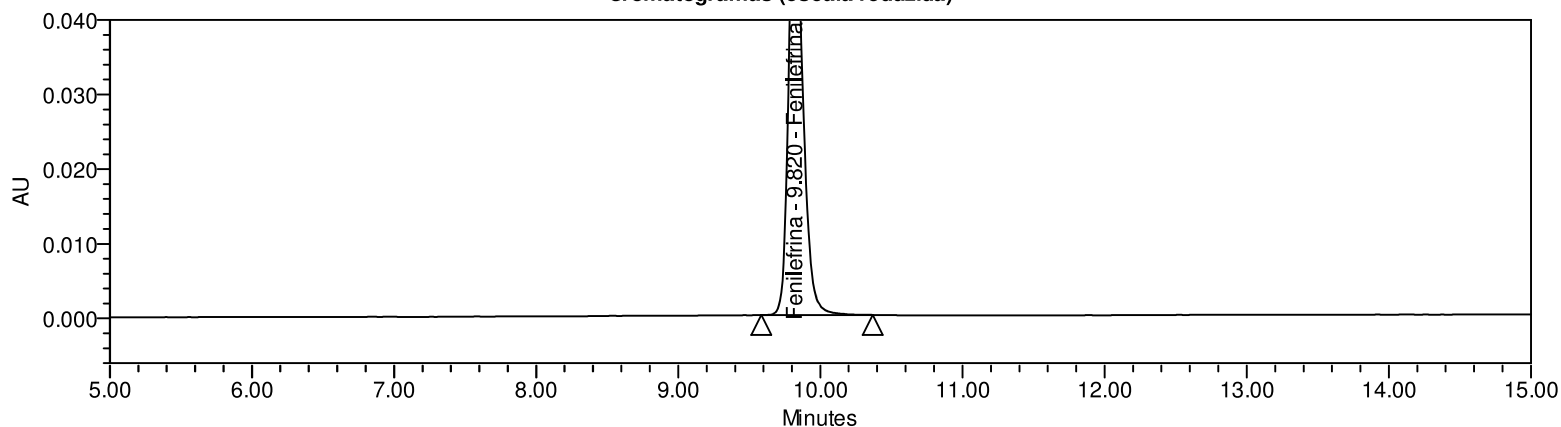
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:52 AM GMT+3; Result Id 70132

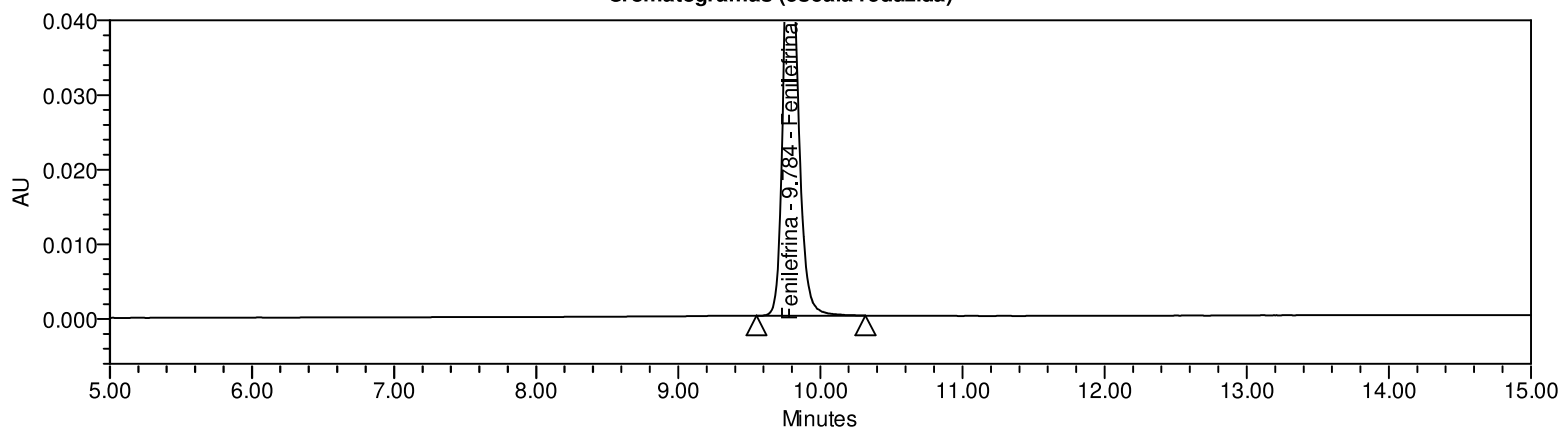
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



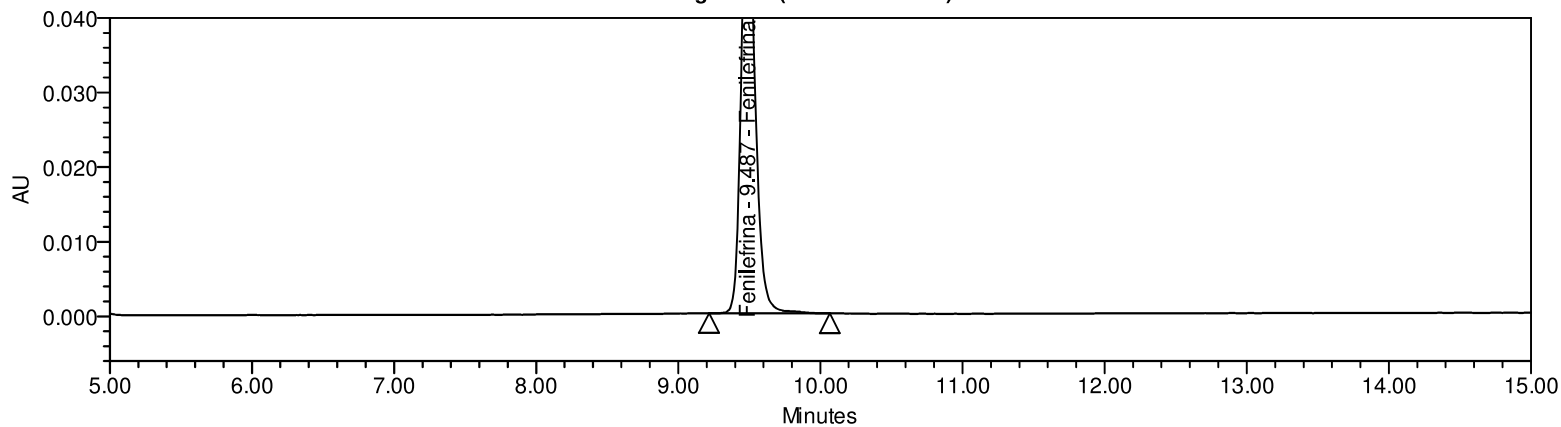
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:54 AM GMT+3; Result Id 70133

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:00:57 AM GMT+3; Result Id 70134

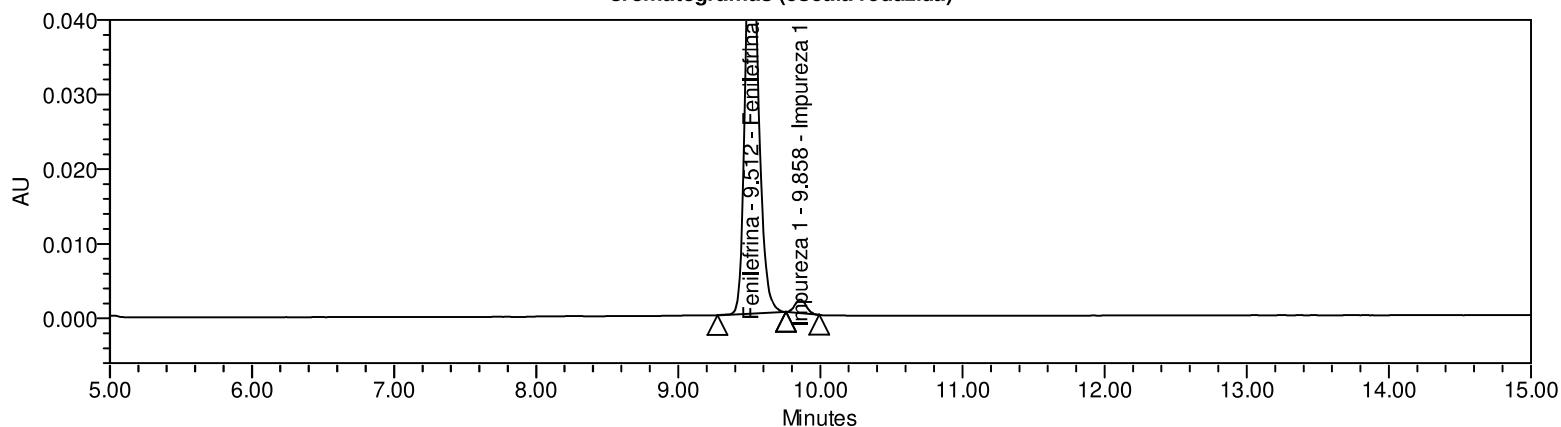
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:A,4; SampleName Fenilefrina + Feniramina Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 2:19:17 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:14 AM GMT+3; Result Id 70138

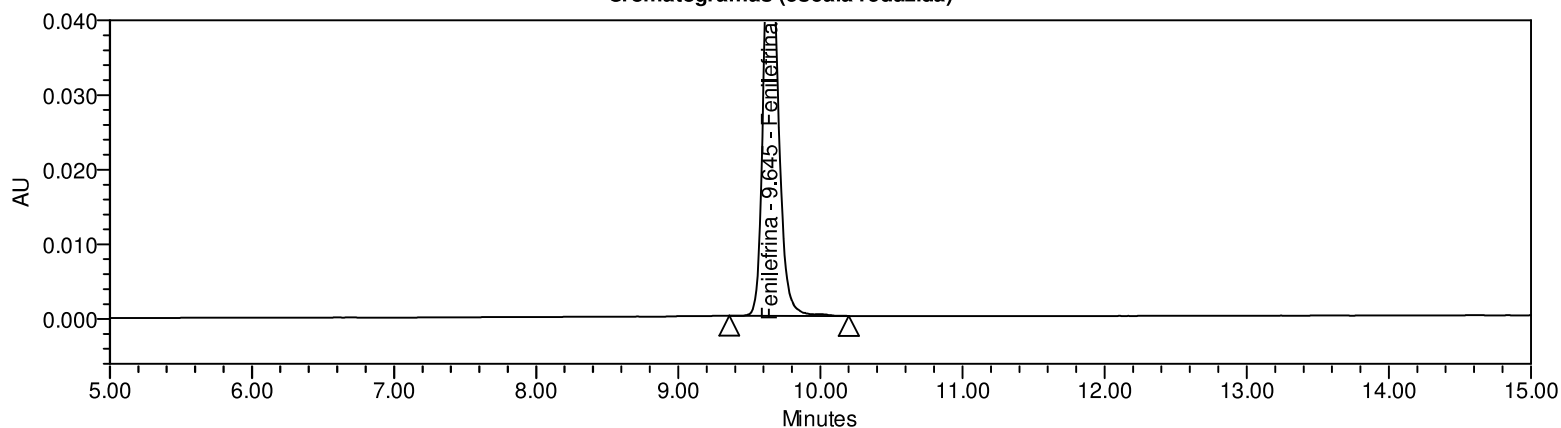
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



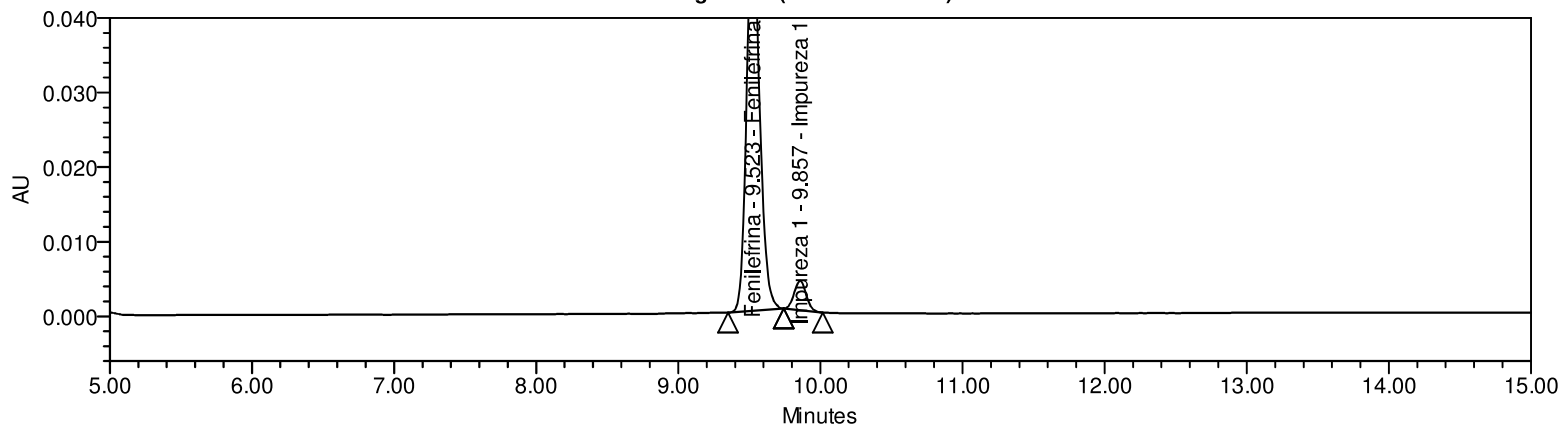
Vial 2:A,7; SampleName Fenilefrina + Fenira Umidade; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:21:20 PM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:06 AM GMT+3; Result Id 70136

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:C,3; SampleName Fenilefrina + Feniramina Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 12:29:40 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:00 AM GMT+3; Result Id 70135

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:D,6; SampleName Fenilefrina + Feniramina Mal Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 7:57:15 AM GMT+3; Date Processed 11/24/2021 8:01:10 AM GMT+3; Result Id 70137

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3935	15.4	0.9	63813	32.6	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3875	15.4	1.0	65332	33.1	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.5	3603	15.5	1.3	69060	33.9	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.4	3592	15.4	1.0	72246	33.8	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3507	15.3	1.4	64533	32.7	70134
Mean						17.4	3702	15.4	1.1	66997	33.2	
Std. Dev.							189.9					
% RSD							5.1					

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11585	31.6	1.2	335560	65.6	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11644	31.6	1.2	338902	66.3	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11753	31.6	1.2	330434	66.2	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11872	31.6	1.2	333312	67.1	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11538	31.5	1.2	332606	66.4	70134
Mean						34.5	11678	31.6	1.2	334163	66.3	
Std. Dev.							134.9					
% RSD							1.2					

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404956	0.2000	8.3	1.2	48812	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405499	0.2000	8.3	1.3	49351	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404798	0.2000	8.3	1.2	47153	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405550	0.2000	8.3	1.2	48156	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406056	0.2000	8.2	1.2	45242	70134
Mean						9.8	405372	0.2000	8.3	1.2	47743	
Std. Dev.							504.5	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Name: Feniramina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Feniramina	16.8	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Feniramina	16.8	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Feniramina	16.8	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Feniramina	16.8	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Feniramina	16.8	70134
Mean						16.8	
Std. Dev.							
% RSD							

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Impureza 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.1	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.1	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.1	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.1	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Impureza 1	10.1	70134
Mean						10.1	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Ácido Maleico

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	70123
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	70131
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	70132
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	70133
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Ácido Maleico	3.2	70134
Mean						3.2	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Sample Weight	Dilution	Result Id
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Diluente 1	18.0	0.1900	100.0000	70138
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Diluente 1	18.0	0.1900	100.0000	70136
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Diluente 1	18.0	0.2000	100.0000	70135
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Diluente 1	18.0	0.1900	100.0000	70137

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Diluente 2	34.4	11951	0.1900	100.0000	31.5	1.3	326432	75.8	70138
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Diluente 2	34.4	12245	0.1900	100.0000	31.4	1.2	317561	74.4	70136
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Diluente 2	34.4	12286	0.2000	100.0000	31.4	1.3	318402	75.5	70135
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Diluente 2	34.4	13024	0.1900	100.0000	31.4	1.4	305792	75.4	70137

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Fenilefrina	9.5	395474	0.1900	100.0000	102.69	8.0	1.2	46861	39.9
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Fenilefrina	9.5	367387	0.1900	100.0000	95.40	8.0	1.2	55214	41.7
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Fenilefrina	9.6	406004	0.2000	100.0000	100.16	8.1	1.2	46161	40.1
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Fenilefrina	9.5	331969	0.1900	100.0000	86.20	8.0	1.2	51845	41.2

## Name:

### Fenilefrina

	Result Id		Result Id
1	70138	3	70135
2	70136	4	70137

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Feniramina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Feniramina	16.9	938639	0.1900	100.0000	14.9	2.0	103730	37.3	70138
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Feniramina	16.8	920326	0.1900	100.0000	14.8	2.0	99706	37.3	70136
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Feniramina	16.9	904649	0.2000	100.0000	14.9	1.9	109384	36.5	70135
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Feniramina	16.7	930815	0.1900	100.0000	14.8	1.9	109337	37.2	70137

## Name: Impureza 1

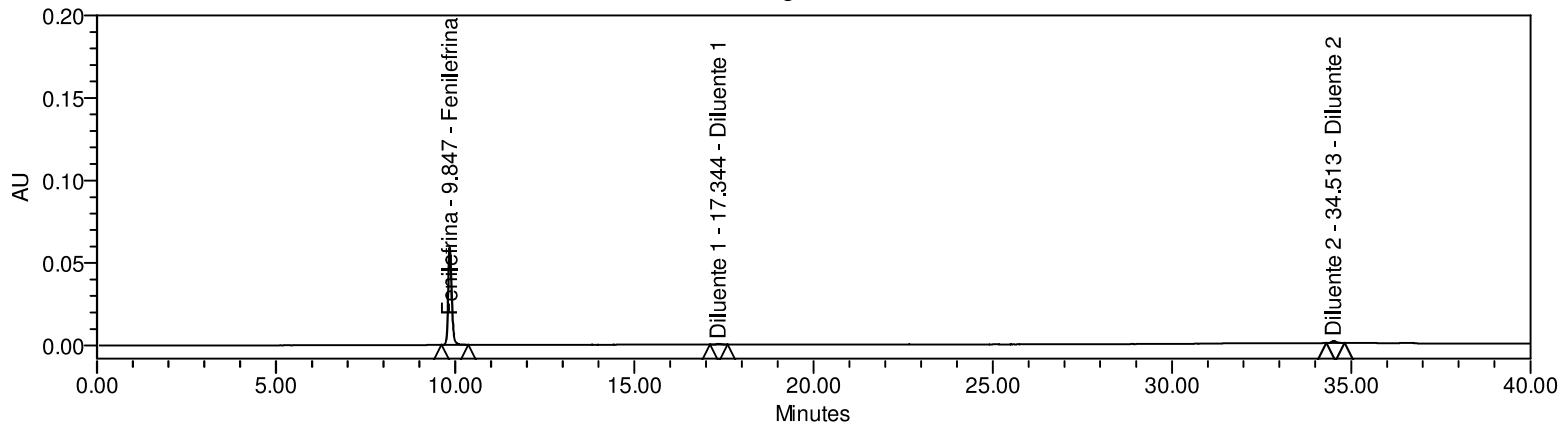
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Impureza 1	10.1		0.1900	100.0000					70138
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Impureza 1	9.9	10133	0.1900	100.0000	8.3	1.1	70196	2.2	70136
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Impureza 1	10.1		0.2000	100.0000					70135
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Impureza 1	9.9	23298	0.1900	100.0000	8.3	1.1	63694	2.0	70137

## Name: Ácido Maleico

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:A,4	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Foto	Ácido Maleico	3.1	26258	0.1900	100.0000	2.0	1.3	8772	70138
2	2:A,7	1	2.0	Fenilefrina + Fenira Umidade	Ácido Maleico	3.1	24184	0.1900	100.0000	2.0	1.3	8417	70136
3	2:C,3	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Inic	Ácido Maleico	3.2	26274	0.2000	100.0000	2.0	1.3	8631	70135
4	2:D,6	1	2.0	Fenilefrina + Feniramina Mal Temp	Ácido Maleico	3.1	21574	0.1900	100.0000	2.0	1.3	8649	70137

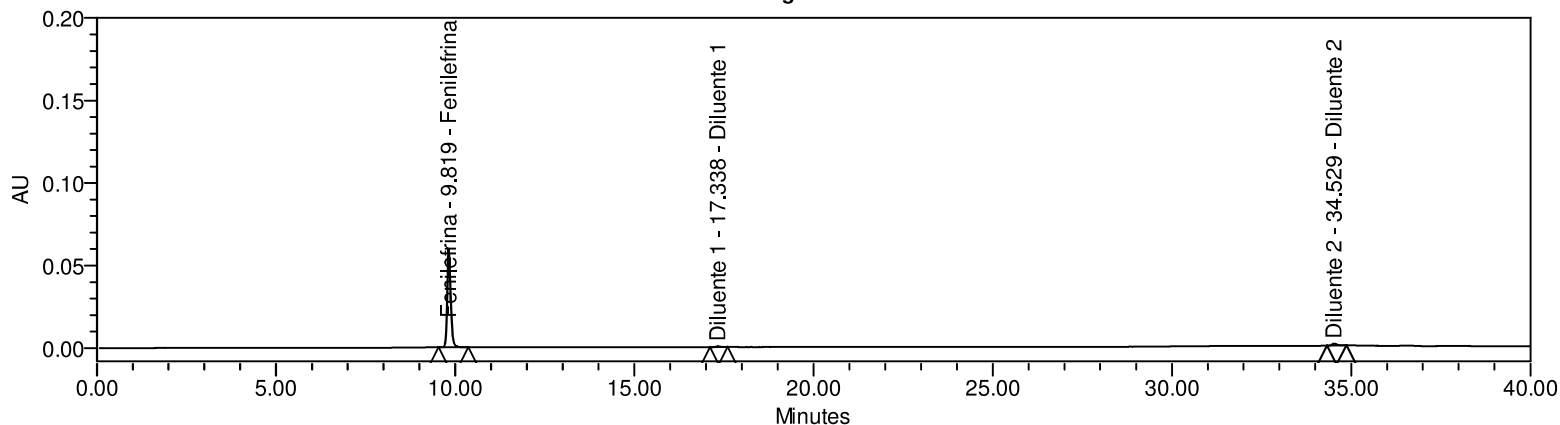
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



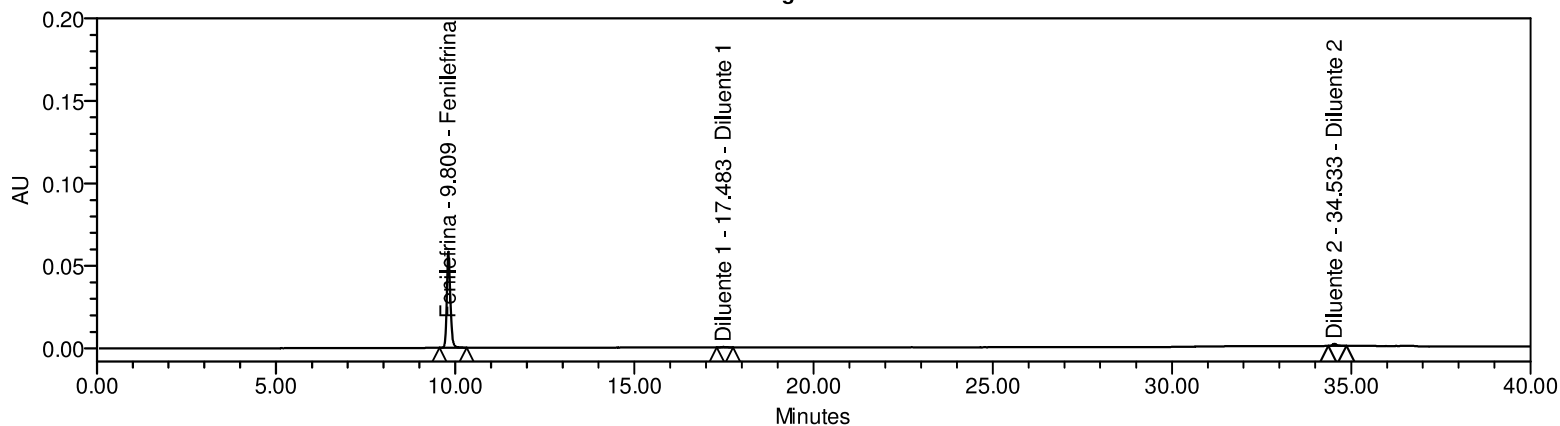
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:11 PM GMT+3; Result Id 70316

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:14 PM GMT+3; Result Id 70322

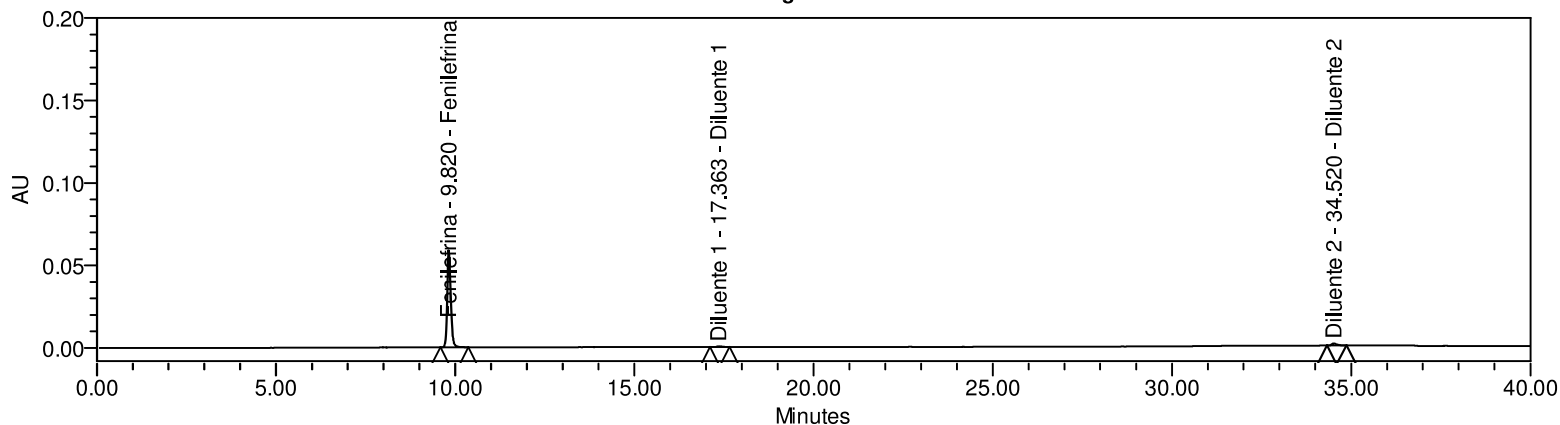
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:15 PM GMT+3; Result Id 70323

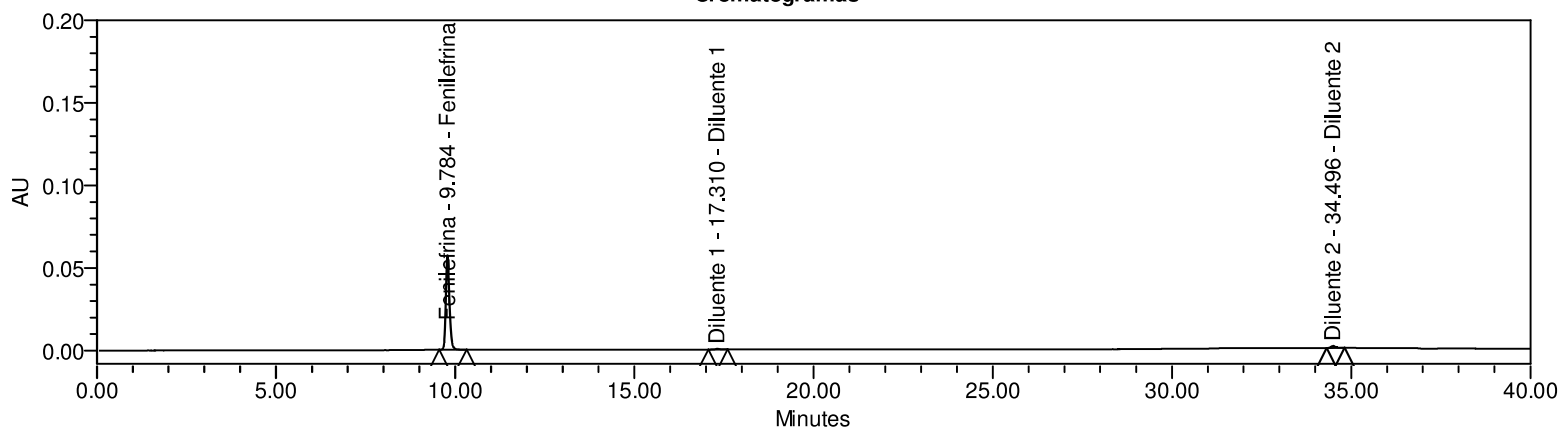
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



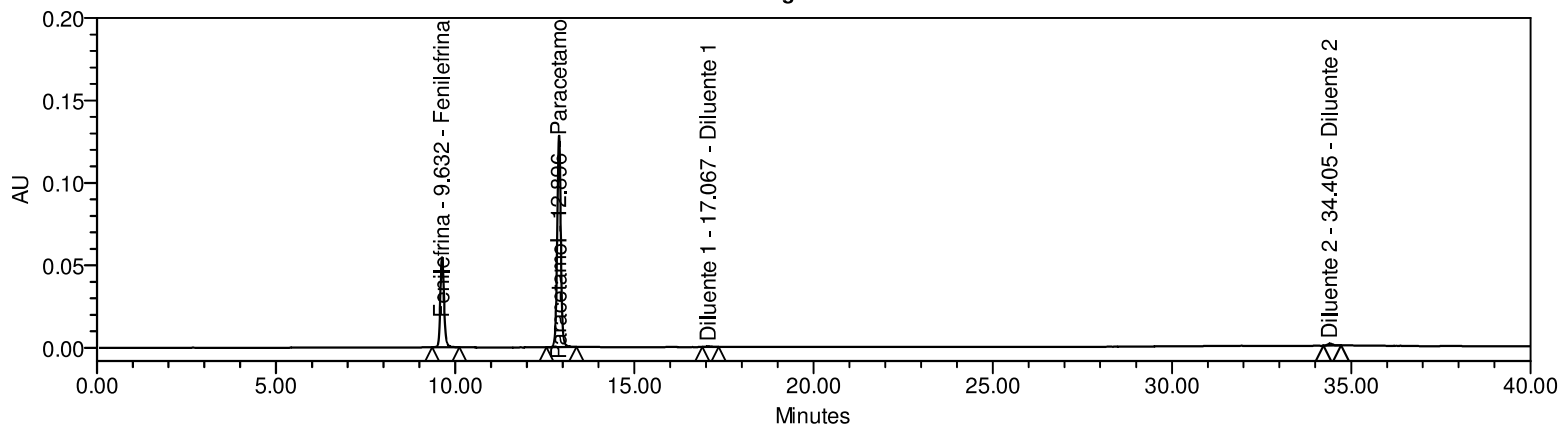
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:17 PM GMT+3; Result Id 70324

## Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:20 PM GMT+3; Result Id 70325

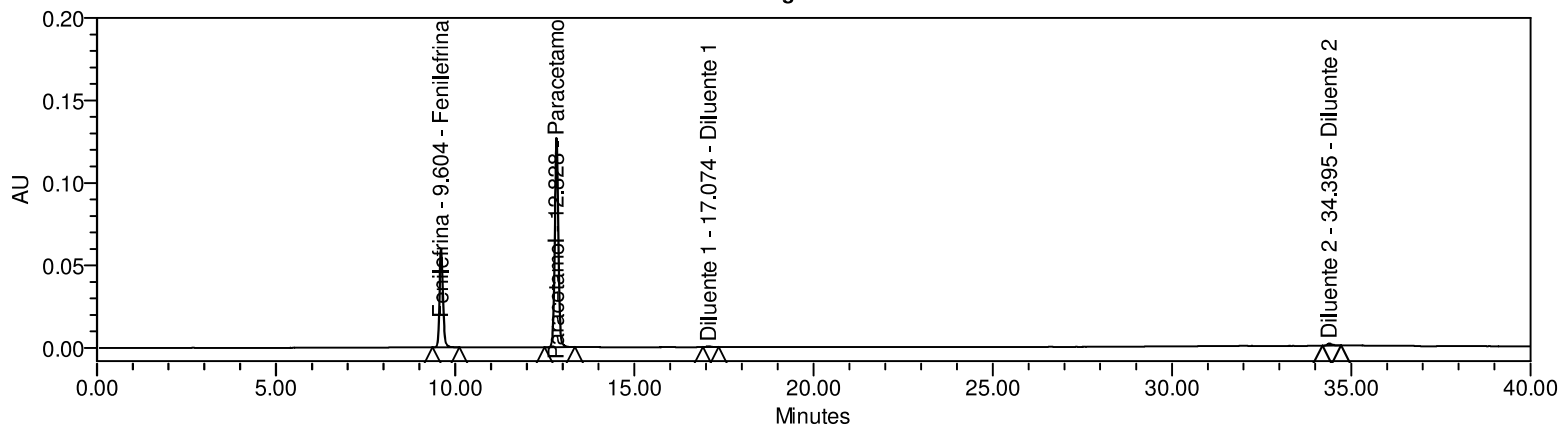
## Cromatogramas



Vial 2:B,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:42:44 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:31 PM GMT+3; Result Id 70327

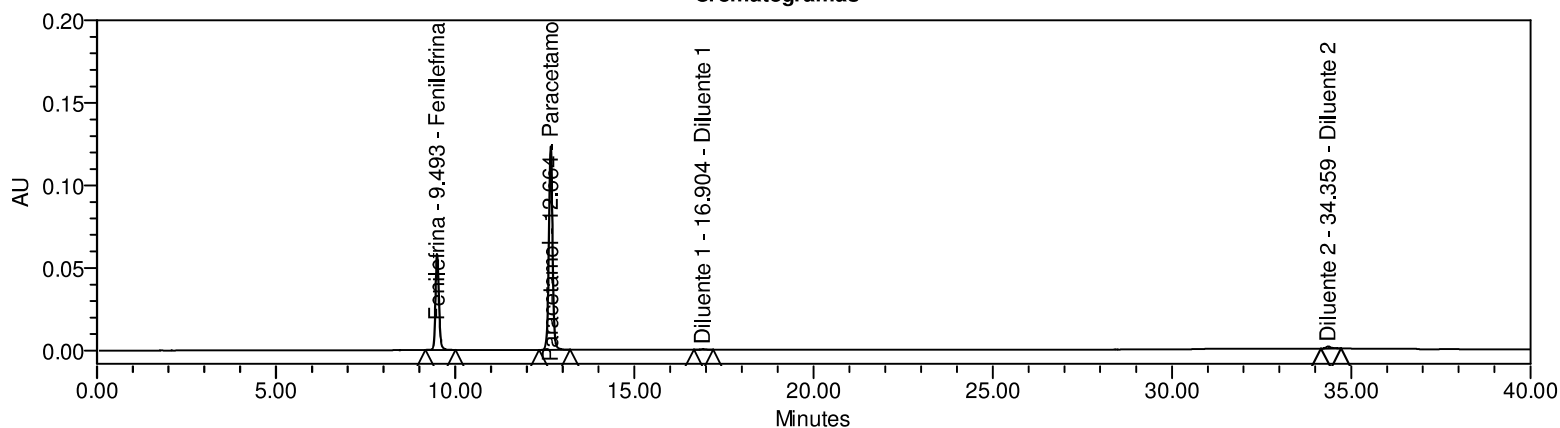
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



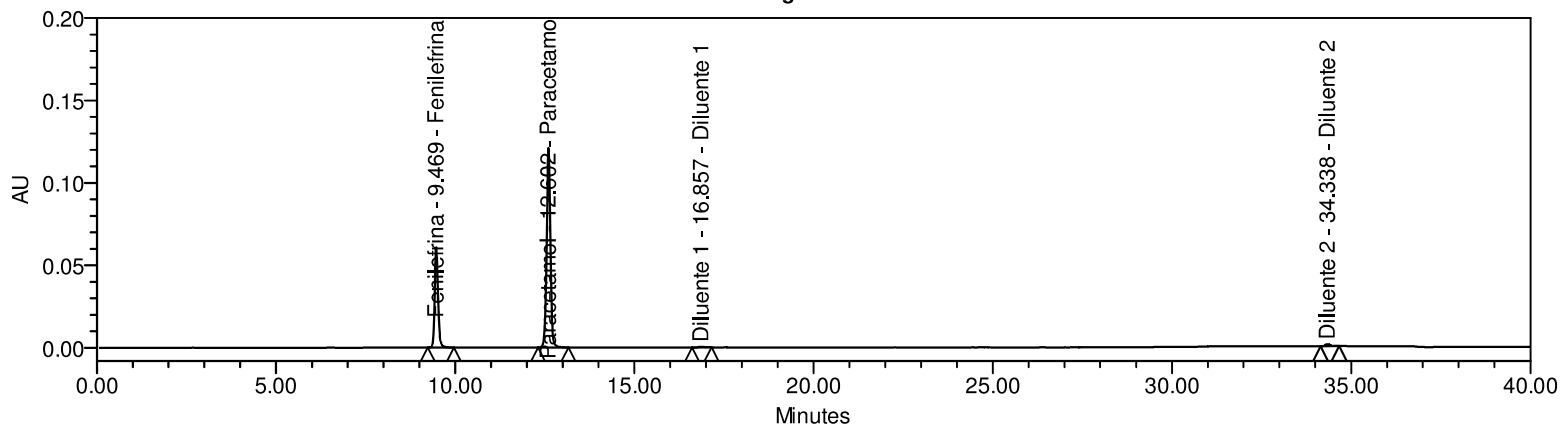
Vial 2:C,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 11:08:13 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:24 PM GMT+3; Result Id 70326

Cromatogramas



Vial 2:E,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 11:20:40 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:35 PM GMT+3; Result Id 70328

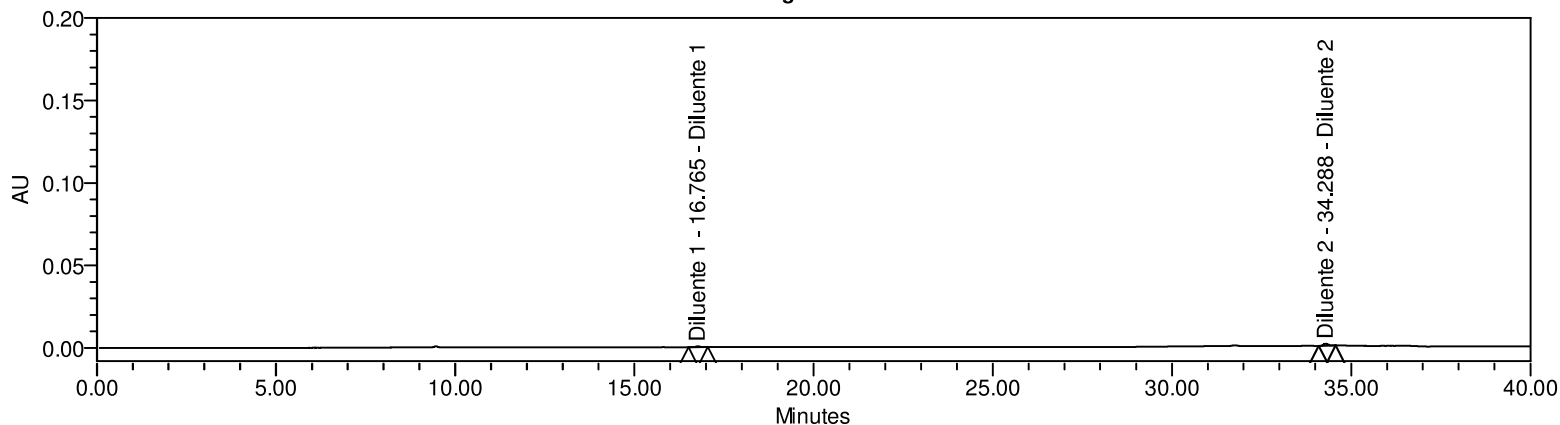
Cromatogramas



Vial 2:E,6; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 2:44:03 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:42 PM GMT+3; Result Id 70329

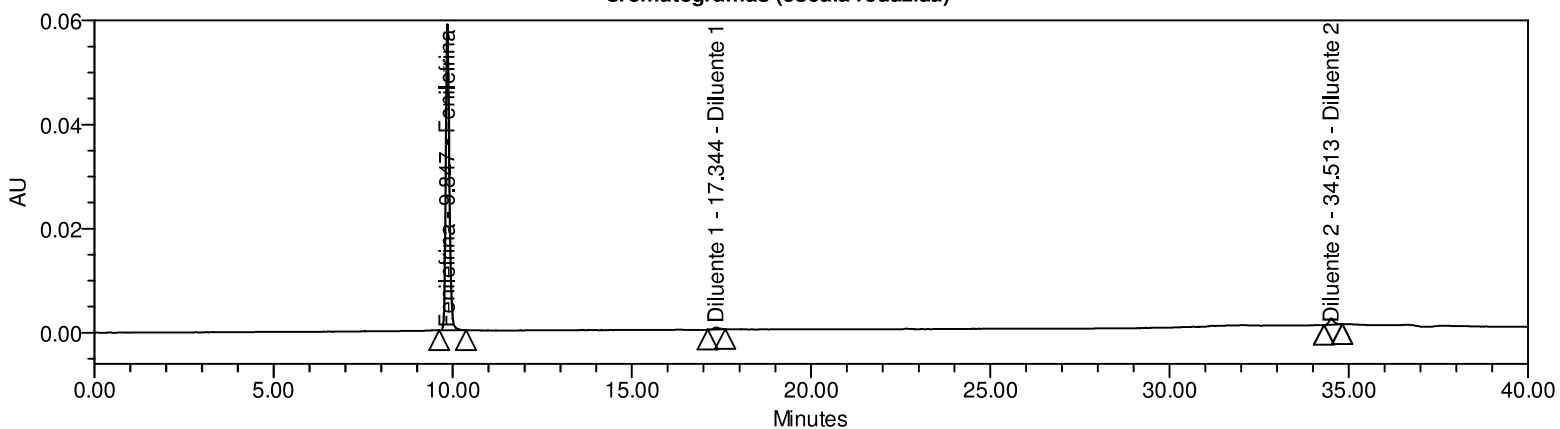
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



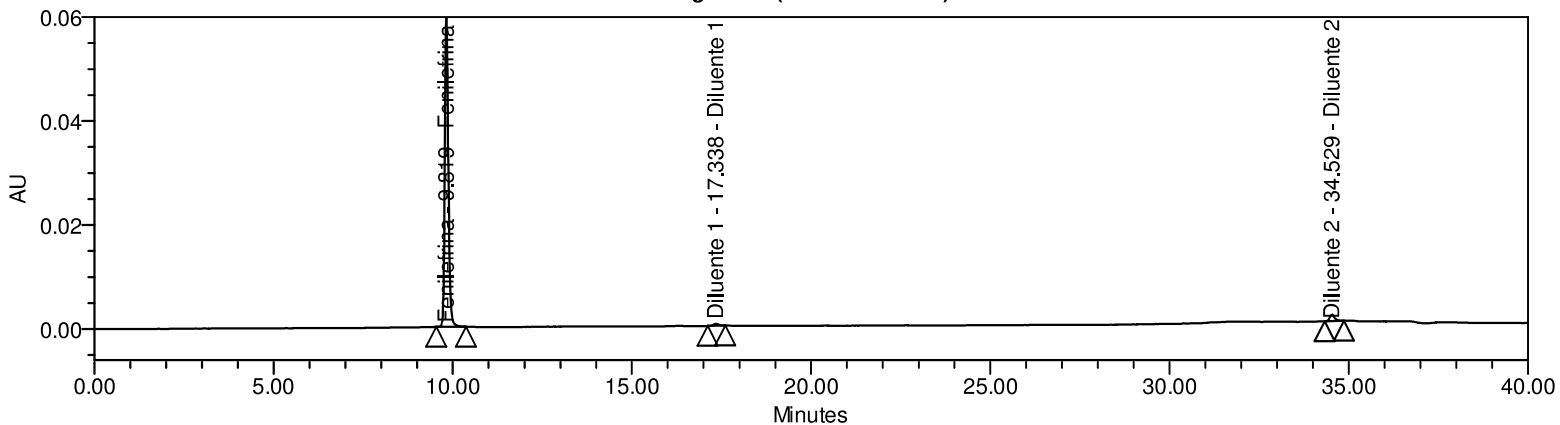
Vial 1:E,1; SampleName Diluente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:57 PM GMT+3; Result Id 70330

## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:11 PM GMT+3; Result Id 70316

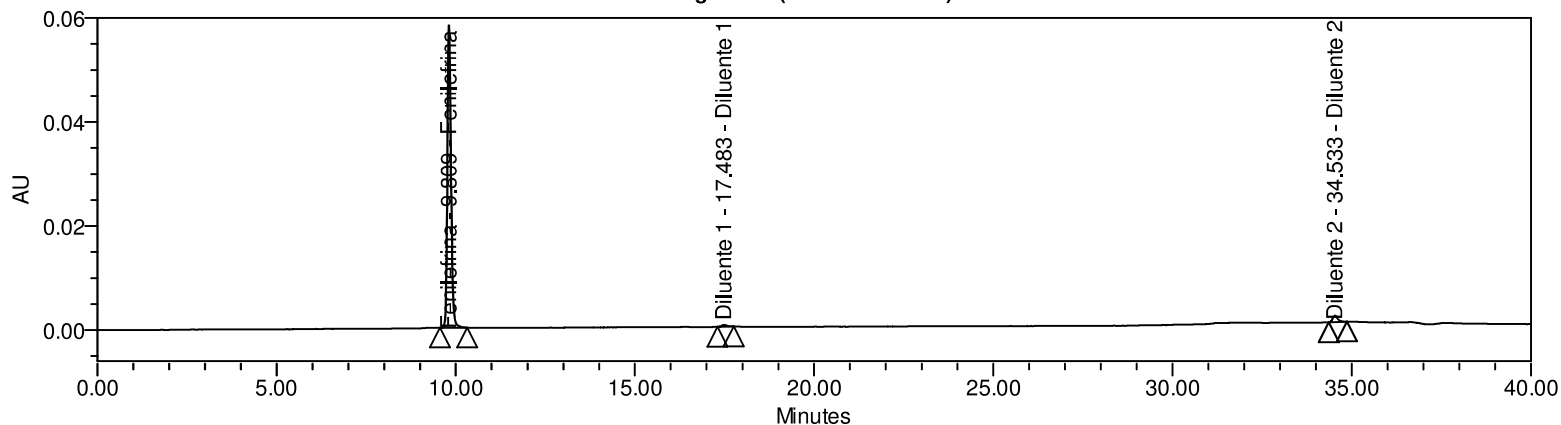
## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:14 PM GMT+3; Result Id 70322

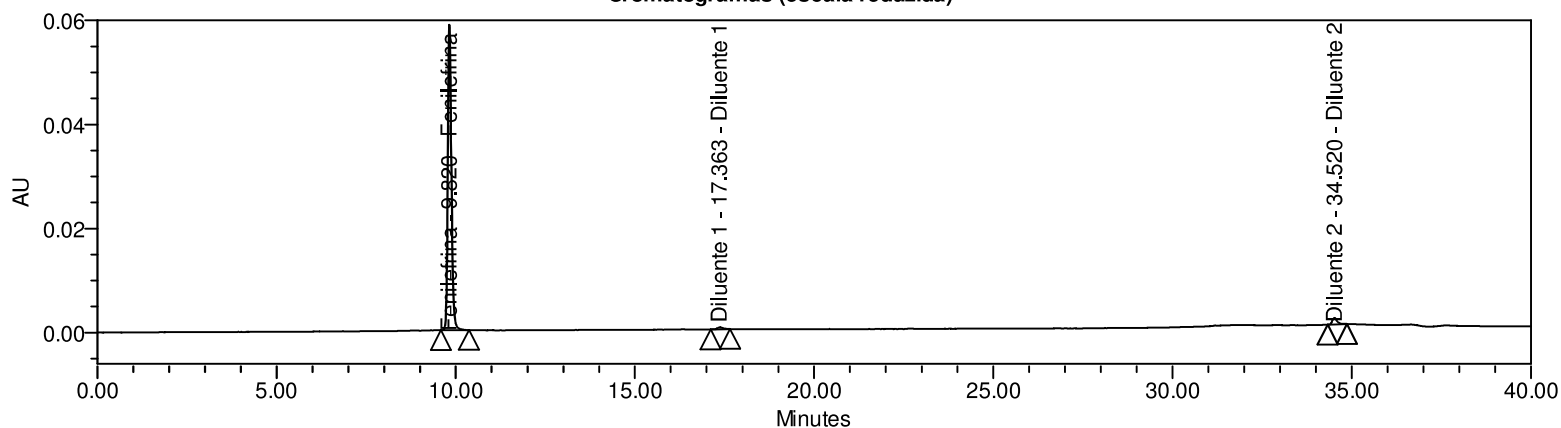
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



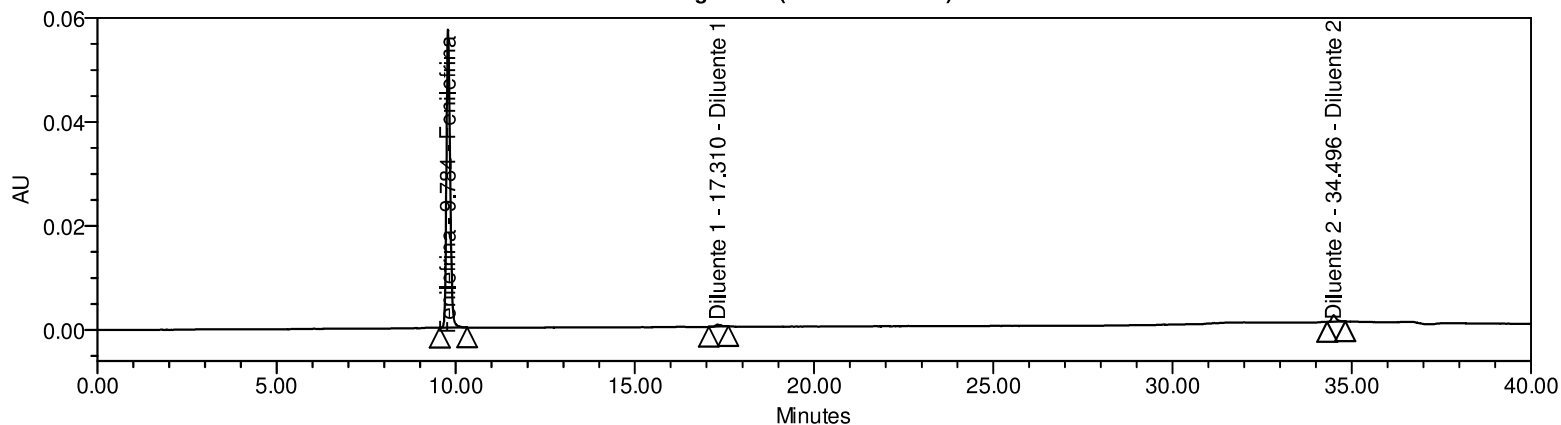
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:15 PM GMT+3; Result Id 70323

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:17 PM GMT+3; Result Id 70324

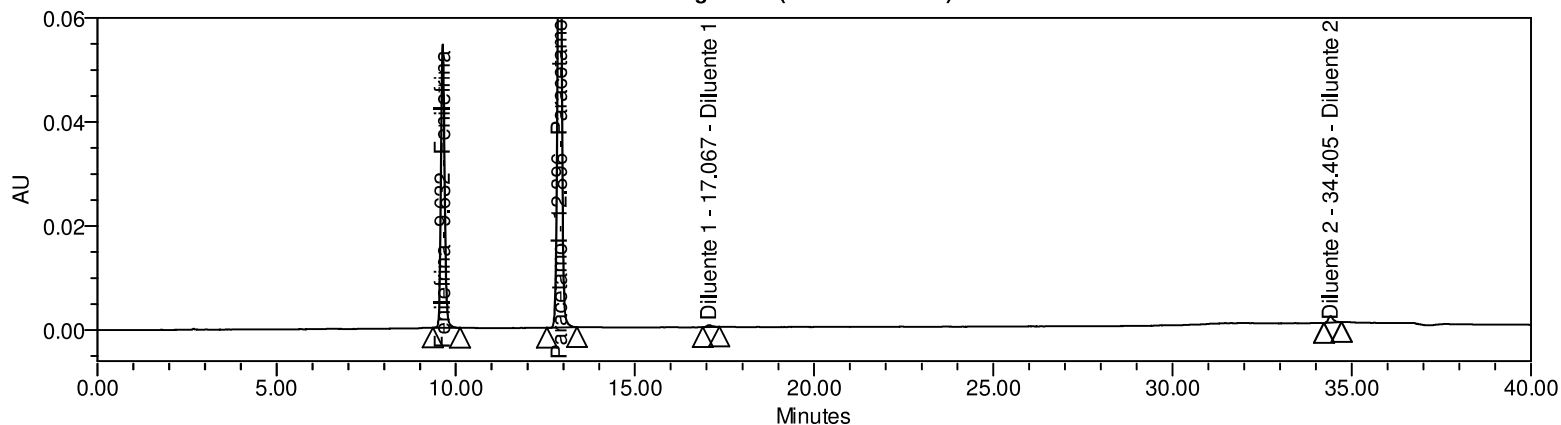
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:20 PM GMT+3; Result Id 70325

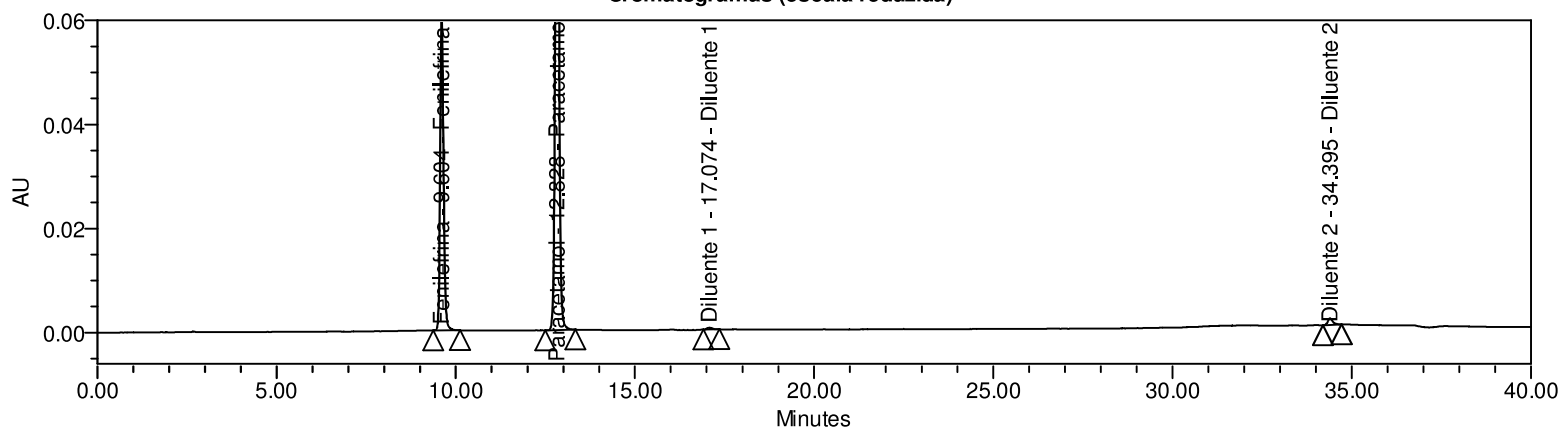
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



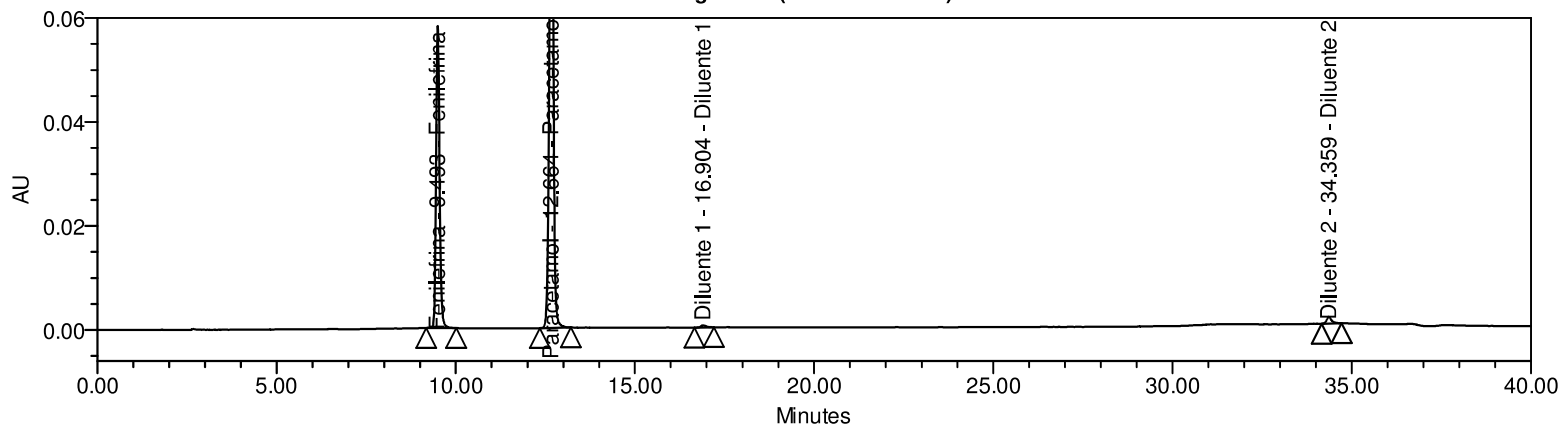
Vial 2:B,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:42:44 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:31 PM GMT+3; Result Id 70327

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:C,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamo Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 11:08:13 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:24 PM GMT+3; Result Id 70326

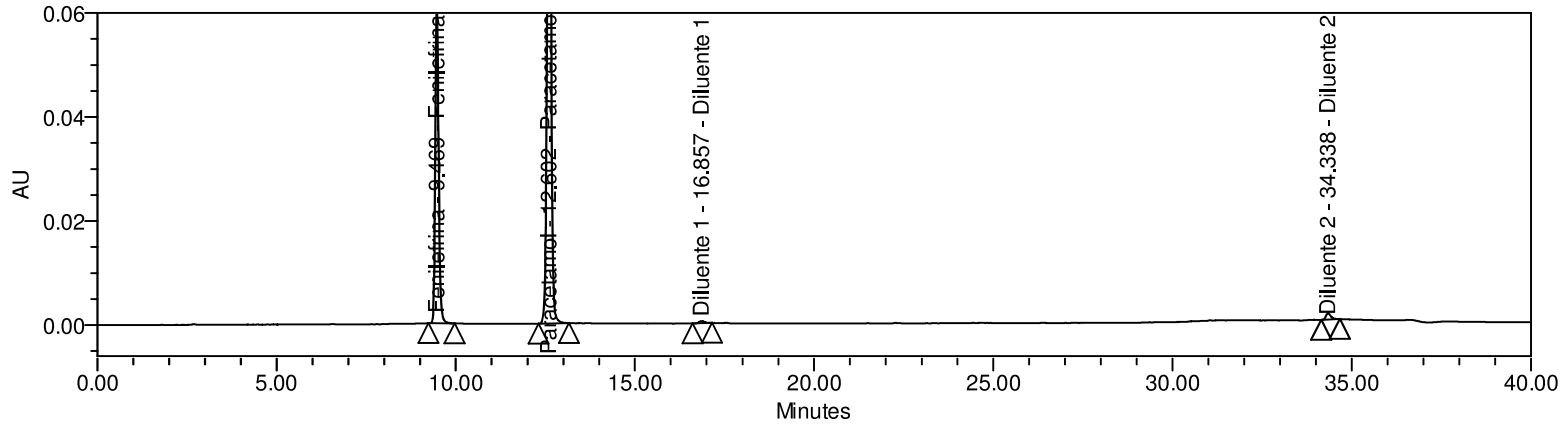
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:E,1; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 11:20:40 AM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:35 PM GMT+3; Result Id 70328

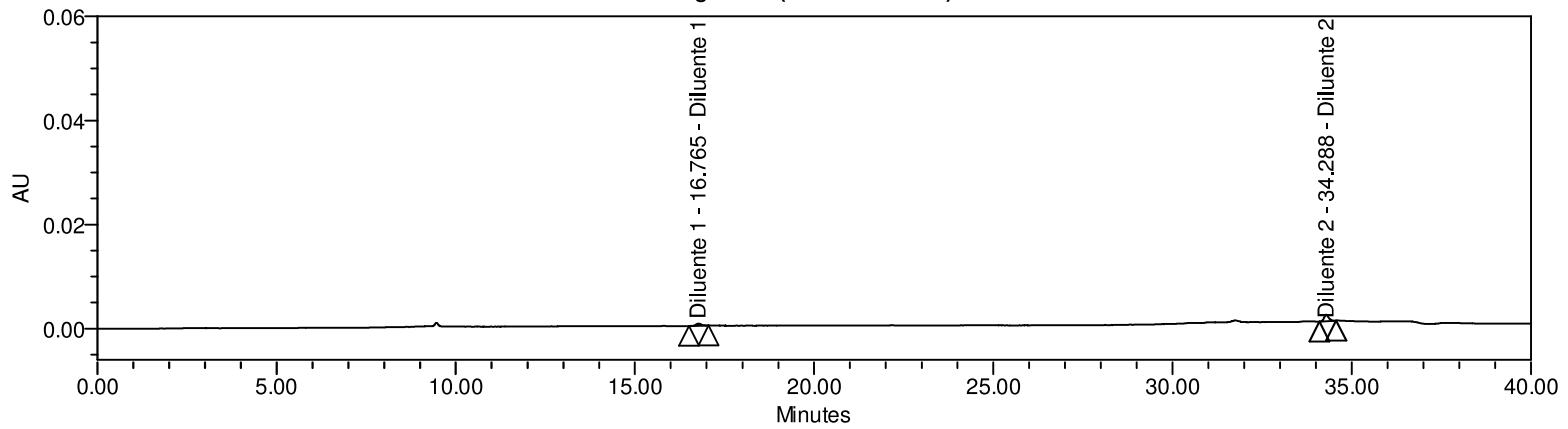
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:E,6; SampleName Fenilefrina + Paracetamol Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 2:44:03 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:42 PM GMT+3; Result Id 70329

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,1; SampleName Diluente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/26/2021 3:48:57 PM GMT+3; Result Id 70330

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3698	15.4	1.0	65923	33.0	70316
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3738	15.4	1.1	66687	33.3	70322
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.5	3565	15.5	1.3	69497	34.0	70323
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.4	4104	15.4	1.1	66273	32.8	70324
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	4063	15.3	1.0	60109	31.9	70325
Mean						17.4	3834	15.4	1.1	65698	33.0	
Std. Dev.							237.3					
% RSD							6.2					

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11585	31.6	1.2	335560	66.3	70316
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11644	31.6	1.2	338902	66.7	70322
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11753	31.6	1.2	330434	66.3	70323
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11872	31.6	1.2	333312	65.2	70324
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11538	31.5	1.2	332606	64.9	70325
Mean						34.5	11678	31.6	1.2	334163	65.9	
Std. Dev.							134.9					
% RSD							1.2					

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404956	0.2000	8.3	1.2	48812	70316
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405499	0.2000	8.3	1.3	49351	70322
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404798	0.2000	8.3	1.2	47153	70323
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405550	0.2000	8.3	1.2	48156	70324
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406056	0.2000	8.2	1.2	45242	70325
Mean						9.8	405372	0.2000	8.3	1.2	47743	
Std. Dev.							504.5	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Name: Paracetamol

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Paracetamol	12.8	70316
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Paracetamol	12.8	70322
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Paracetamol	12.8	70323
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Paracetamol	12.8	70324
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Paracetamol	12.8	70325
Mean						12.8	
Std. Dev.							
% RSD							

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Umid	Diluente 1	17.1	3656	0.2000	100.0000	15.1	1.2	64683	18.4	70327
2	2:C,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamo Inic	Diluente 1	17.1	3563	0.2000	100.0000	15.1	1.3	63353	18.3	70326
3	2:E,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Temp	Diluente 1	16.9	4300	0.2000	100.0000	14.9	1.1	59332	18.2	70328
4	2:E,6	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Foto	Diluente 1	16.9	4336	0.2000	100.0000	14.9	1.0	60314	18.0	70329
5	1:E,1	1	2.0	Diluente	Diluente 1	16.8	4166	0.2000	100.0000	14.8	1.1	63682		70330

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Umid	Diluente 2	34.4	11939	0.2000	100.0000	31.5	1.2	324508	67.0	70327
2	2:C,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamo Inic	Diluente 2	34.4	12149	0.2000	100.0000	31.4	1.3	312210	64.4	70326
3	2:E,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Temp	Diluente 2	34.4	12694	0.2000	100.0000	31.4	1.4	313454	65.3	70328
4	2:E,6	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Foto	Diluente 2	34.3	11822	0.2000	100.0000	31.4	1.2	328481	66.2	70329
5	1:E,1	1	2.0	Diluente	Diluente 2	34.3	11010	0.2000	100.0000	31.3	1.1	359978	69.6	70330

## Name: Fenilefrina

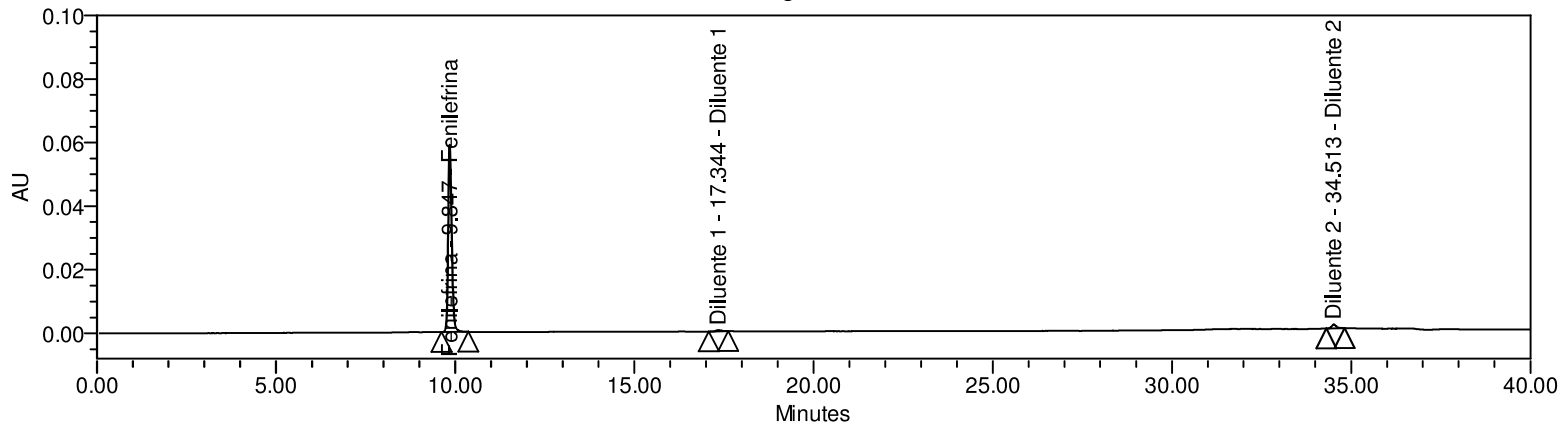
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:B,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Umid	Fenilefrina	9.6	394905	0.2000	100.0000	97.42	8.1	1.2	42230	70327
2	2:C,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamo Inic	Fenilefrina	9.6	400278	0.2000	100.0000	98.74	8.1	1.2	48711	70326
3	2:E,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Temp	Fenilefrina	9.5	391543	0.2000	100.0000	96.59	8.0	1.2	47638	70328
4	2:E,6	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Foto	Fenilefrina	9.5	396148	0.2000	100.0000	97.72	7.9	1.2	50551	70329
5	1:E,1	1	2.0	Diluente	Fenilefrina	9.9		0.2000	100.0000					70330

## Name: Paracetamol

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Umid	Paracetamol	12.9	898974	0.2000	100.0000	11.2	1.0	82846	17.4	70327
2	2:C,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamo Inic	Paracetamol	12.8	885359	0.2000	100.0000	11.1	1.0	82637	17.9	70326
3	2:E,1	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Temp	Paracetamol	12.7	892727	0.2000	100.0000	10.9	1.0	74795	17.3	70328
4	2:E,6	1	2.0	Fenilefrina + Paracetamol Foto	Paracetamol	12.6	889807	0.2000	100.0000	10.9	1.0	71729	17.1	70329
5	1:E,1	1	2.0	Diluente	Paracetamol	12.8		0.2000	100.0000					70330

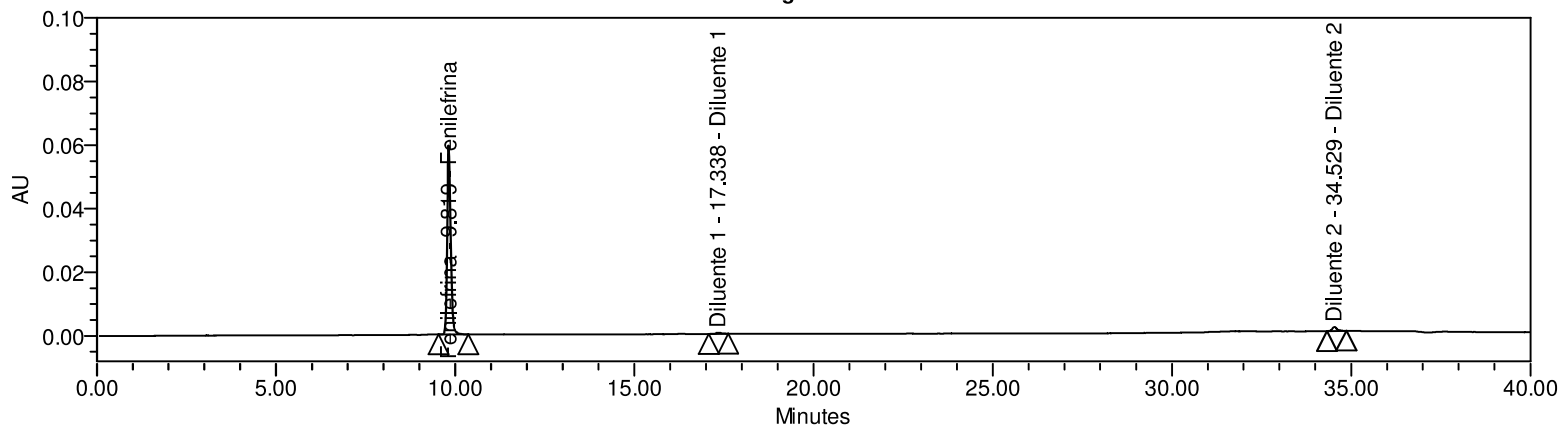
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



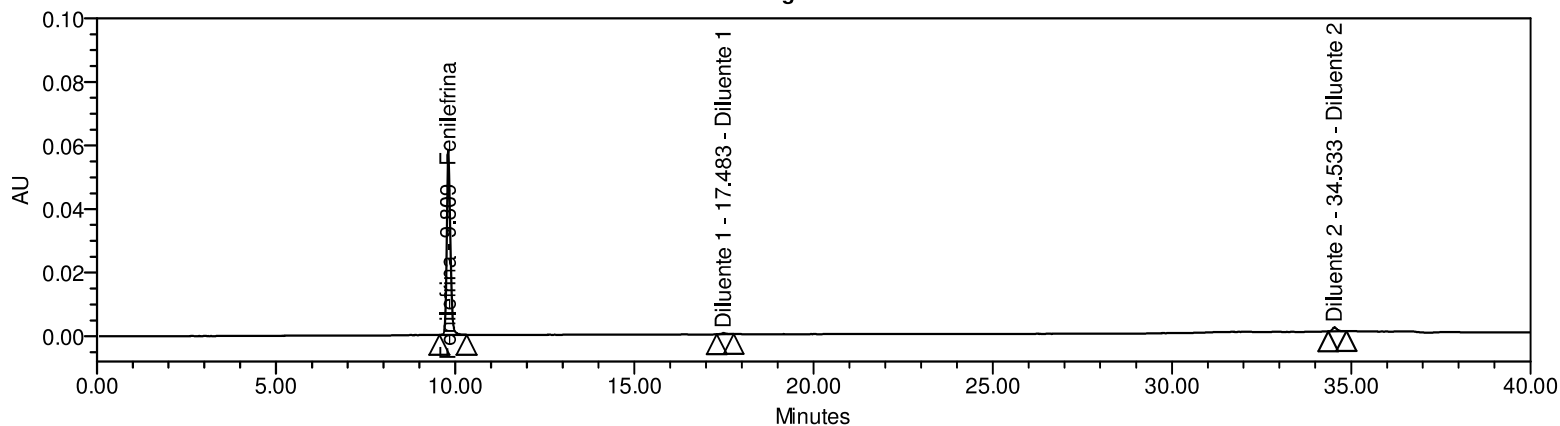
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:04 PM GMT+3; Result Id 70438

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:07 PM GMT+3; Result Id 70445

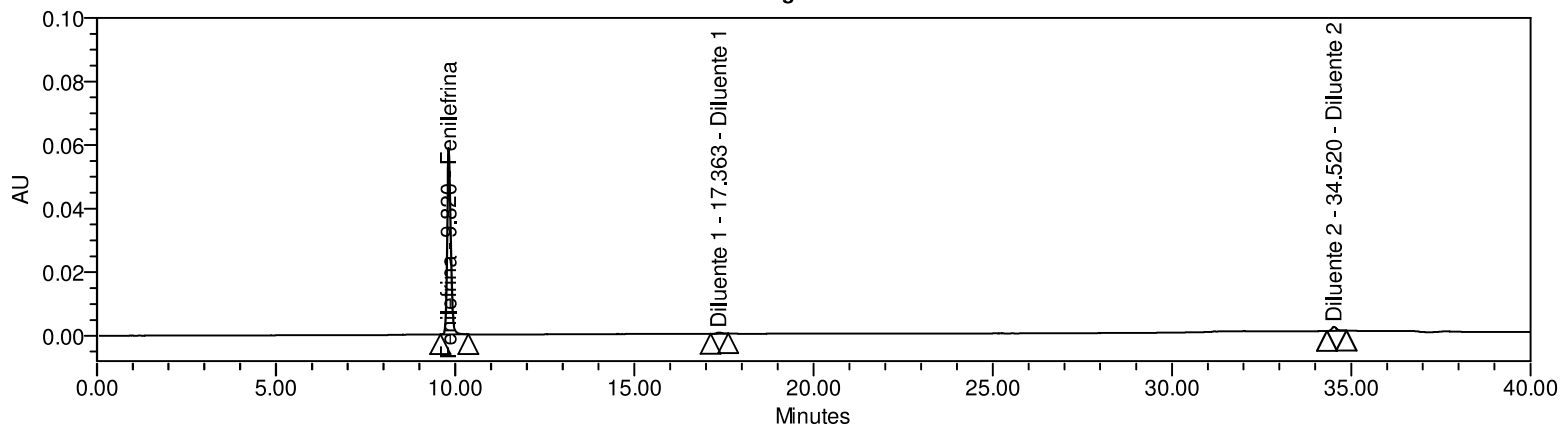
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:08 PM GMT+3; Result Id 70446

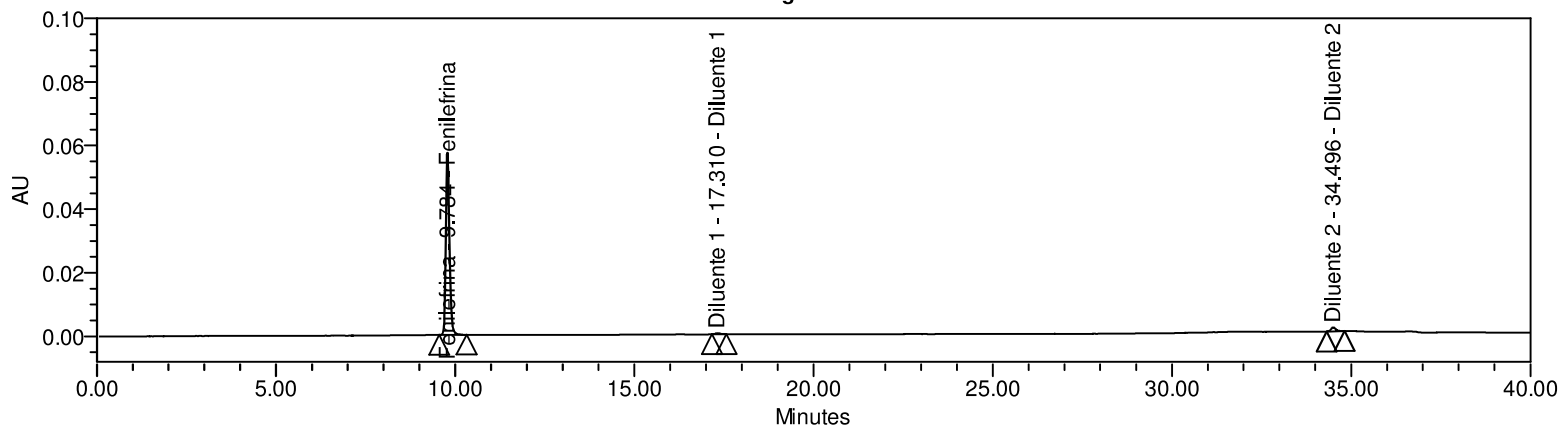
# Validação/Verificação de Método Analítico

### Cromatogramas



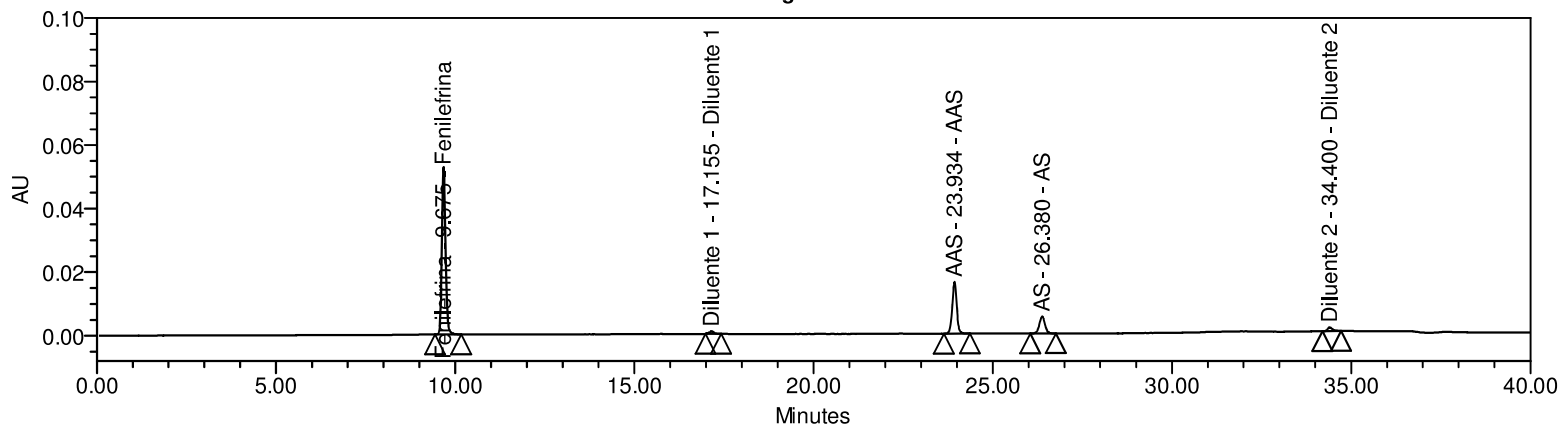
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:10 PM GMT+3; Result Id 70447

### Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:11 PM GMT+3; Result Id 70448

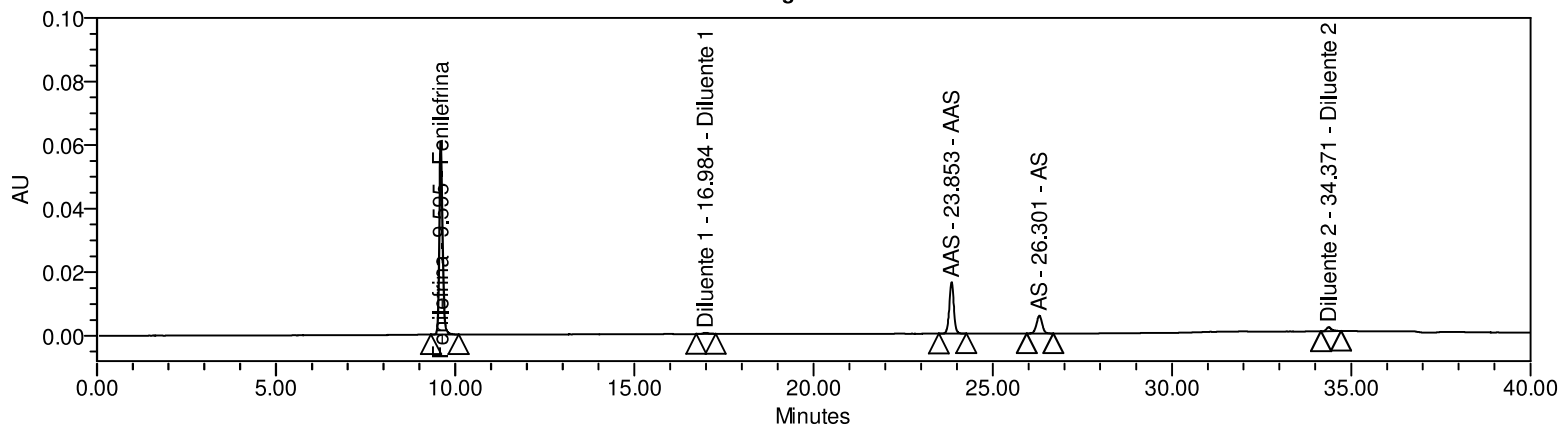
### Cromatogramas



Vial 2:B,2; SampleName Fenilefrina + AAS Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:23:26 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:14 PM GMT+3; Result Id 70451

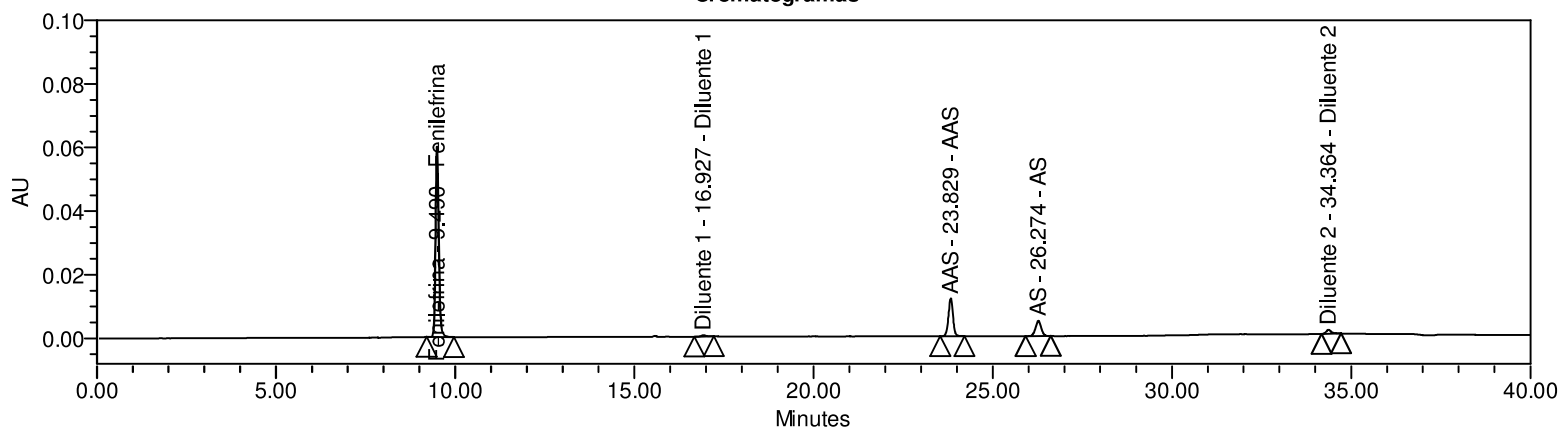
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



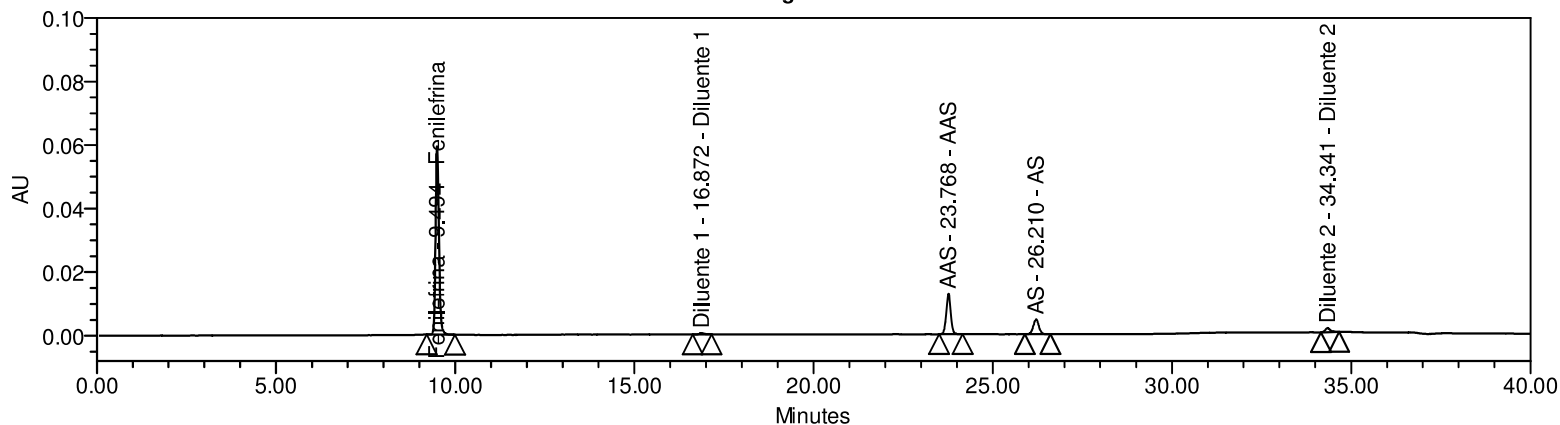
Vial 2:C,4; SampleName Fenilefrina + AAS Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 1:10:22 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:12 PM GMT+3; Result Id 70450

Cromatogramas



Vial 2:C,7; SampleName Fenilefrina + AAS Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 3:12:25 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:15 PM GMT+3; Result Id 70452

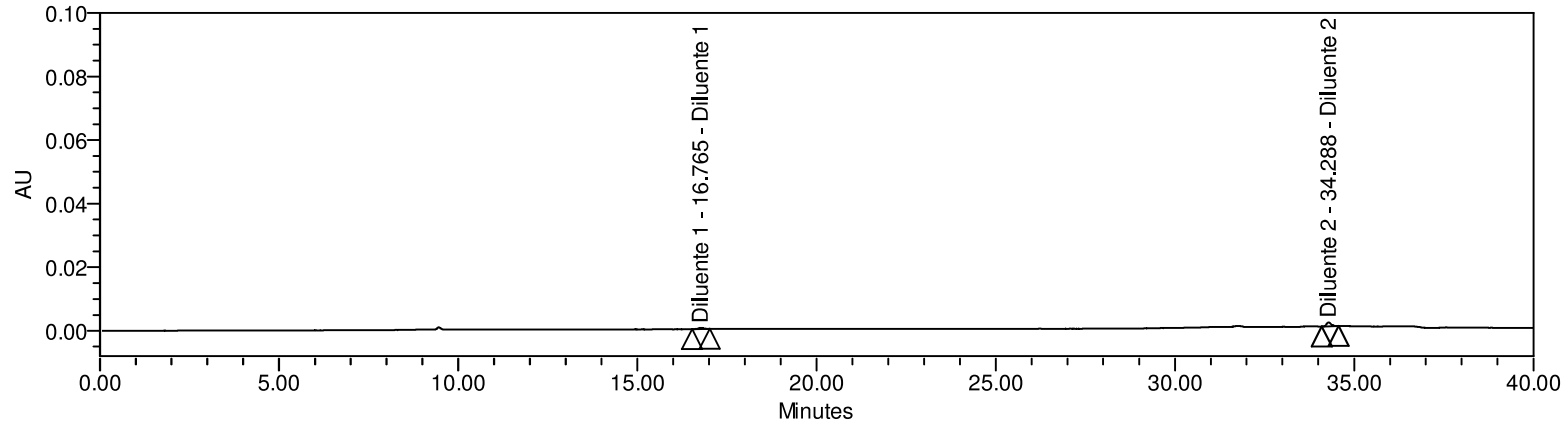
Cromatogramas



Vial 2:E,7; SampleName Fenilefrina + AAS Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 3:24:43 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:16 PM GMT+3; Result Id 70453

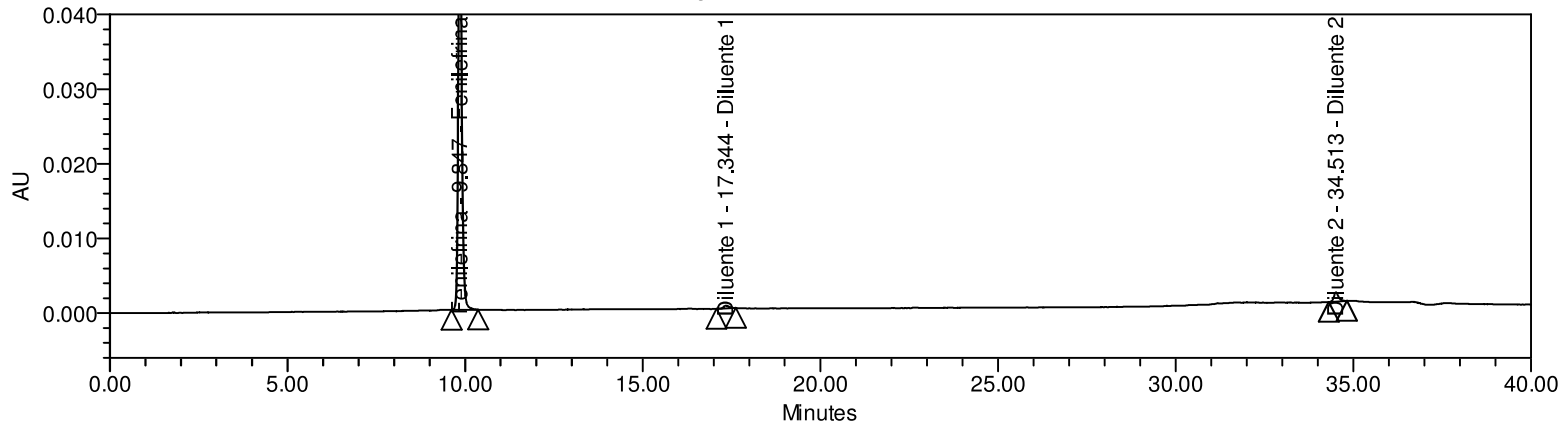
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



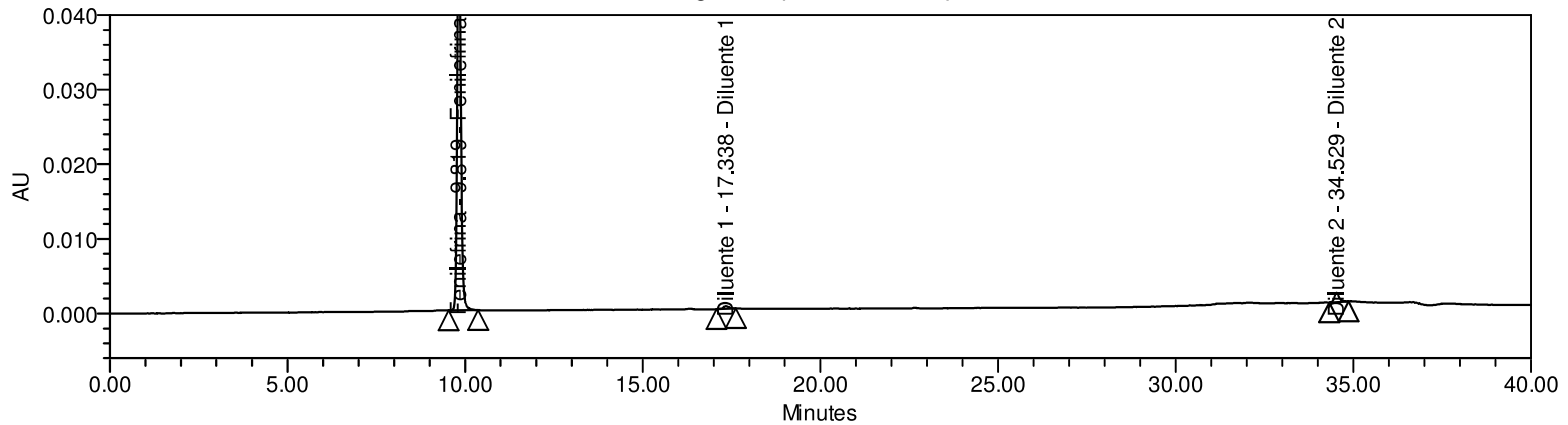
Vial 1:E,1; SampleName Diluente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:18 PM GMT+3; Result Id 70454

## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:04 PM GMT+3; Result Id 70438

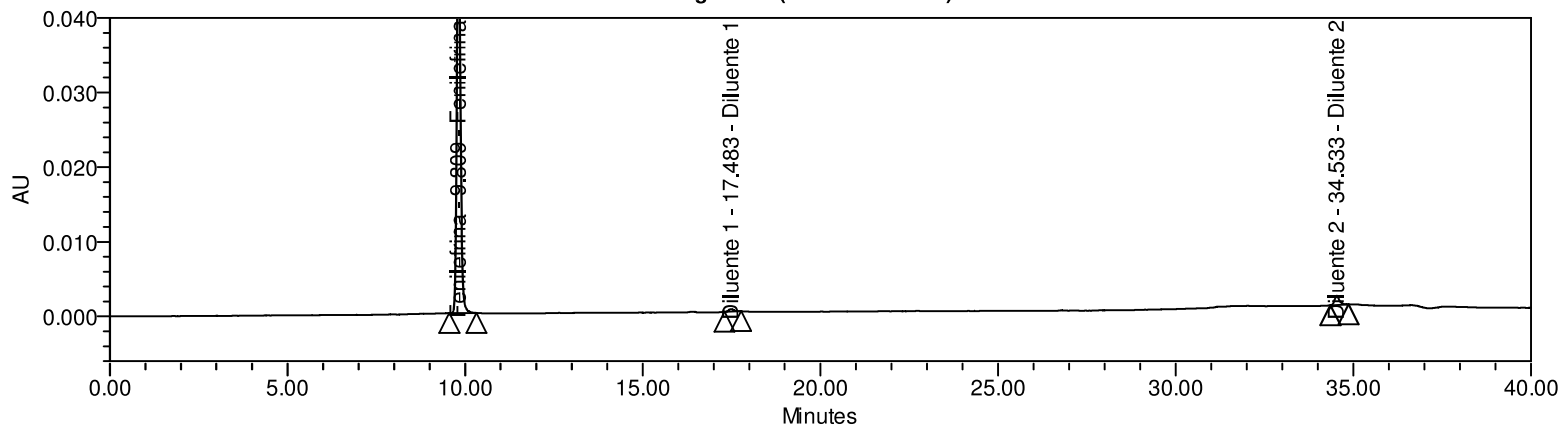
## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:07 PM GMT+3; Result Id 70445

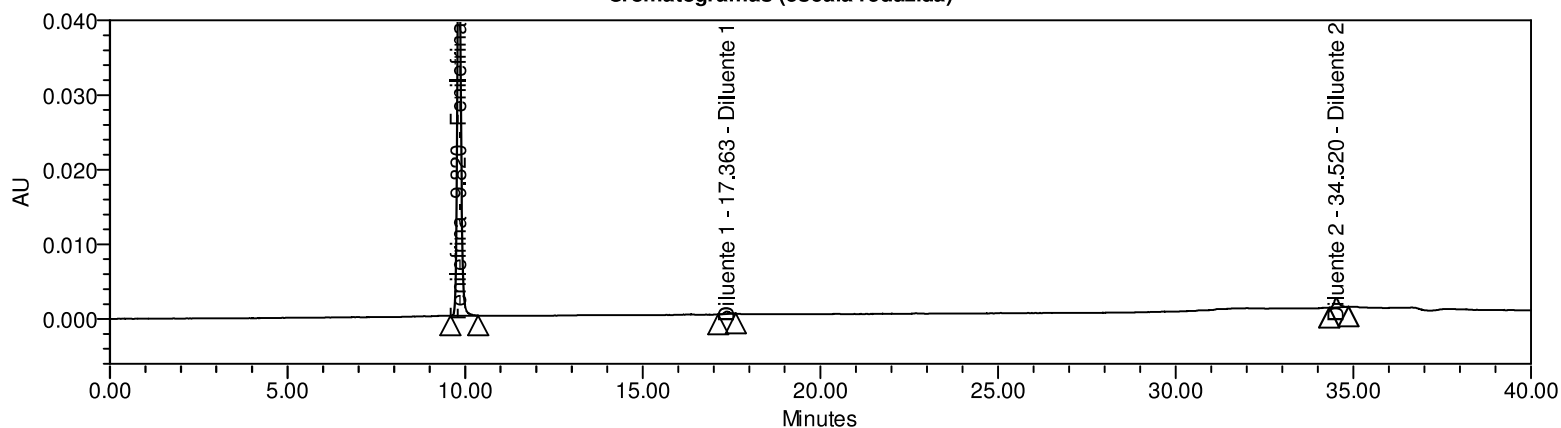
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



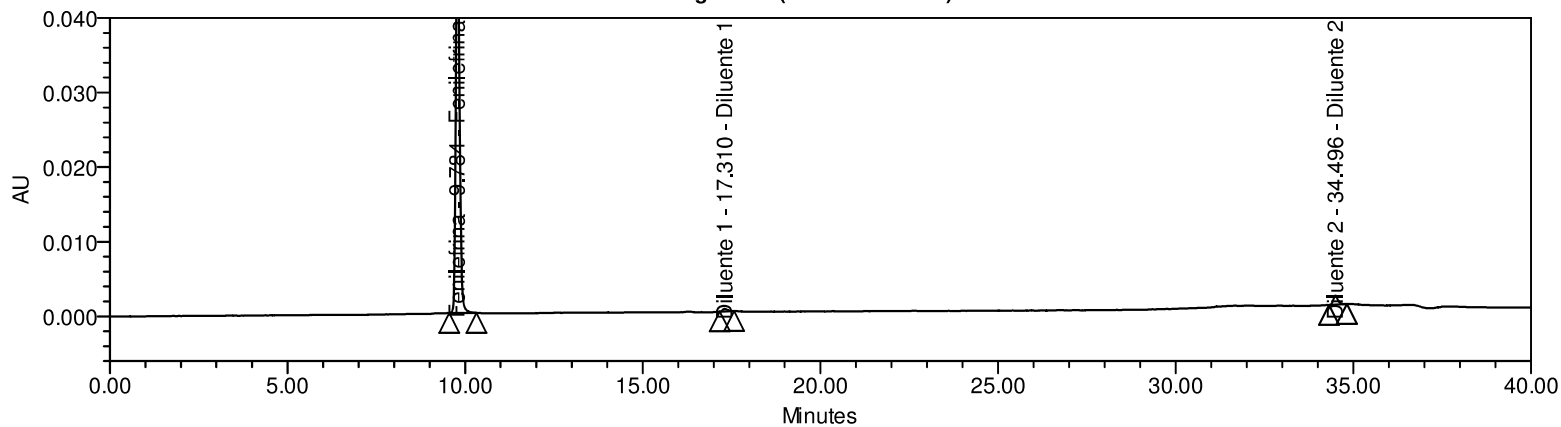
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDACh1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:08 PM GMT+3; Result Id 70446

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDACh1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:10 PM GMT+3; Result Id 70447

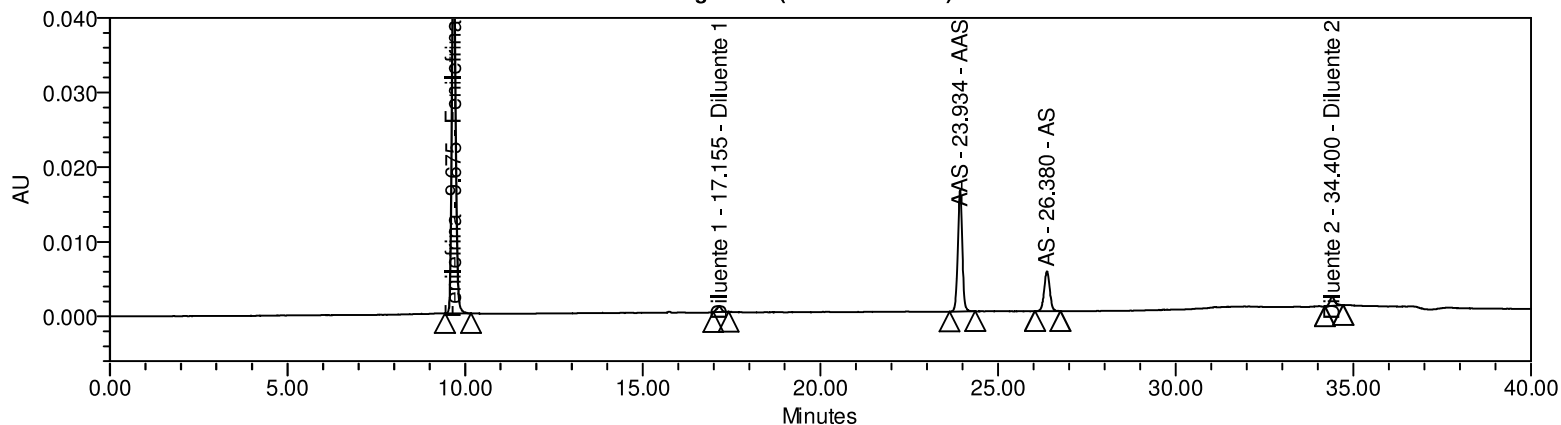
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDACh1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:11 PM GMT+3; Result Id 70448

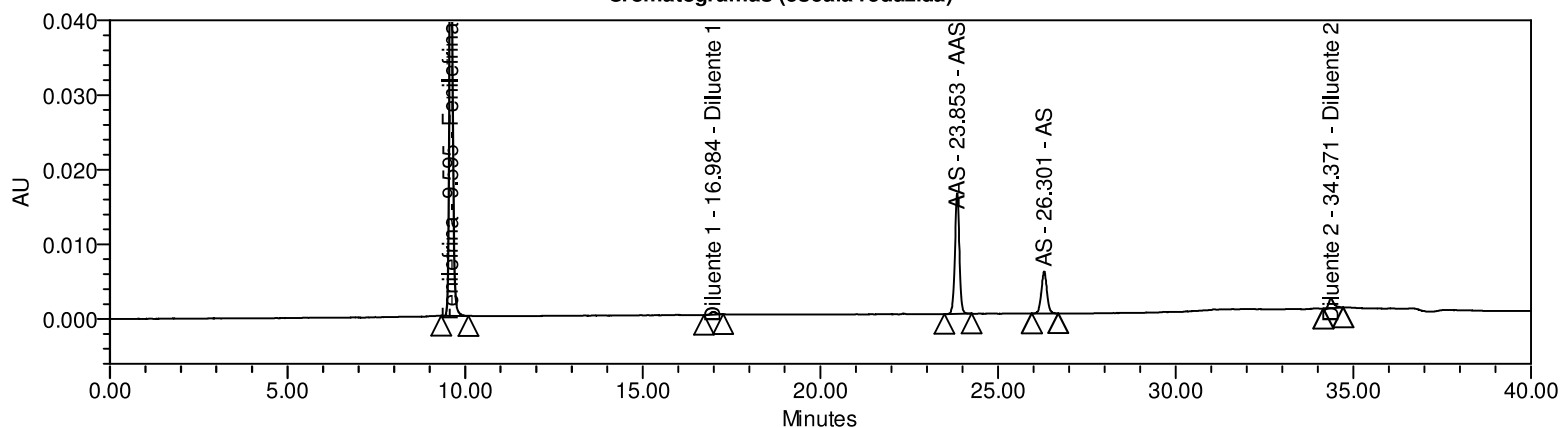
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



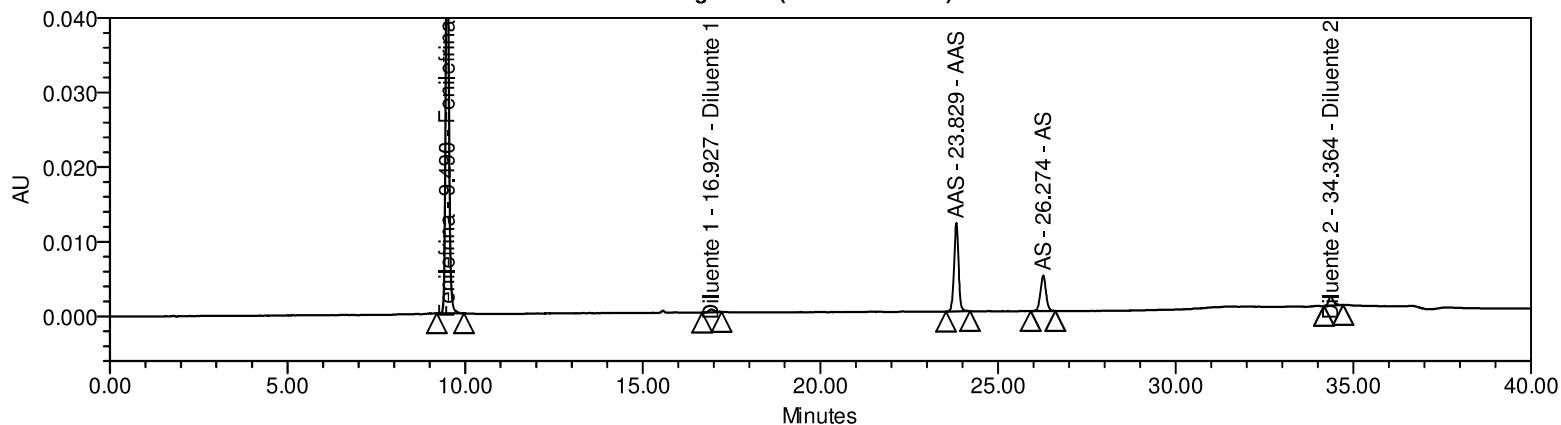
Vial 2:B,2; SampleName Fenilefrina + AAS Umid; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:23:26 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:14 PM GMT+3; Result Id 70451

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:C,4; SampleName Fenilefrina + AAS Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 1:10:22 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:12 PM GMT+3; Result Id 70450

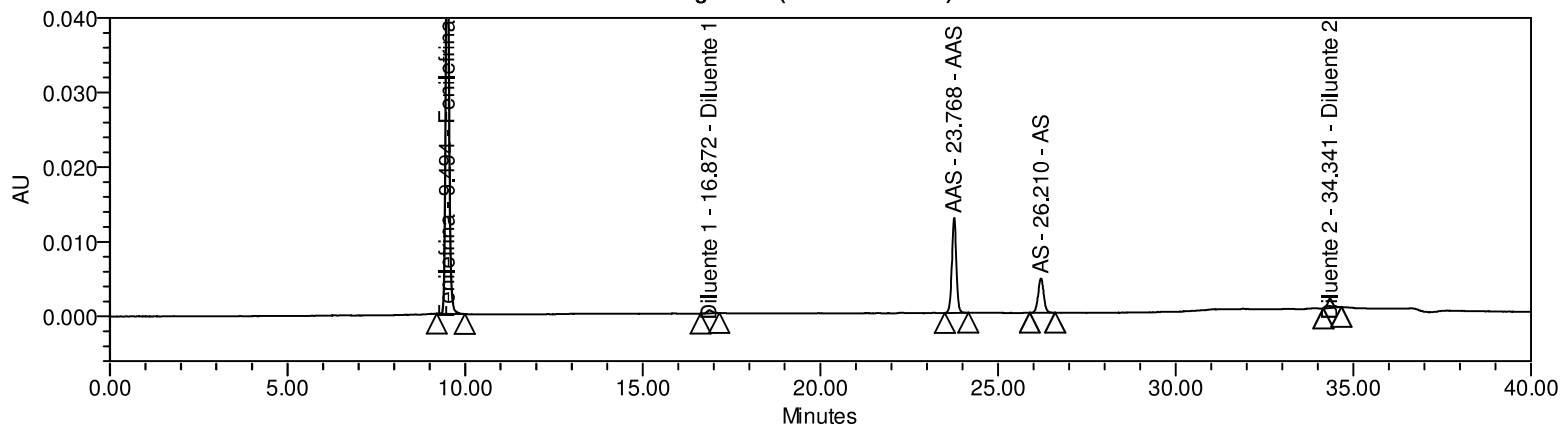
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:C,7; SampleName Fenilefrina + AAS Temp; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 3:12:25 AM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:15 PM GMT+3; Result Id 70452

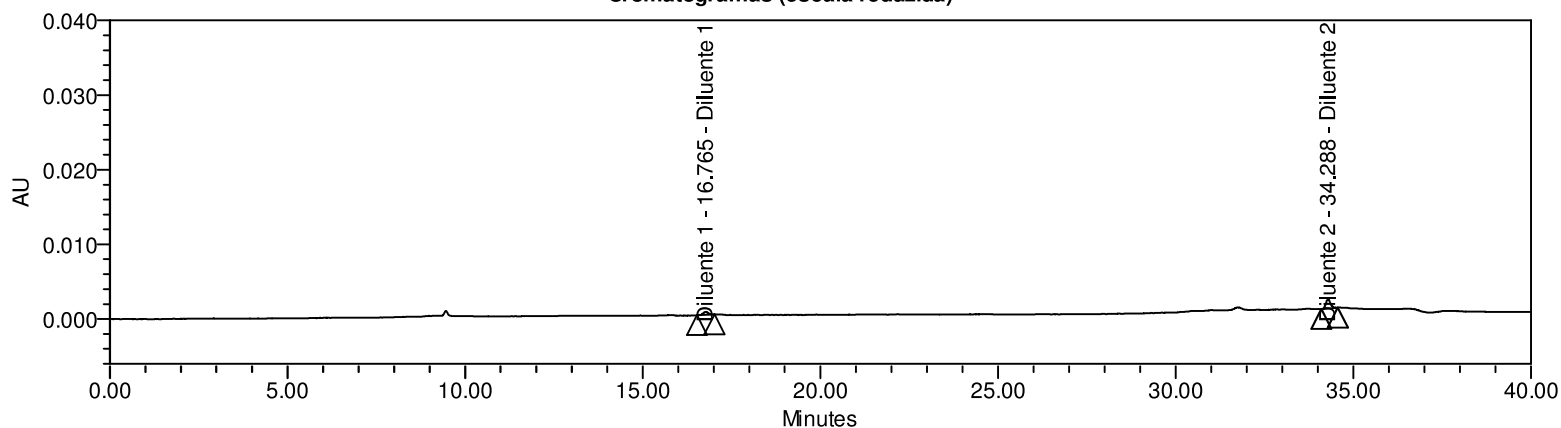
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 2:E,7; SampleName Fenilefrina + AAS Foto; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 3:24:43 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:16 PM GMT+3; Result Id 70453

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,1; SampleName Diluente; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/8/2021 8:50:08 PM GMT+3; Date Processed 11/30/2021 4:48:18 PM GMT+3; Result Id 70454

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: AAS

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	AAS	23.8	70438
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	AAS	23.8	70445
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	AAS	23.8	70446
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	AAS	23.8	70447
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	AAS	23.8	70448
Mean						23.8	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: AS

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	AS	26.3	70438
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	AS	26.3	70445
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	AS	26.3	70446
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	AS	26.3	70447
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	AS	26.3	70448
Mean						26.3	
Std. Dev.							
% RSD							

## Name: Diluente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3935	15.4	0.9	63813	32.6	70438
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3875	15.4	1.0	65332	33.1	70445
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.5	3603	15.5	1.3	69060	33.9	70446
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.4	3592	15.4	1.0	72246	33.8	70447
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 1	17.3	3507	15.3	1.4	64533	32.7	70448
Mean						17.4	3702	15.4	1.1	66997	33.2	
Std. Dev.							189.9					
% RSD							5.1					

## Name: Diluente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11585	31.6	1.2	335560	65.6	70438
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11644	31.6	1.2	338902	66.3	70445
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11753	31.6	1.2	330434	66.2	70446
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11872	31.6	1.2	333312	67.1	70447
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Diluente 2	34.5	11538	31.5	1.2	332606	66.4	70448
Mean						34.5	11678	31.6	1.2	334163	66.3	
Std. Dev.							134.9					
% RSD							1.2					

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404956	0.2000	8.3	1.2	48812	70438
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405499	0.2000	8.3	1.3	49351	70445
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404798	0.2000	8.3	1.2	47153	70446
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405550	0.2000	8.3	1.2	48156	70447
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406056	0.2000	8.2	1.2	45242	70448
Mean						9.8	405372	0.2000	8.3	1.2	47743	
Std. Dev.							504.5	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Name: AAS

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,2	1	2.0	Fenilefrina + AAS Umid	AAS	23.9	142050	0.2000	100.0000	21.6	1.0	178859	27.5	70451
2	2:C,4	1	2.0	Fenilefrina + AAS Inic	AAS	23.9	140818	0.1900	100.0000	21.5	1.0	178537	26.9	70450
3	2:C,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Temp	AAS	23.8	104582	0.1900	100.0000	21.5	1.0	175750	26.6	70452
4	2:E,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Foto	AAS	23.8	110321	0.1900	100.0000	21.4	1.0	178709	26.4	70453
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	AAS	23.8		0.2000	100.0000					70454

## Name: AS

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,2	1	2.0	Fenilefrina + AAS Umid	AS	26.4	58156	0.2000	100.0000	23.9	1.0	135425	9.3	70451
2	2:C,4	1	2.0	Fenilefrina + AAS Inic	AS	26.3	61337	0.1900	100.0000	23.8	1.0	135845	9.4	70450
3	2:C,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Temp	AS	26.3	52221	0.1900	100.0000	23.8	1.0	134632	9.3	70452
4	2:E,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Foto	AS	26.2	50543	0.1900	100.0000	23.7	1.0	133630	9.4	70453
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	AS	26.3		0.2000	100.0000					70454

## Name: Diluyente 1

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,2	1	2.0	Fenilefrina + AAS Umid	Diluyente 1	17.2	6919	0.2000	100.0000	15.2	1.0	75058	33.1	70451
2	2:C,4	1	2.0	Fenilefrina + AAS Inic	Diluyente 1	17.0	4056	0.1900	100.0000	15.0	0.9	58736	33.0	70450
3	2:C,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Temp	Diluyente 1	16.9	4246	0.1900	100.0000	15.0	0.9	56673	32.8	70452
4	2:E,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Foto	Diluyente 1	16.9	4534	0.1900	100.0000	14.9	1.1	57296	31.6	70453
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 1	16.8	4002	0.2000	100.0000	14.8	1.1	65199		70454

## Name: Diluyente 2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	USP Resolution	Result Id
1	2:B,2	1	2.0	Fenilefrina + AAS Umid	Diluyente 2	34.4	12114	0.2000	100.0000	31.5	1.3	323070	29.4	70451
2	2:C,4	1	2.0	Fenilefrina + AAS Inic	Diluyente 2	34.4	12407	0.1900	100.0000	31.4	1.3	314921	29.6	70450
3	2:C,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Temp	Diluyente 2	34.4	12394	0.1900	100.0000	31.4	1.3	317871	29.6	70452
4	2:E,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Foto	Diluyente 2	34.3	12055	0.1900	100.0000	31.4	1.2	333964	30.3	70453
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Diluyente 2	34.3	11010	0.2000	100.0000	31.3	1.1	359978	70.1	70454

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	2:B,2	1	2.0	Fenilefrina + AAS Umid	Fenilefrina	9.7	380792	0.2000	100.0000	93.94	8.1	1.2	42530	70451
2	2:C,4	1	2.0	Fenilefrina + AAS Inic	Fenilefrina	9.6	385358	0.1900	100.0000	100.07	8.1	1.3	54513	70450
3	2:C,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Temp	Fenilefrina	9.5	377235	0.1900	100.0000	97.96	8.0	1.2	54687	70452

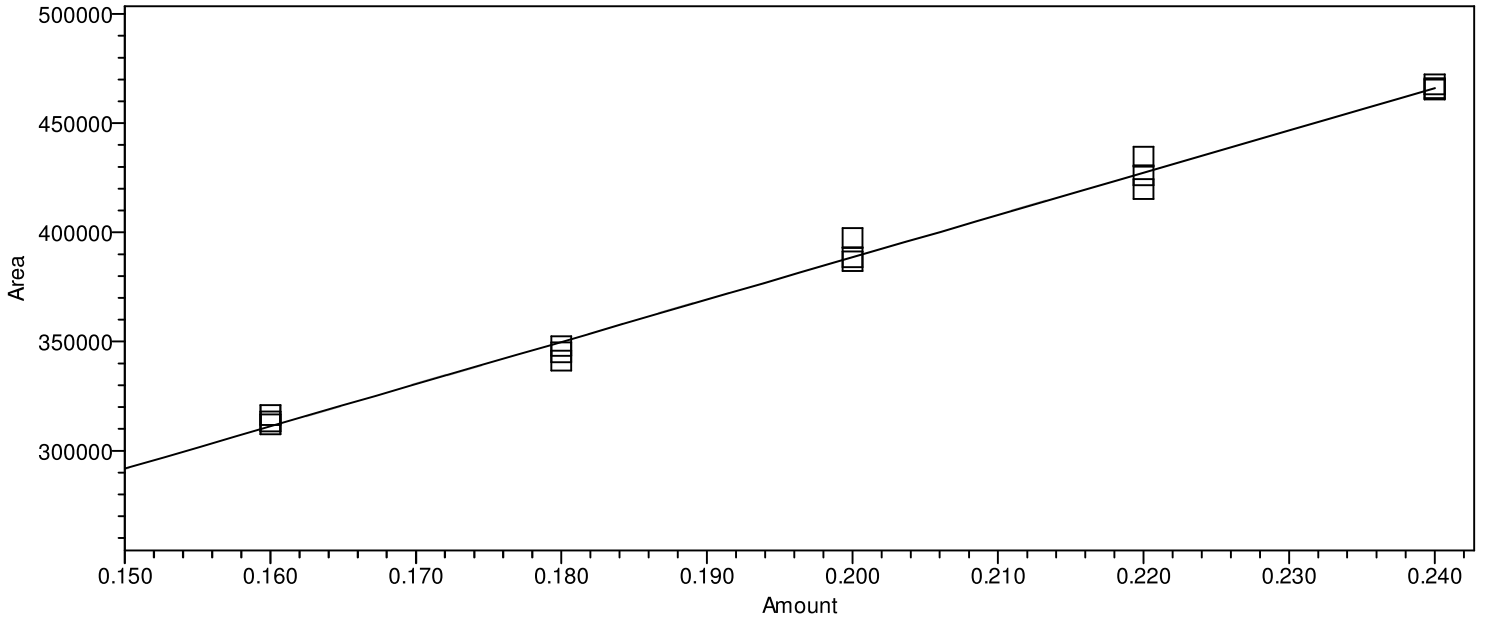
# Validação/Verificação de Método Analítico

Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
4	2:E,7	1	2.0	Fenilefrina + AAS Foto	Fenilefrina	9.5	391026	0.1900	100.0000	101.54	8.0	1.2	49811	70453
5	1:E,1	1	2.0	Diluyente	Fenilefrina	9.4		0.2000	100.0000					70454

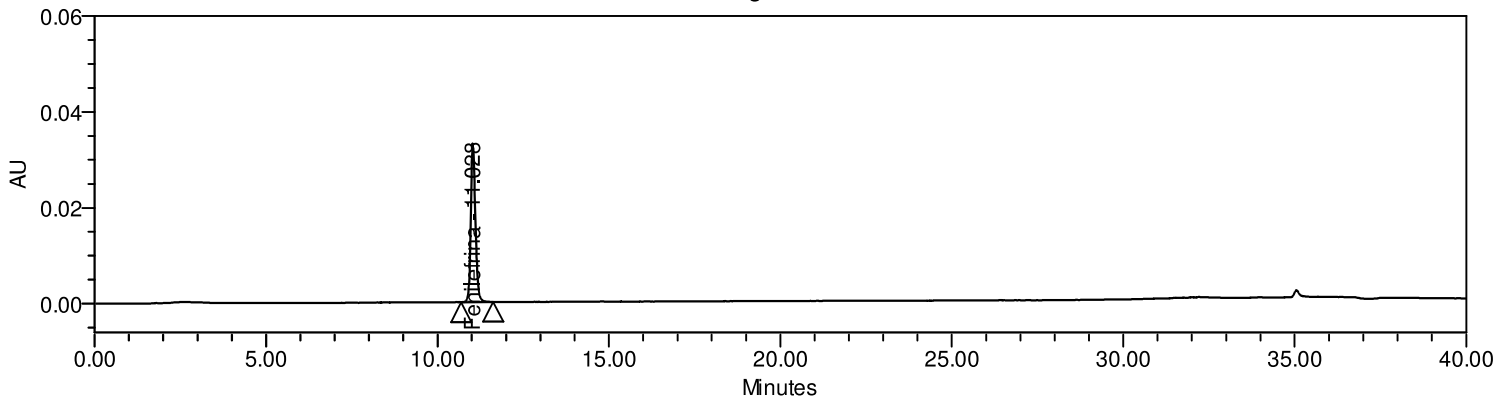
# Validação/Verificação de Método Analítico

Calibration Plot



Name: Fenilefrina; Processing Method: Fenilefrina\_PM; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 70607; Calibration Id 70606; R<sup>2</sup>: 0.9928; Equation Y = 1.94e+006 X + 1.49e+003; Points 15

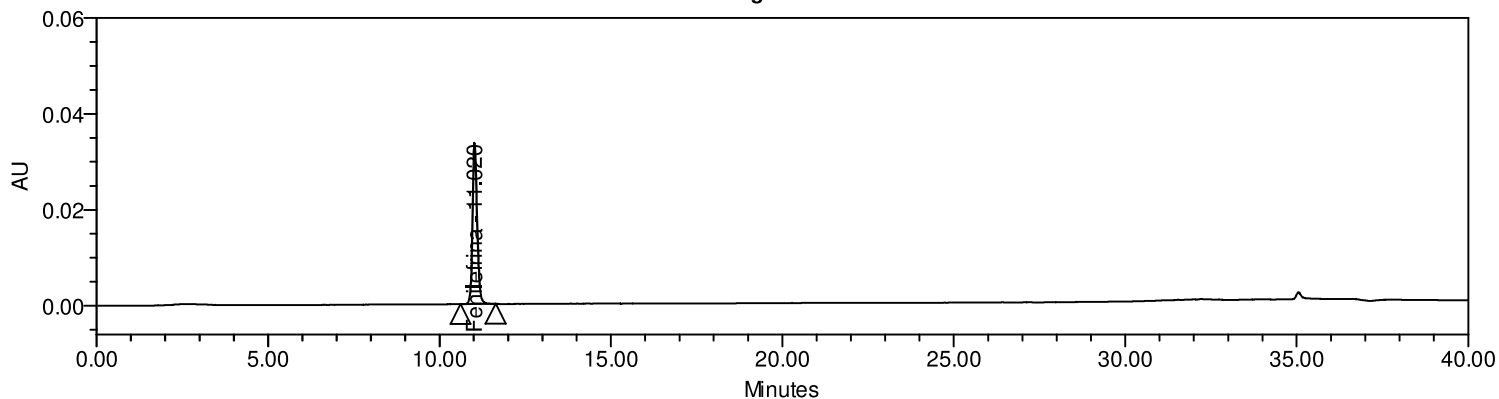
Cromatogramas



Vial 1:B,4; SampleName Linearidade 80% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:37:26 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:22:24 AM GMT+3; Result Id 70605

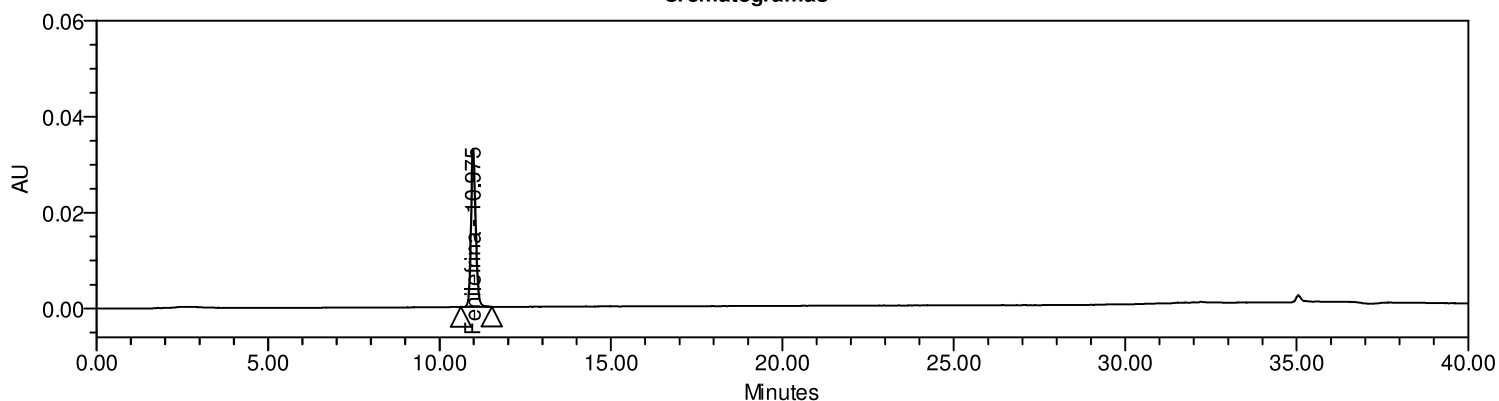
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



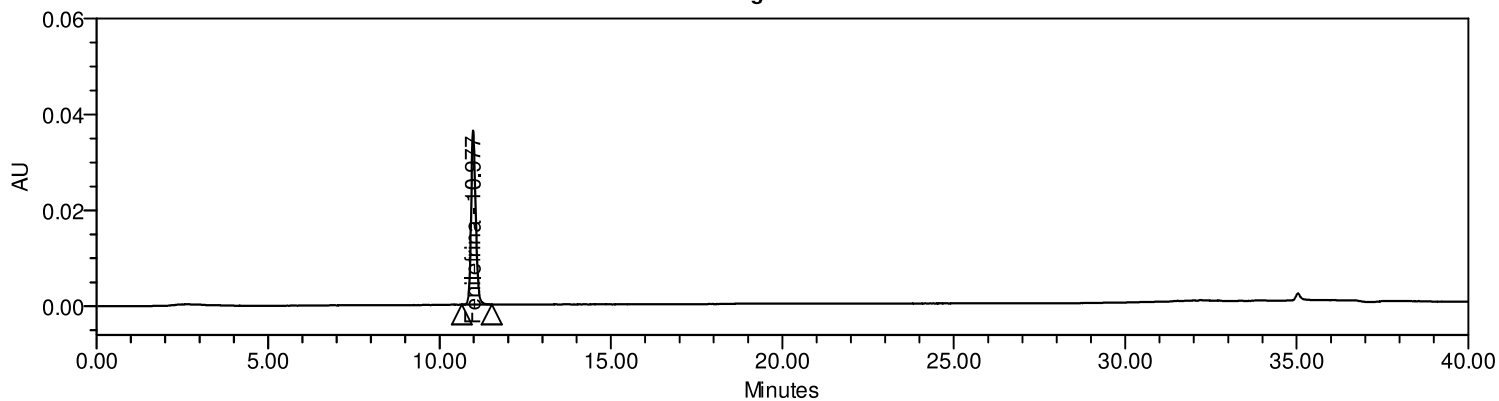
Vial 1:B,5; SampleName Linearidade 80% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:18:06 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:22:50 AM GMT+3; Result Id 70608

Cromatogramas



Vial 1:B,6; SampleName Linearidade 80% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:58:46 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:23:33 AM GMT+3; Result Id 70609

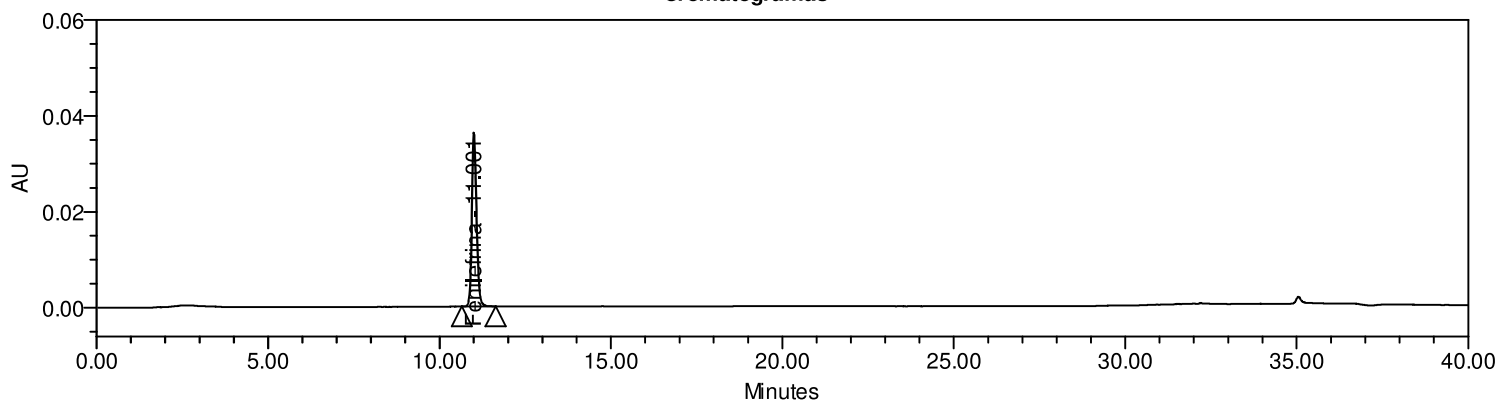
Cromatogramas



Vial 1:B,7; SampleName Linearidade 90% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:39:28 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:24:17 AM GMT+3; Result Id 70610

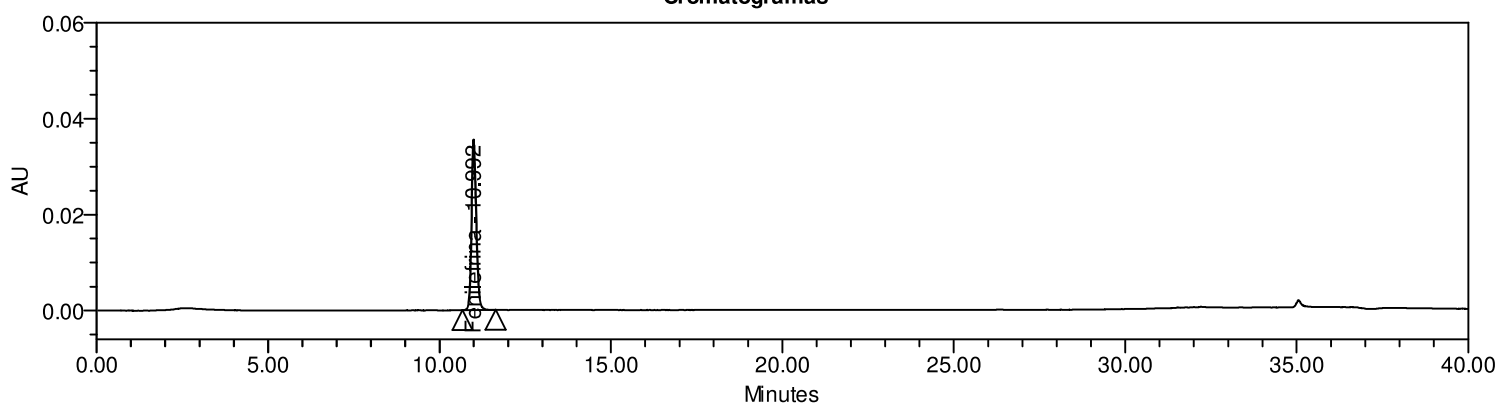
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



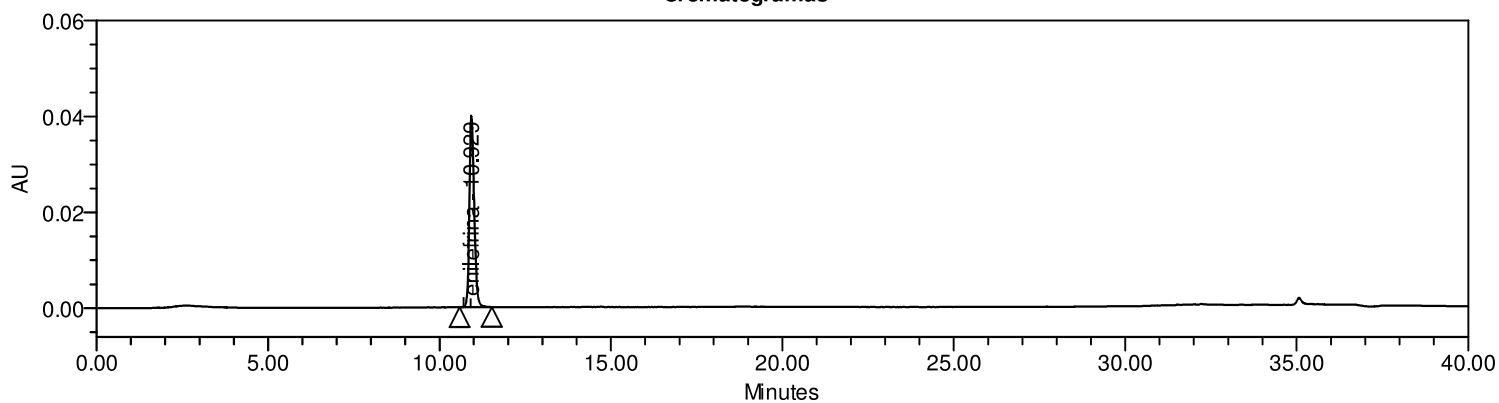
Vial 1:B,8; SampleName Linearidade 90% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 6:20:12 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:24:44 AM GMT+3; Result Id 70611

Cromatogramas



Vial 1:C,1; SampleName Linearidade 90% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 7:00:53 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:25:24 AM GMT+3; Result Id 70612

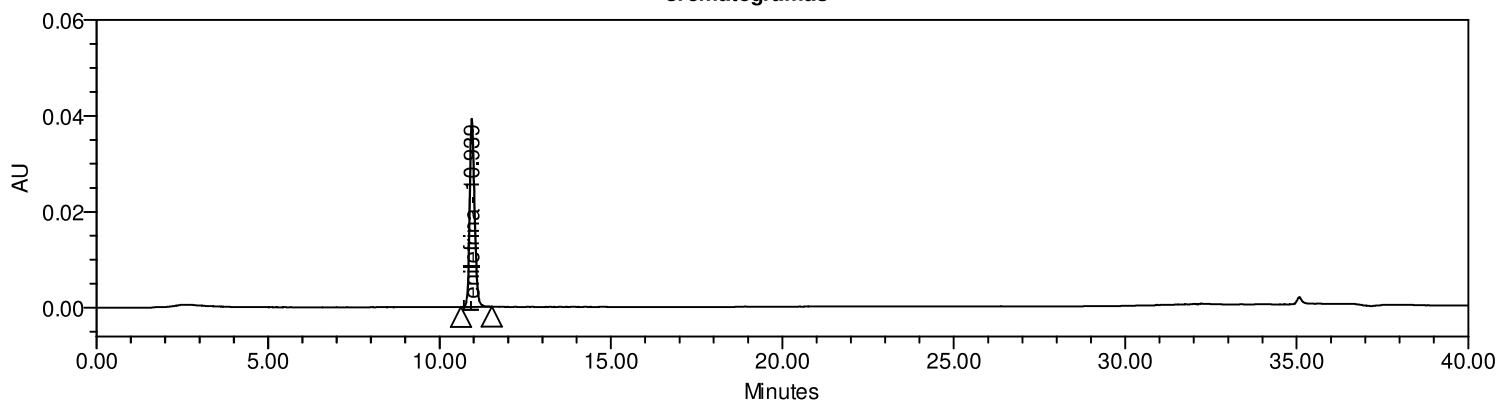
Cromatogramas



Vial 1:C,2; SampleName Linearidade 100% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 7:41:34 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:25:51 AM GMT+3; Result Id 70613

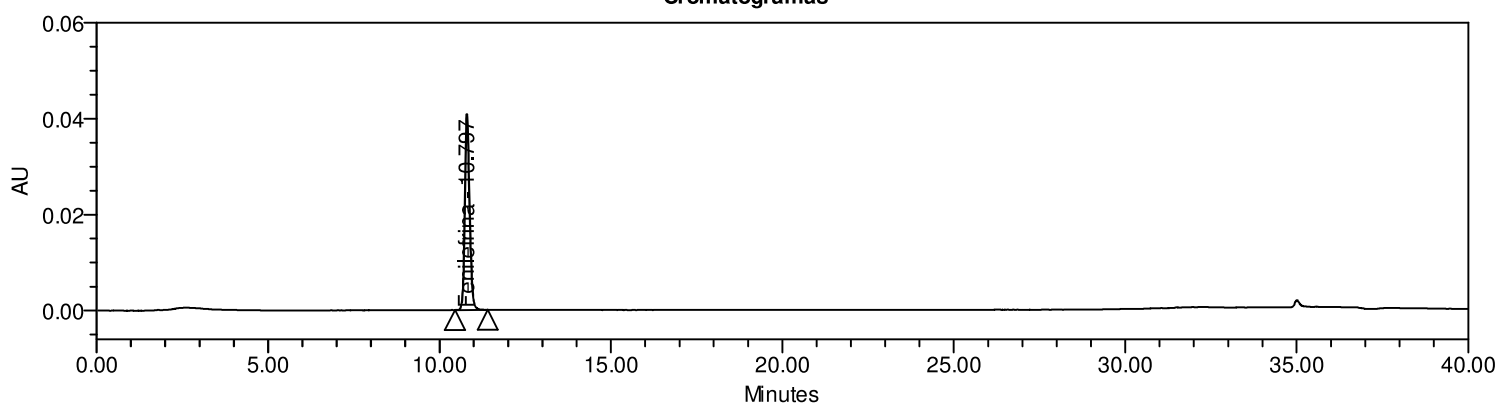
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



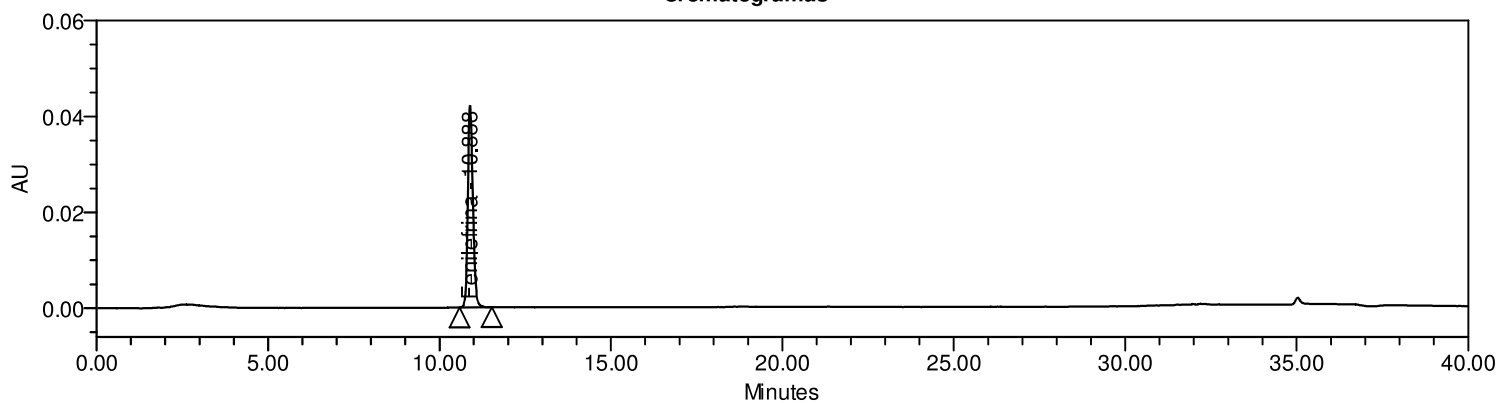
Vial 1:C,3; SampleName Linearidade 100% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 8:22:13 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:26:26 AM GMT+3; Result Id 70614

Cromatogramas



Vial 1:C,4; SampleName Linearidade 100% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 9:02:54 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:26:52 AM GMT+3; Result Id 70615

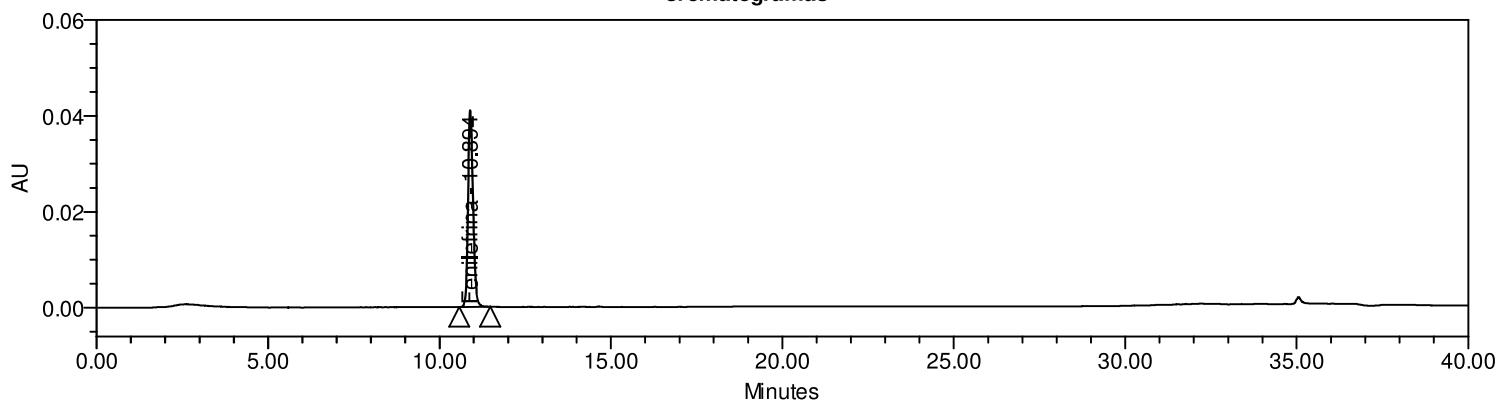
Cromatogramas



Vial 1:C,5; SampleName Linearidade 110% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:04:57 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:27:48 AM GMT+3; Result Id 70616

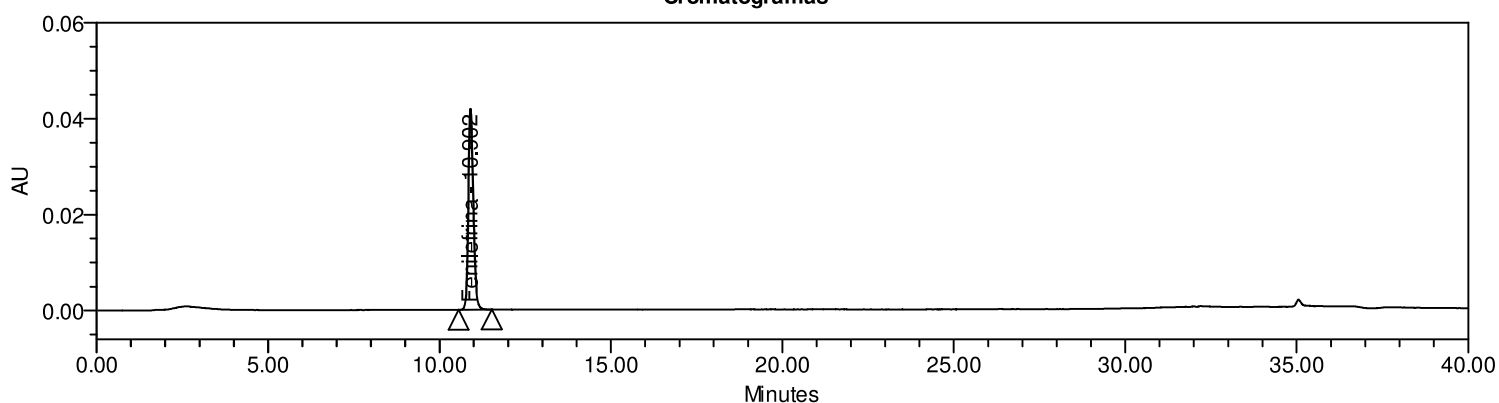
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



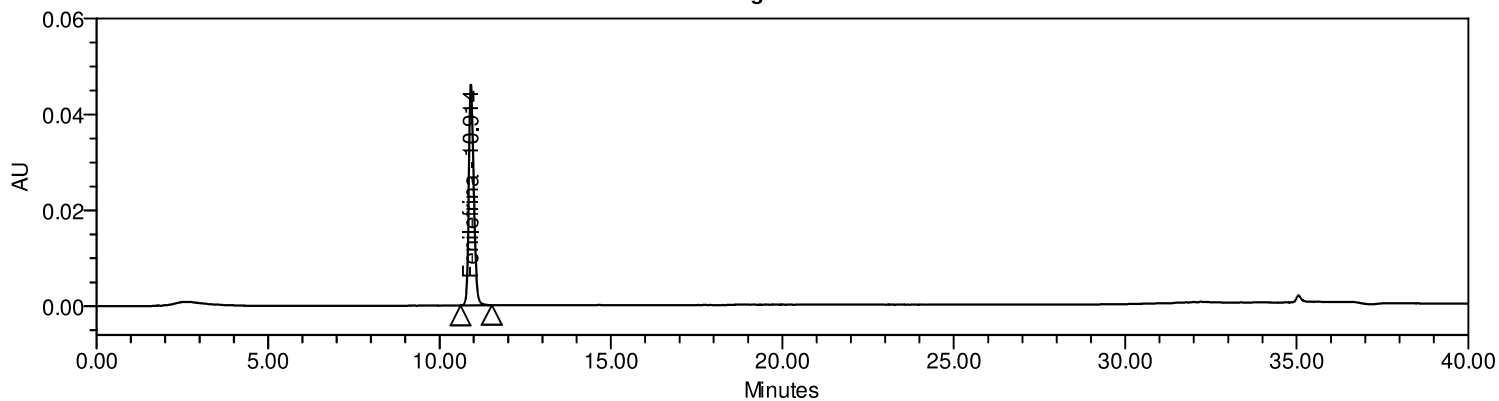
Vial 1:C,6; SampleName Linearidade 110% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:45:38 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:28:09 AM GMT+3; Result Id 70617

Cromatogramas



Vial 1:C,7; SampleName Linearidade 110% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 12:26:19 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:28:55 AM GMT+3; Result Id 70618

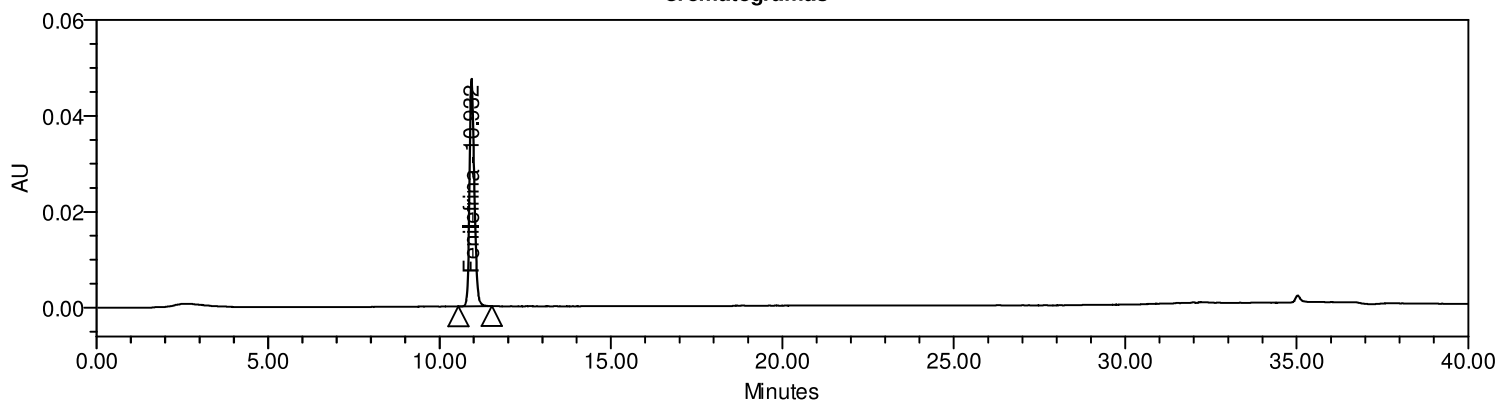
Cromatogramas



Vial 1:C,8; SampleName Linearidade 120% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 1:07:00 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:29:38 AM GMT+3; Result Id 70619

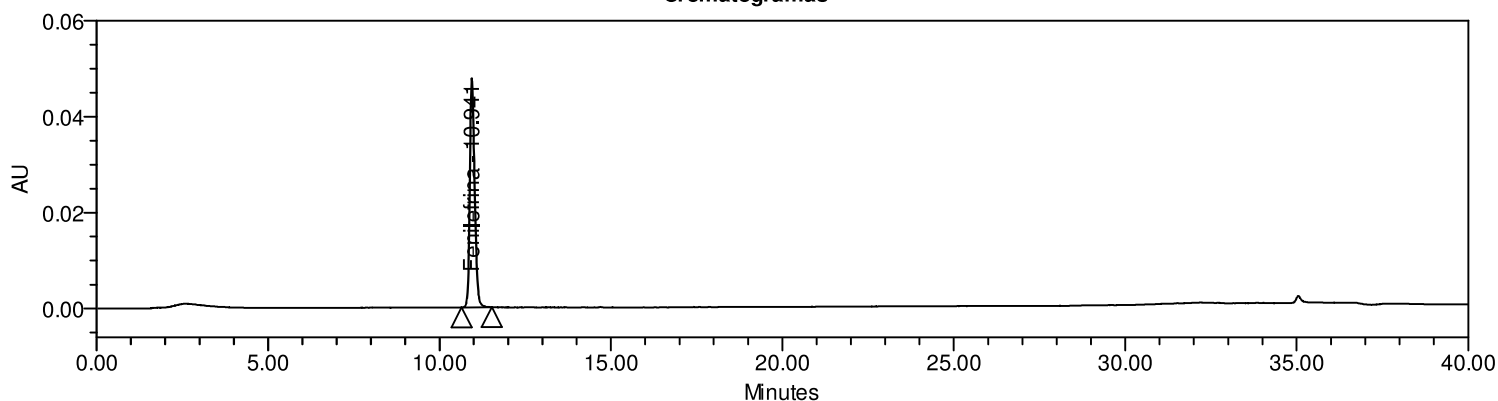
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Cromatogramas



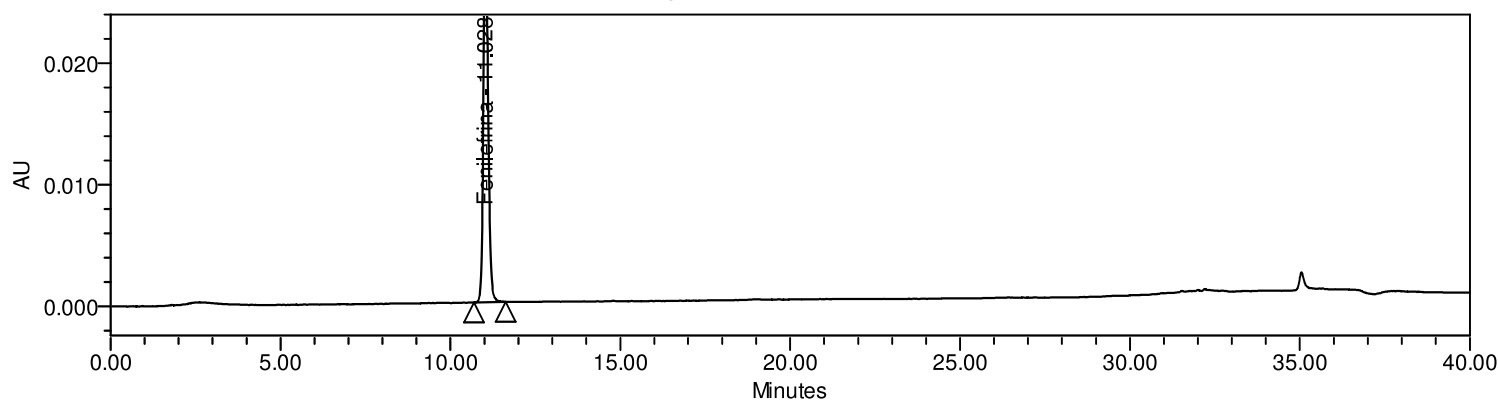
Vial 1:D,1; SampleName Linearidade 120% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 1:47:42 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:30:38 AM GMT+3; Result Id 70620

## Cromatogramas



Vial 1:D,2; SampleName Linearidade 120% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 2:28:22 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:31:07 AM GMT+3; Result Id 70621

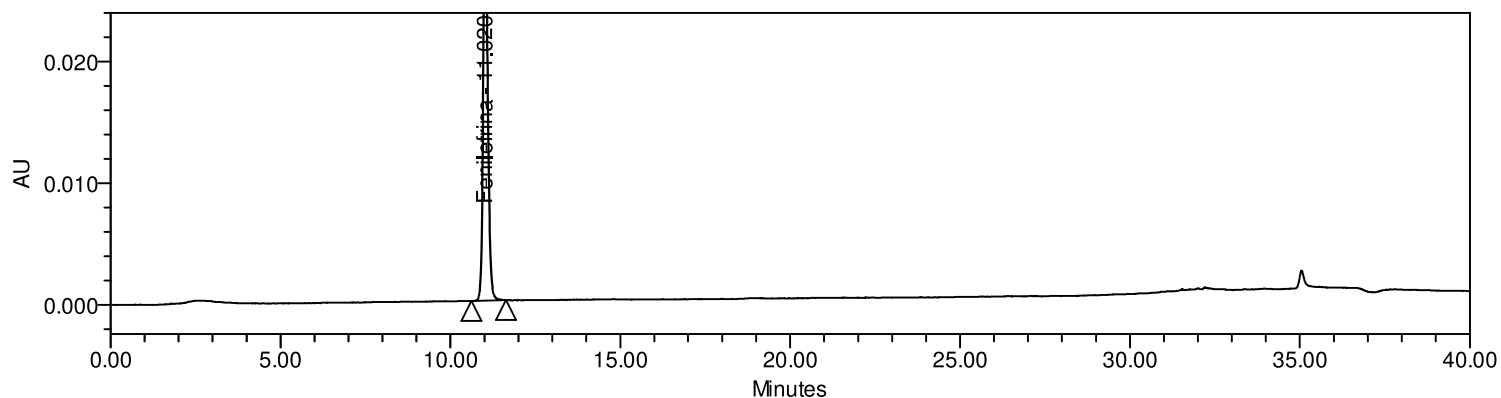
## Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:B,4; SampleName Linearidade 80% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:37:26 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:22:24 AM GMT+3; Result Id 70605

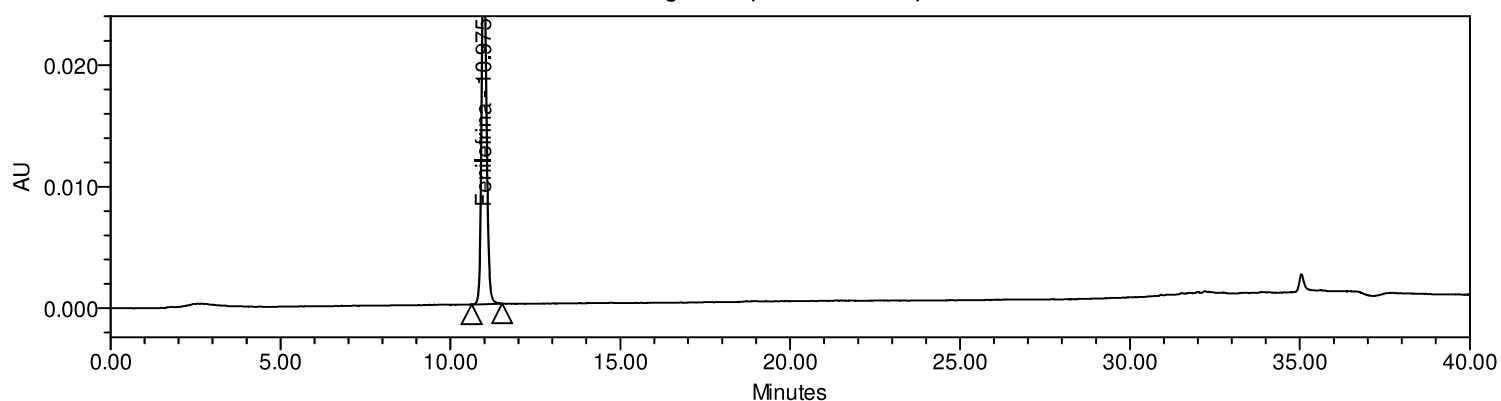
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



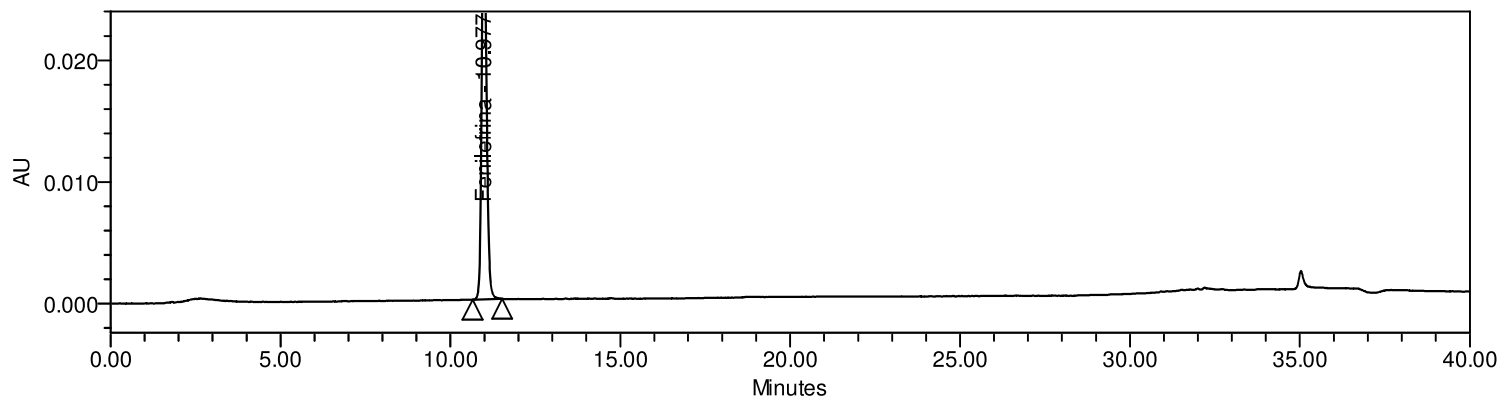
Vial 1:B,5; SampleName Linearidade 80% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:18:06 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:22:50 AM GMT+3; Result Id 70608

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:B,6; SampleName Linearidade 80% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:58:46 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:23:33 AM GMT+3; Result Id 70609

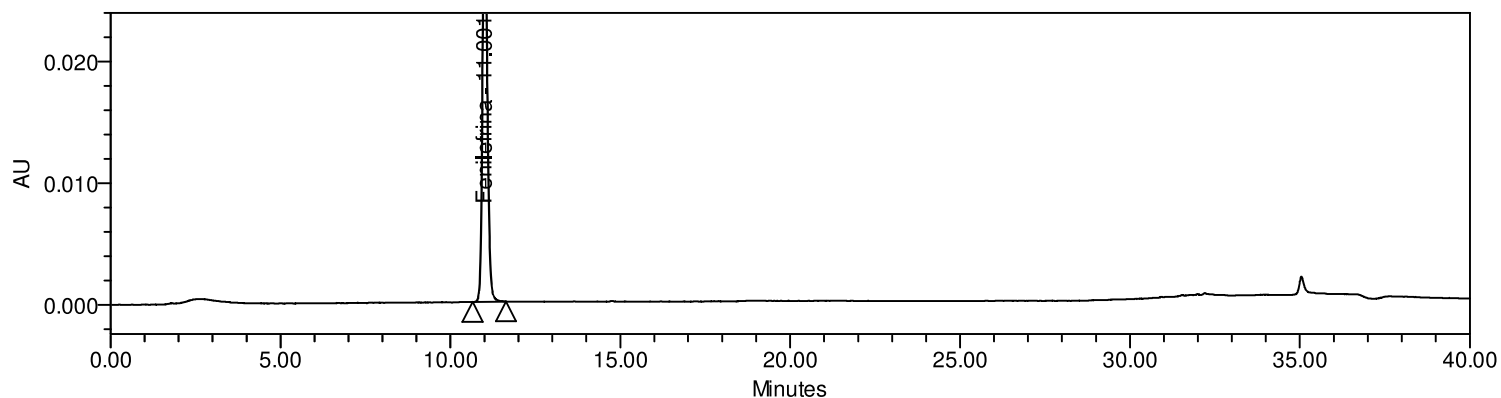
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:B,7; SampleName Linearidade 90% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:39:28 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:24:17 AM GMT+3; Result Id 70610

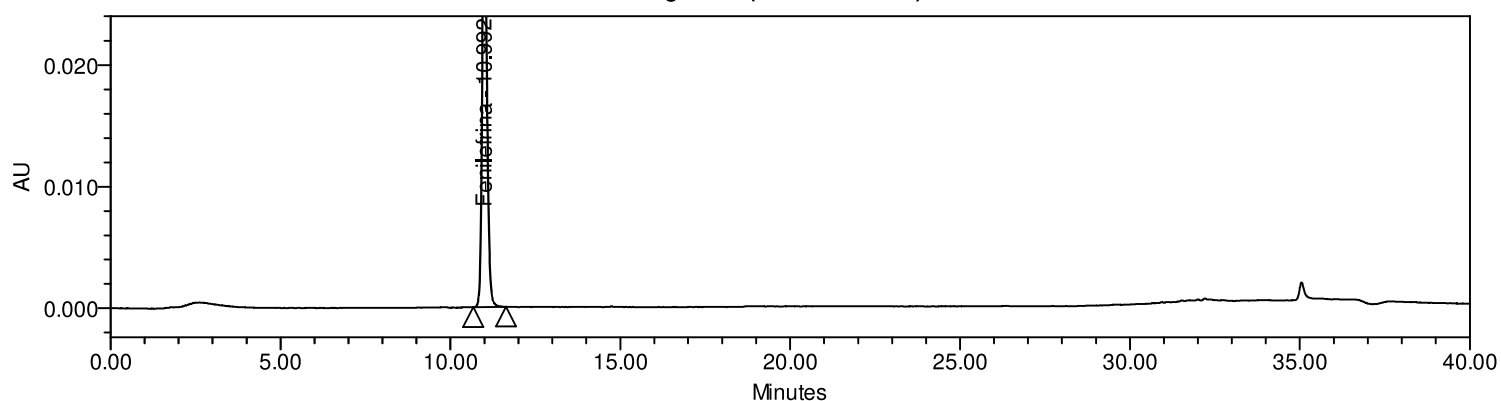
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



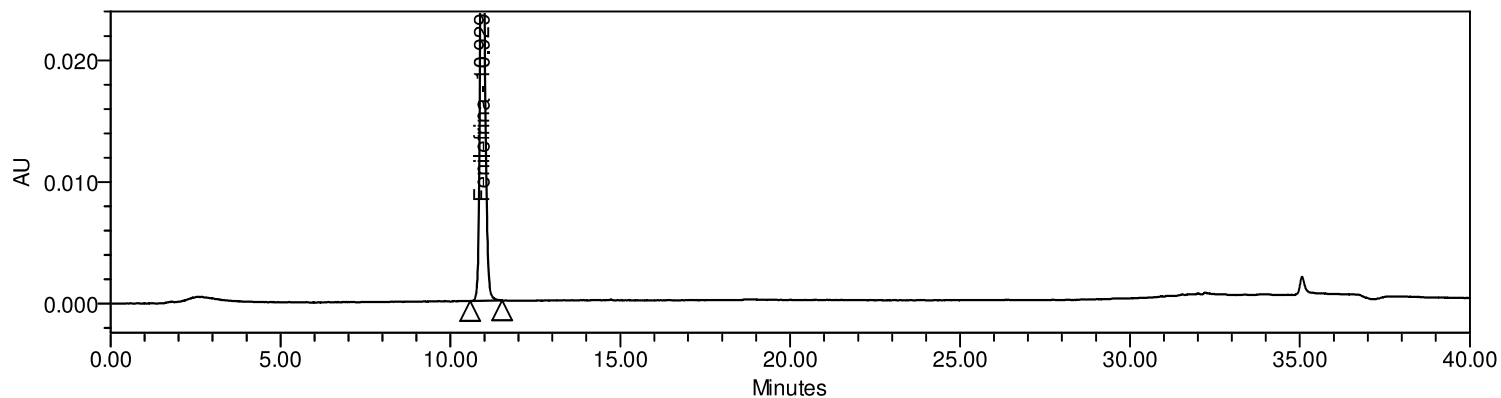
Vial 1:B,8; SampleName Linearidade 90% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 6:20:12 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:24:44 AM GMT+3; Result Id 70611

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:C,1; SampleName Linearidade 90% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 7:00:53 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:25:24 AM GMT+3; Result Id 70612

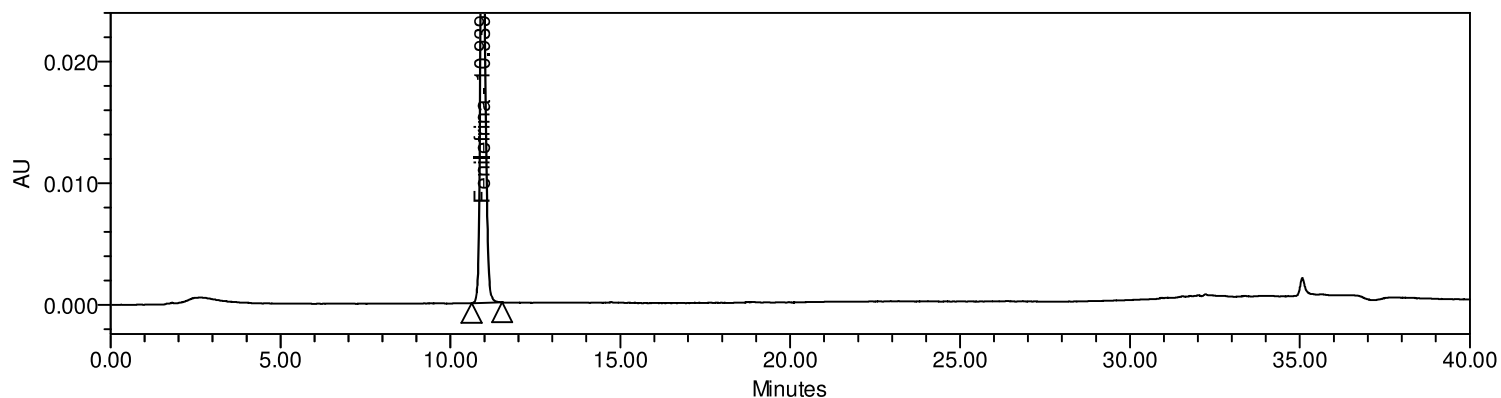
Cromatogramas (escala reduzida)



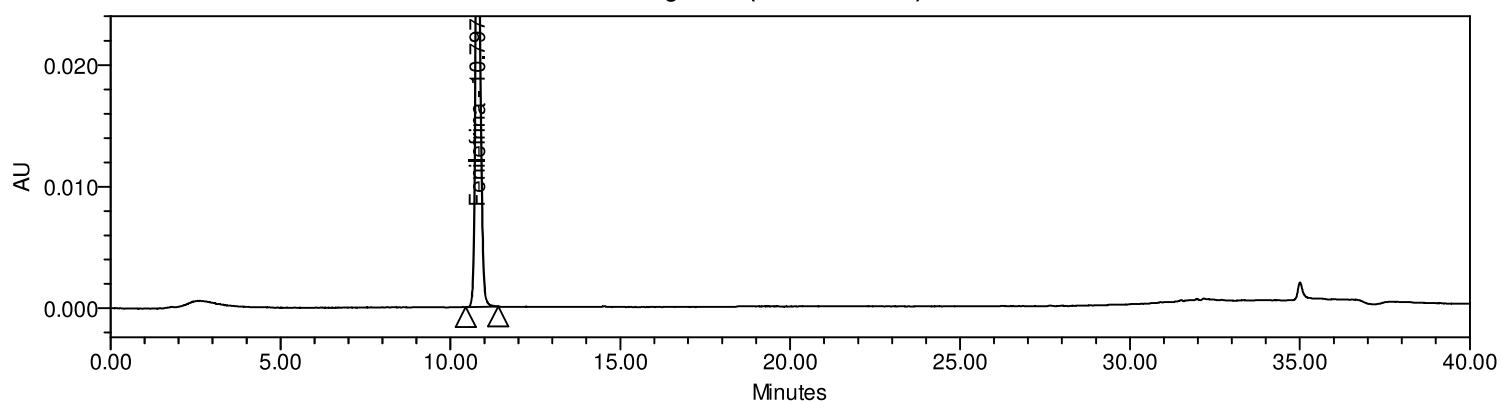
Vial 1:C,2; SampleName Linearidade 100% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 7:41:34 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:25:51 AM GMT+3; Result Id 70613

# Validação/Verificação de Método Analítico

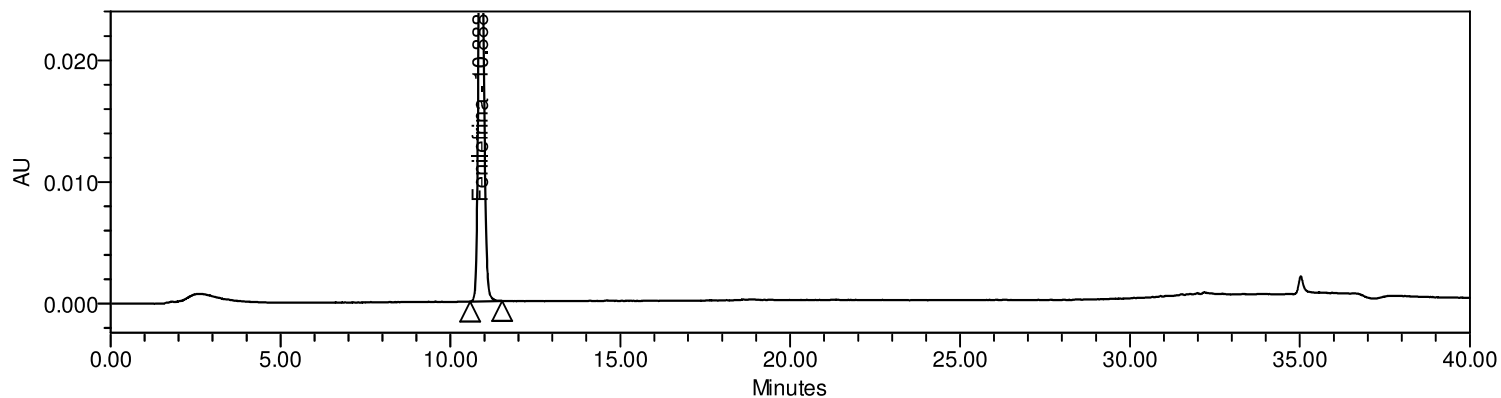
Cromatogramas (escala reduzida)



Cromatogramas (escala reduzida)

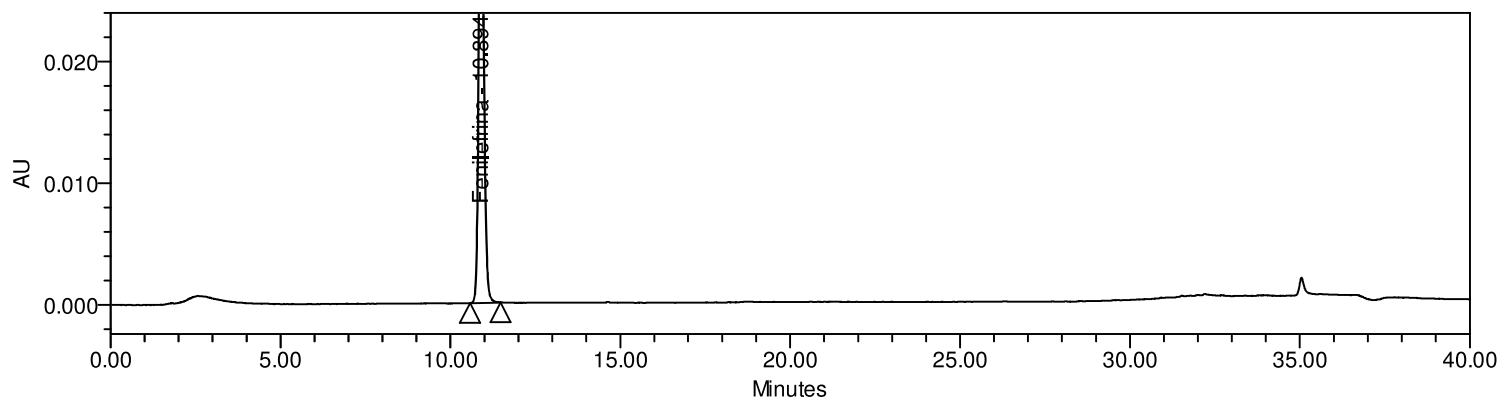


Cromatogramas (escala reduzida)



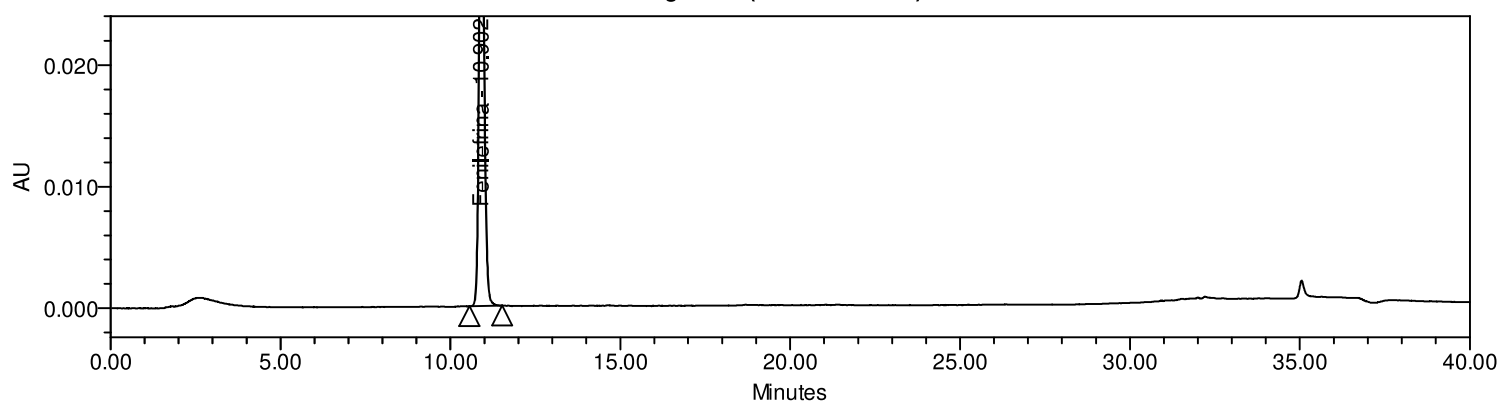
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



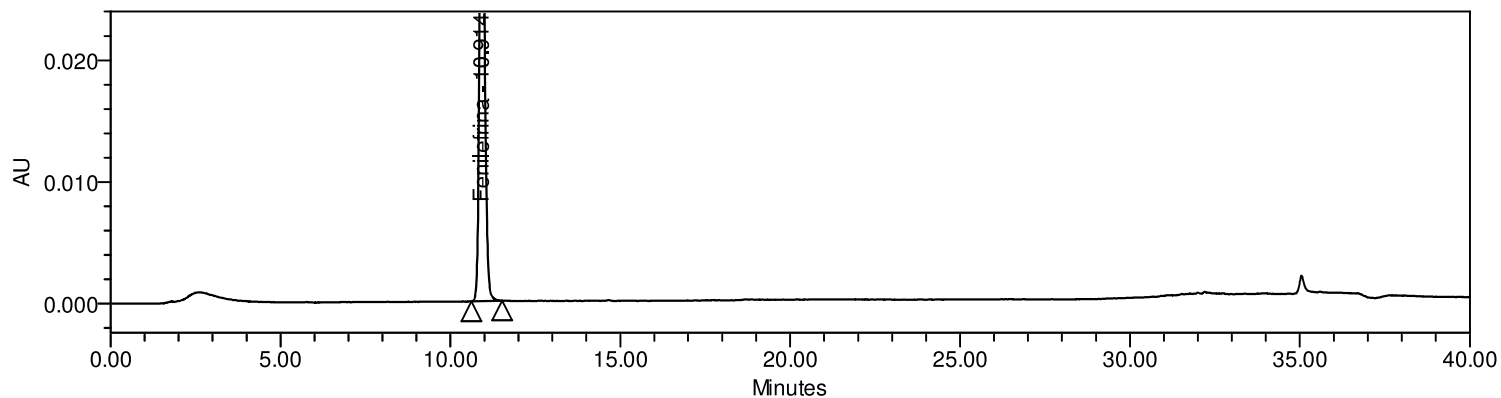
Vial 1:C,6; SampleName Linearidade 110% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:45:38 AM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:28:09 AM GMT+3; Result Id 70617

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:C,7; SampleName Linearidade 110% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 12:26:19 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:28:55 AM GMT+3; Result Id 70618

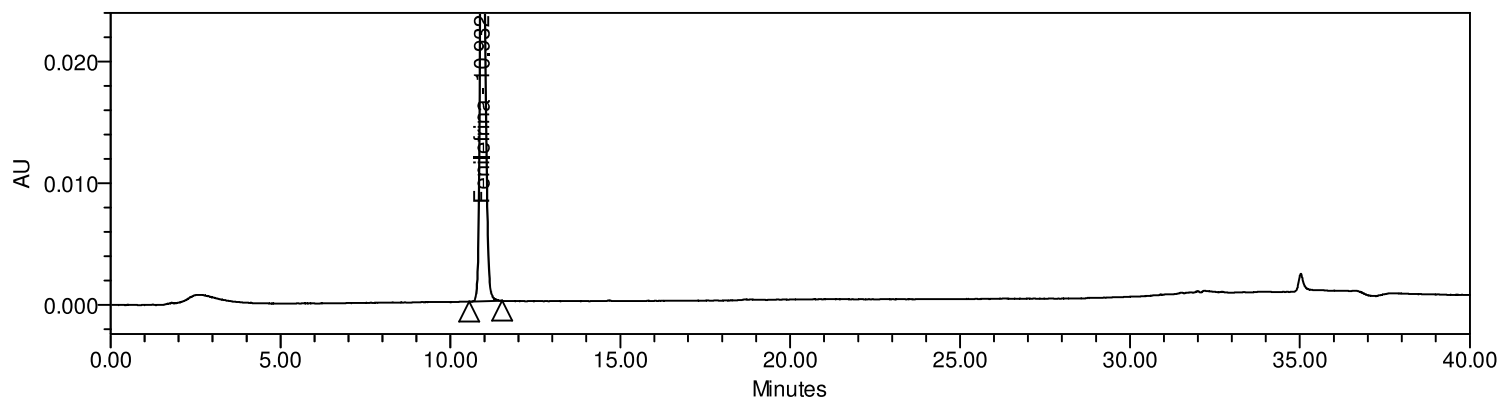
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:C,8; SampleName Linearidade 120% AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 1:07:00 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:29:38 AM GMT+3; Result Id 70619

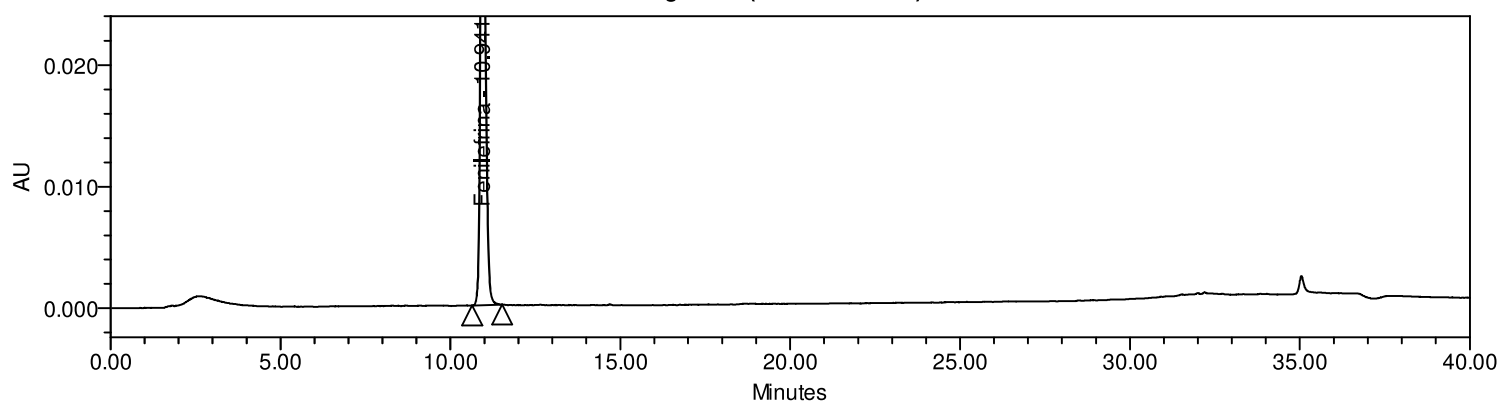
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,1; SampleName Linearidade 120% AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 1:47:42 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:30:38 AM GMT+3; Result Id 70620

Cromatogramas (escala reduzida)



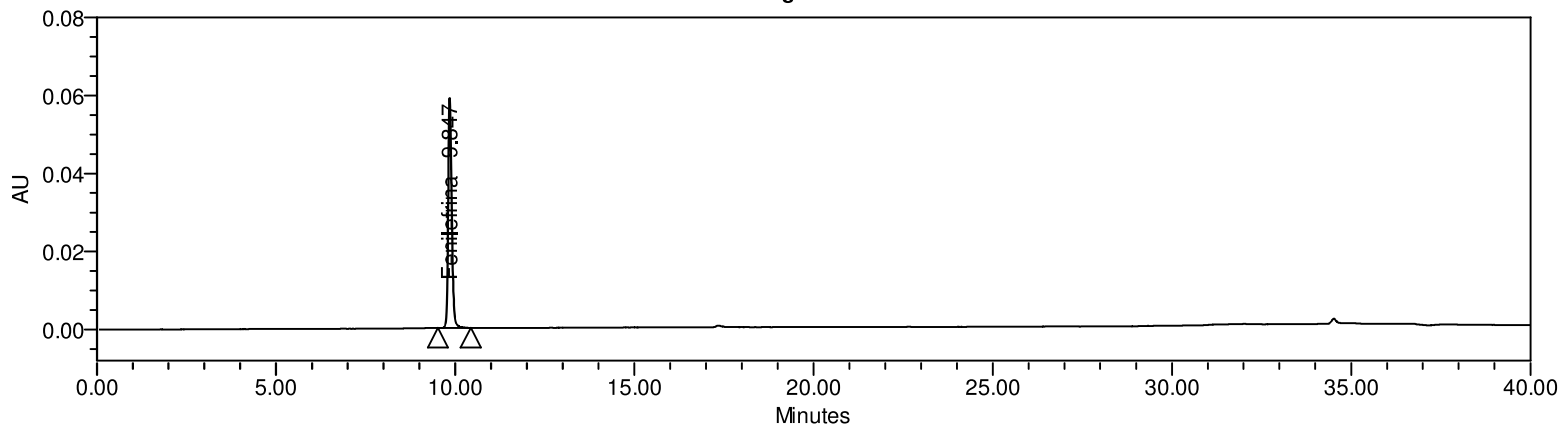
Vial 1:D,2; SampleName Linearidade 120% AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 2:28:22 PM GMT+3; Date Processed 1/2/2022 3:31:07 AM GMT+3; Result Id 70621

**Name: Fenilefrina**

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	USP s/n	Result Id
1	1:B,4	1	2.0	Linearidade 80% AM01	Fenilefrina	11.0	312114	0.1600	2605	70605
2	1:B,5	1	2.0	Linearidade 80% AM02	Fenilefrina	11.0	316351	0.1600	2432	70608
3	1:B,6	1	2.0	Linearidade 80% AM03	Fenilefrina	11.0	313416	0.1600	3196	70609
4	1:B,7	1	2.0	Linearidade 90% AM01	Fenilefrina	11.0	341281	0.1800	3414	70610
5	1:B,8	1	2.0	Linearidade 90% AM02	Fenilefrina	11.0	347937	0.1800	3080	70611
6	1:C,1	1	2.0	Linearidade 90% AM03	Fenilefrina	11.0	345080	0.1800	2416	70612
7	1:C,2	1	2.0	Linearidade 100% AM01	Fenilefrina	10.9	388593	0.2000	3917	70613
8	1:C,3	1	2.0	Linearidade 100% AM02	Fenilefrina	10.9	386824	0.2000	3912	70614
9	1:C,4	1	2.0	Linearidade 100% AM03	Fenilefrina	10.8	397353	0.2000	5148	70615
10	1:C,5	1	2.0	Linearidade 110% AM01	Fenilefrina	10.9	434695	0.2200	3838	70616
11	1:C,6	1	2.0	Linearidade 110% AM02	Fenilefrina	10.9	419888	0.2200	2993	70617
12	1:C,7	1	2.0	Linearidade 110% AM03	Fenilefrina	10.9	426166	0.2200	3784	70618
13	1:C,8	1	2.0	Linearidade 120% AM01	Fenilefrina	10.9	465487	0.2400	4348	70619
14	1:D,1	1	2.0	Linearidade 120% AM02	Fenilefrina	10.9	466020	0.2400	4873	70620
15	1:D,2	1	2.0	Linearidade 120% AM03	Fenilefrina	10.9	467810	0.2400	5836	70621
Mean						10.9	388601		3719	
Std. Dev.							56873.1			
% RSD							14.6			

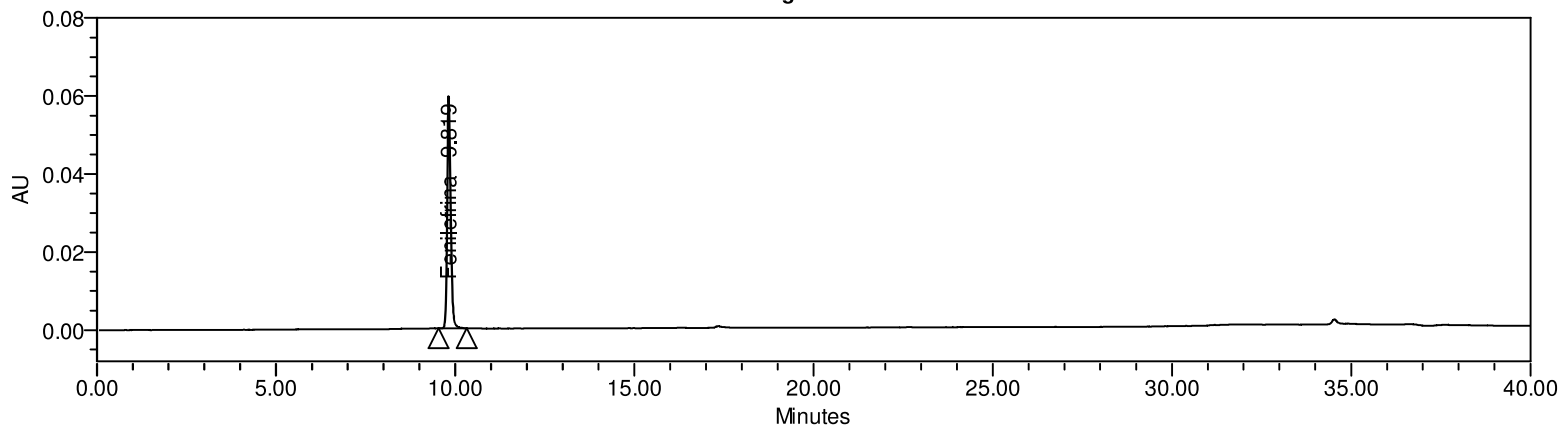
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



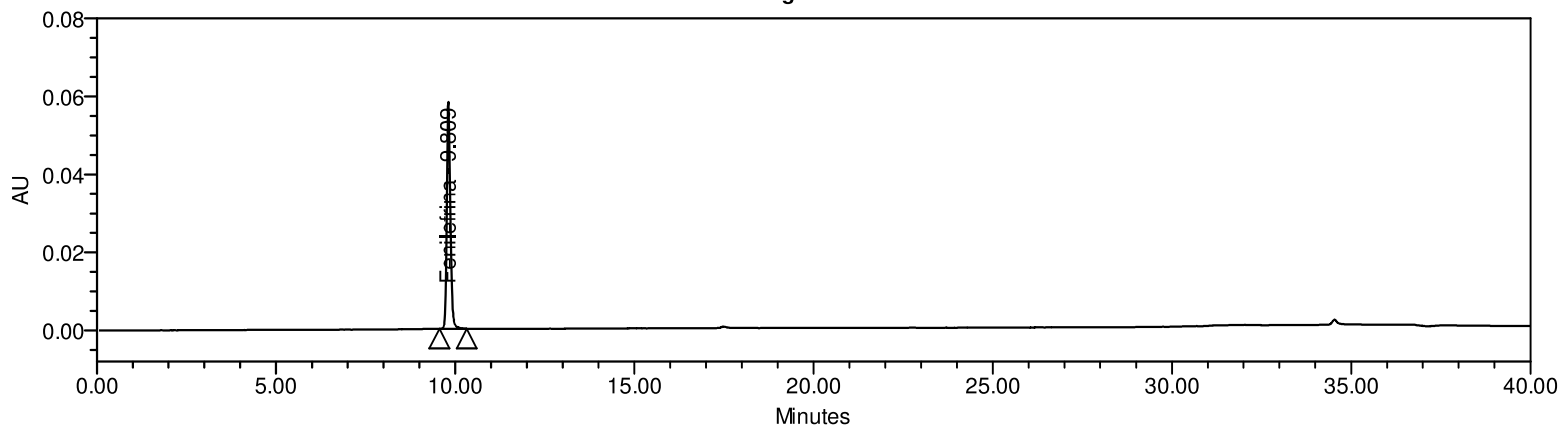
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:40:59 PM GMT+3; Result Id 69416

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:01 PM GMT+3; Result Id 69419

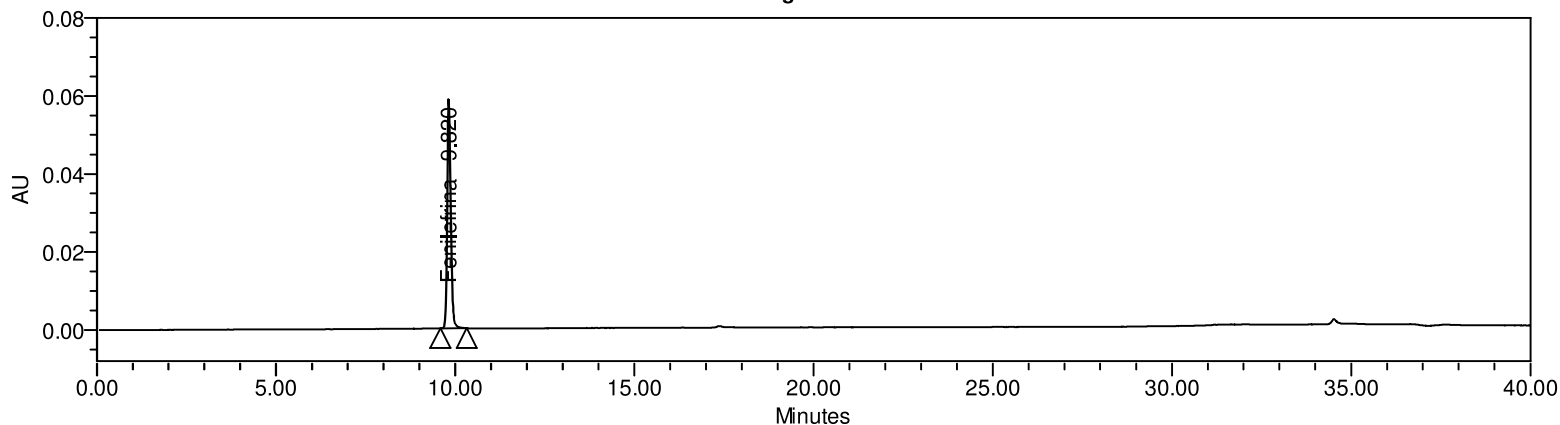
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:03 PM GMT+3; Result Id 69420

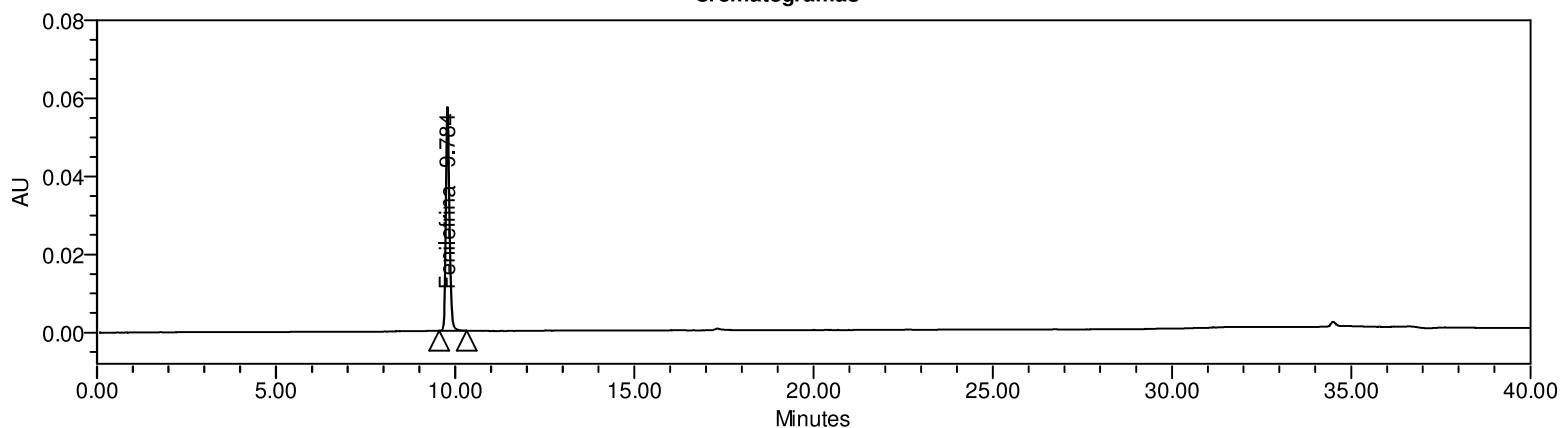
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



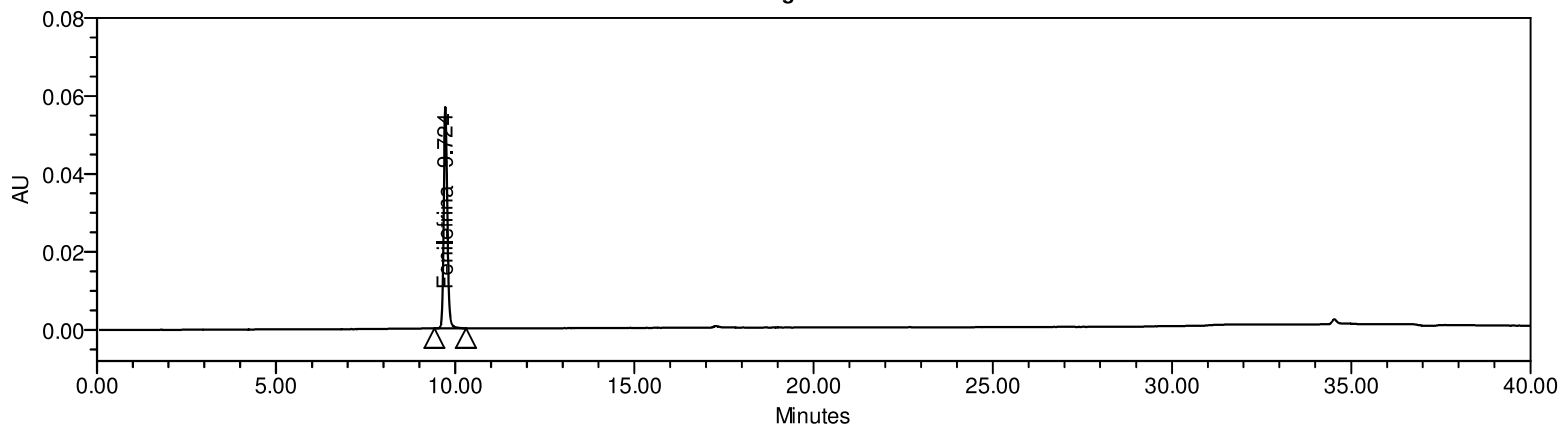
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:05 PM GMT+3; Result Id 69421

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:07 PM GMT+3; Result Id 69422

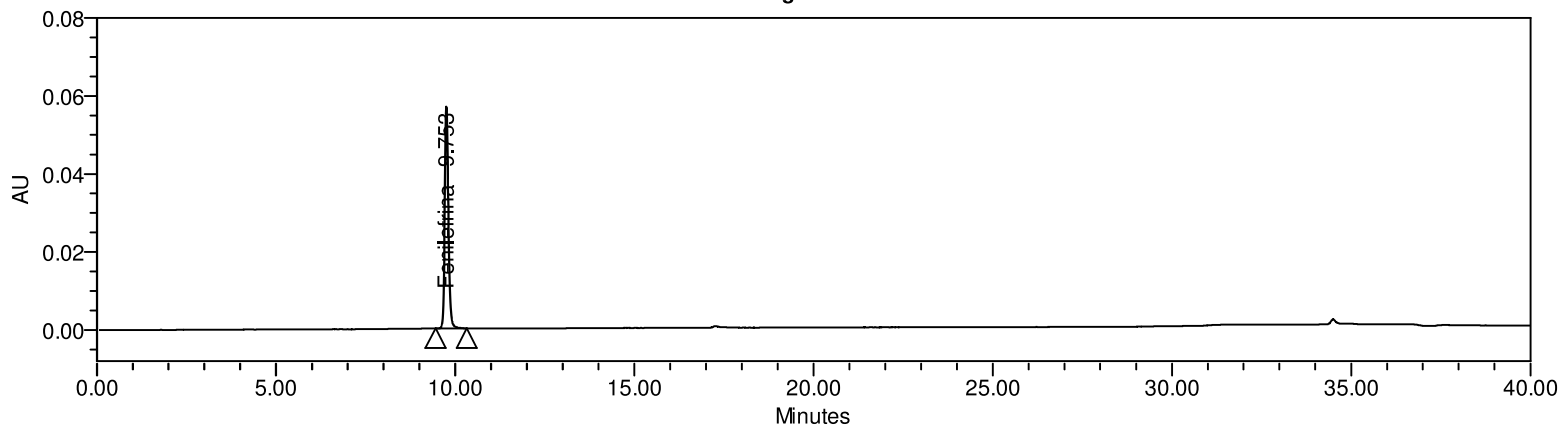
Cromatogramas



Vial 1:D,3; SampleName Precisao dia 1 AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:32:25 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:09 PM GMT+3; Result Id 69423

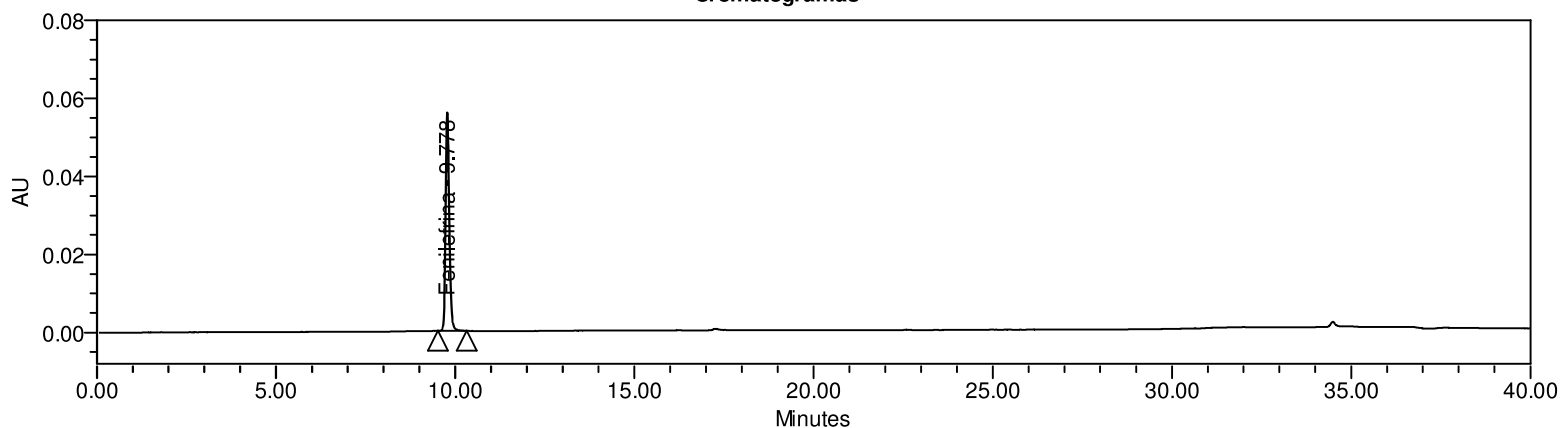
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



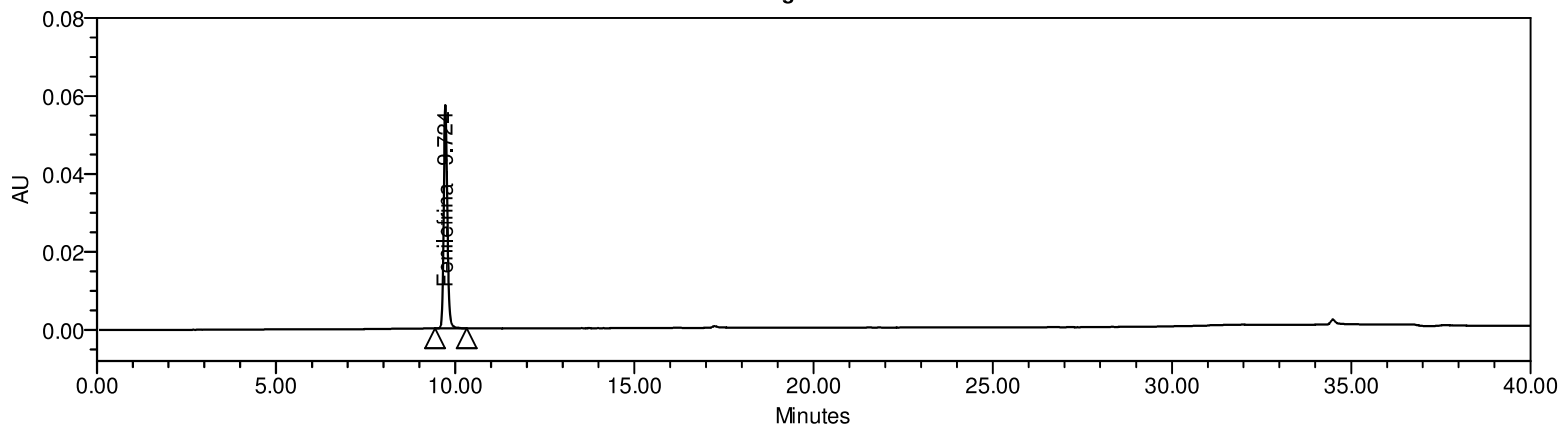
Vial 1:D,4; SampleName Precisao dia 1 AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 8:13:08 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:13 PM GMT+3; Result Id 69424

Cromatogramas



Vial 1:D,5; SampleName Precisao dia 1 AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 8:53:51 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:16 PM GMT+3; Result Id 69425

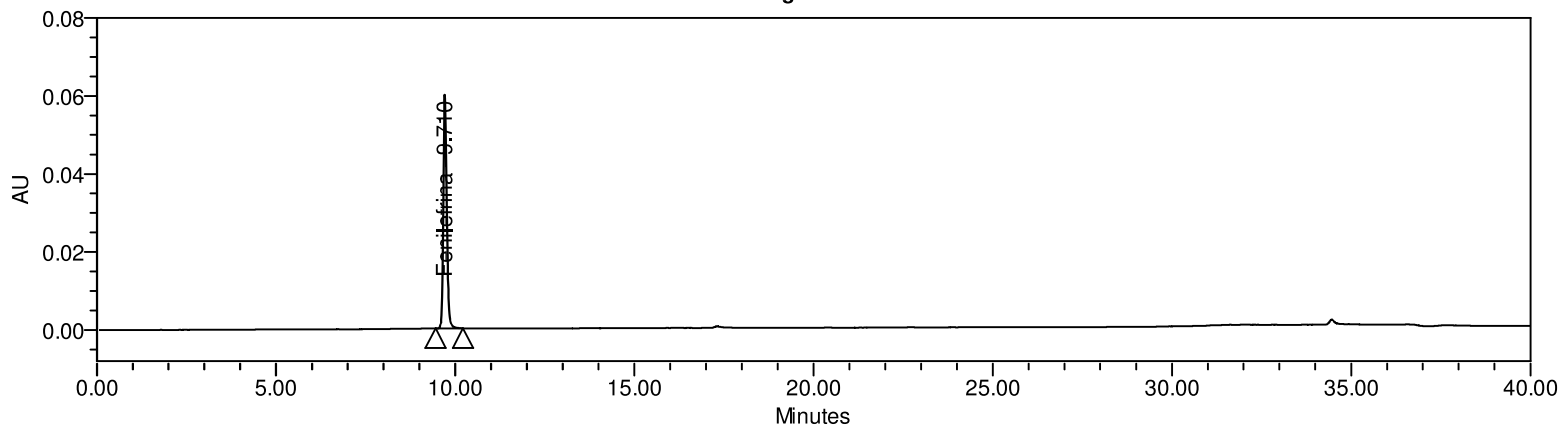
Cromatogramas



Vial 1:D,6; SampleName Precisao dia 1 AM04; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 9:34:31 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:19 PM GMT+3; Result Id 69426

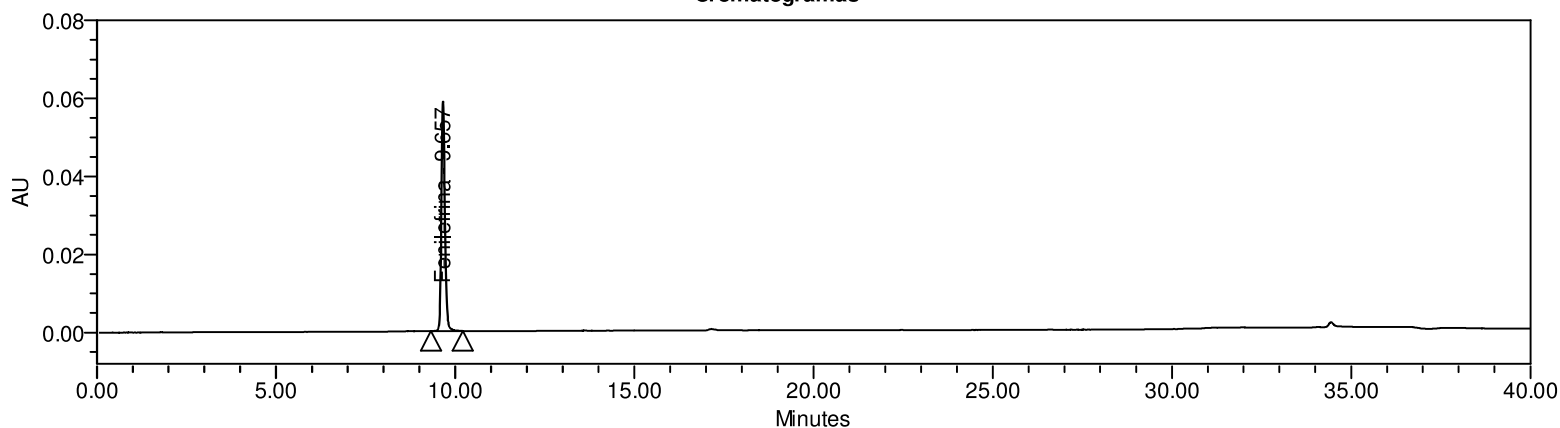
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



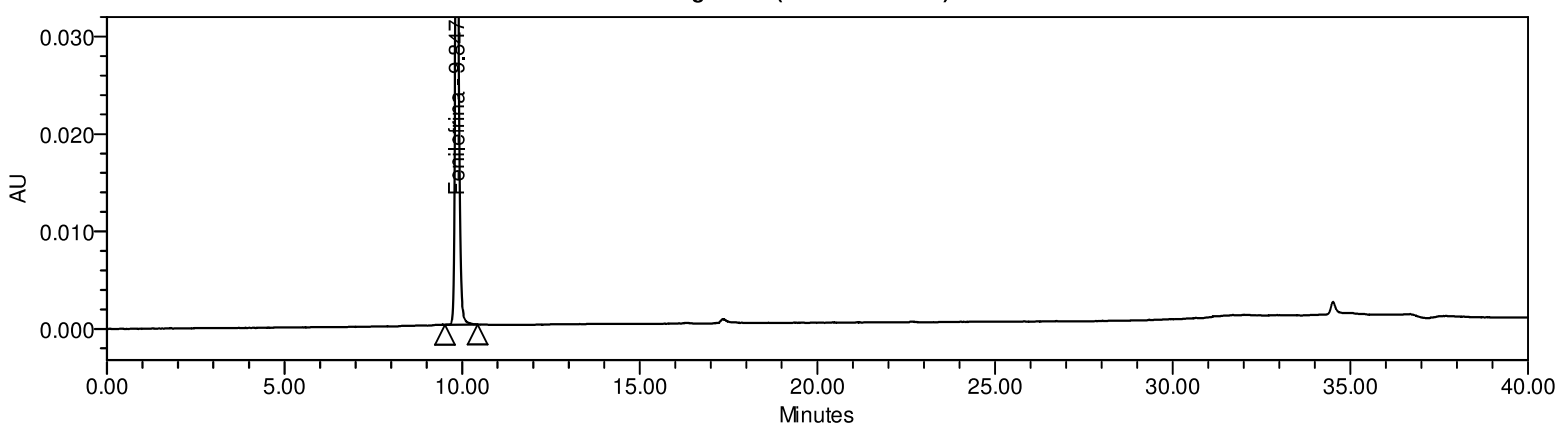
Vial 1:D,7; SampleName Precisao dia 1 AM05; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 10:15:11 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:22 PM GMT+3; Result Id 69427

Cromatogramas



Vial 1:D,8; SampleName Precisao dia 1 AM06; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 10:55:51 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:24 PM GMT+3; Result Id 69428

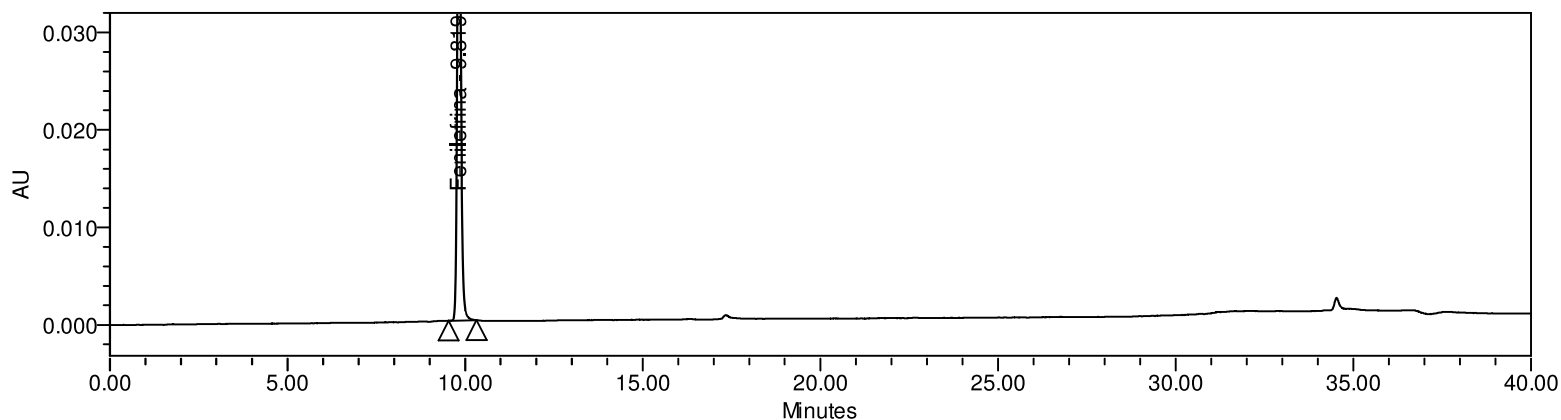
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:40:59 PM GMT+3; Result Id 69416

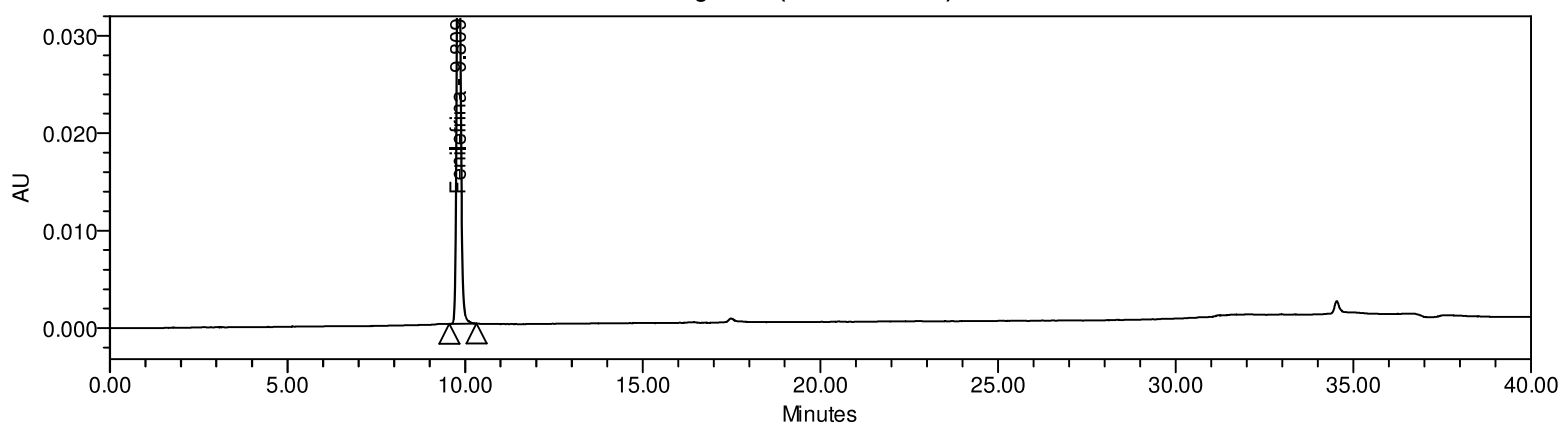
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



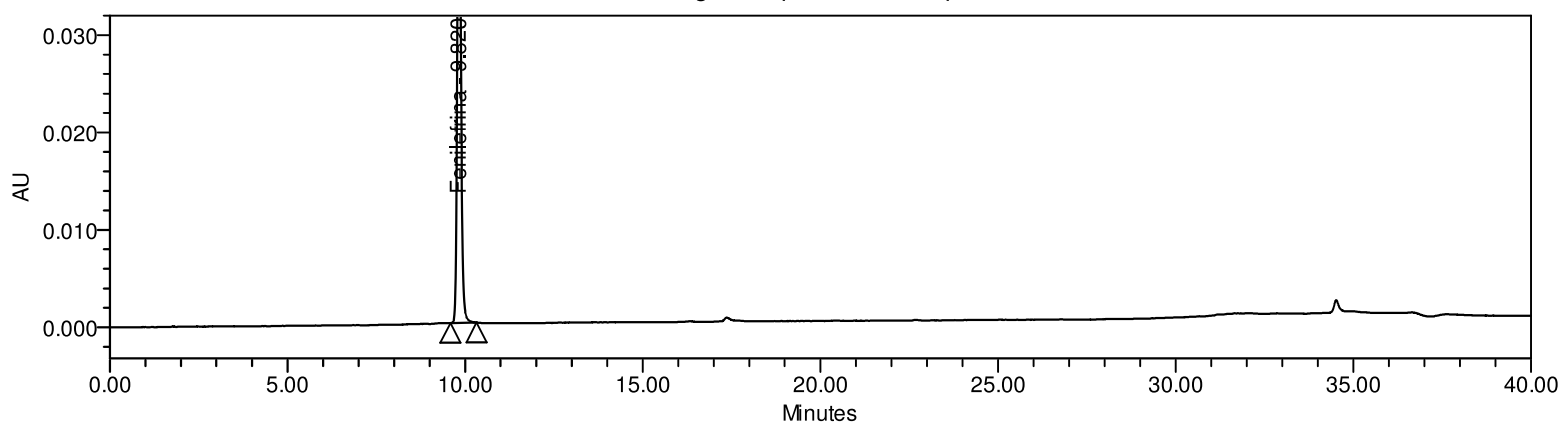
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:01 PM GMT+3; Result Id 69419

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:03 PM GMT+3; Result Id 69420

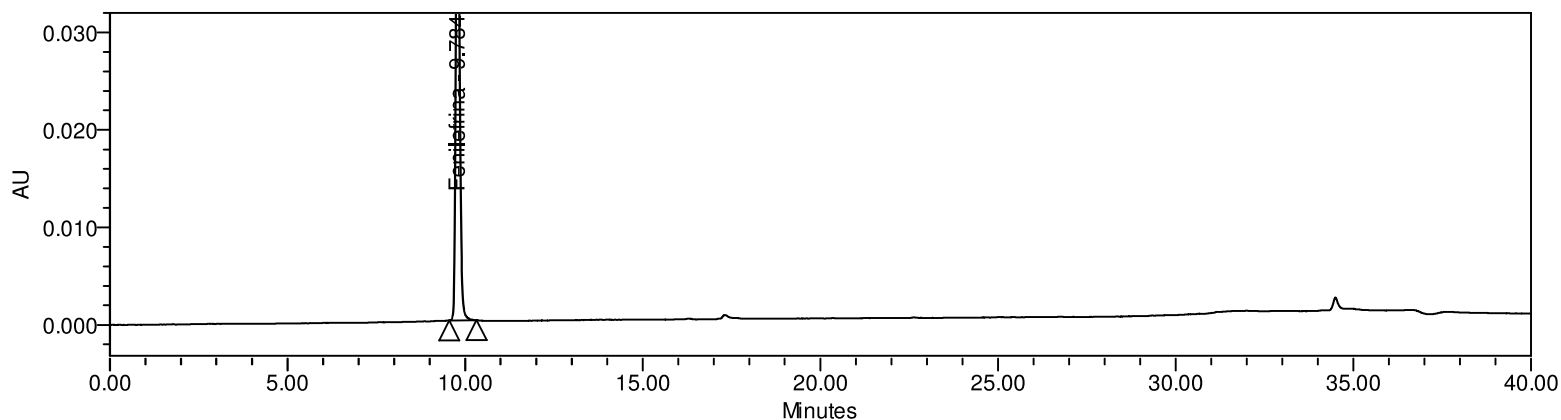
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:05 PM GMT+3; Result Id 69421

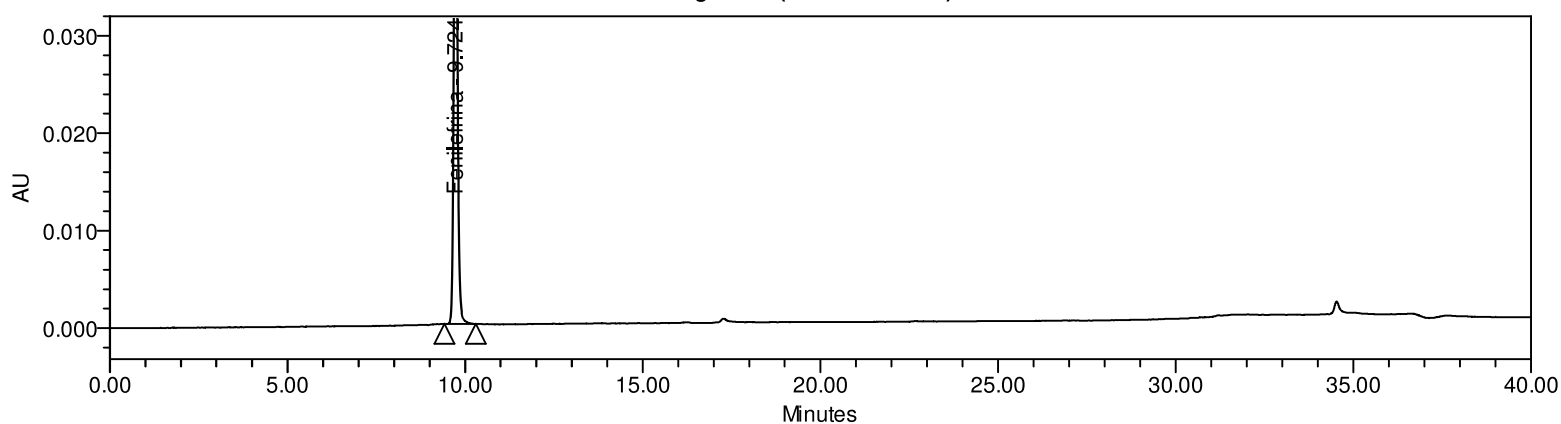
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



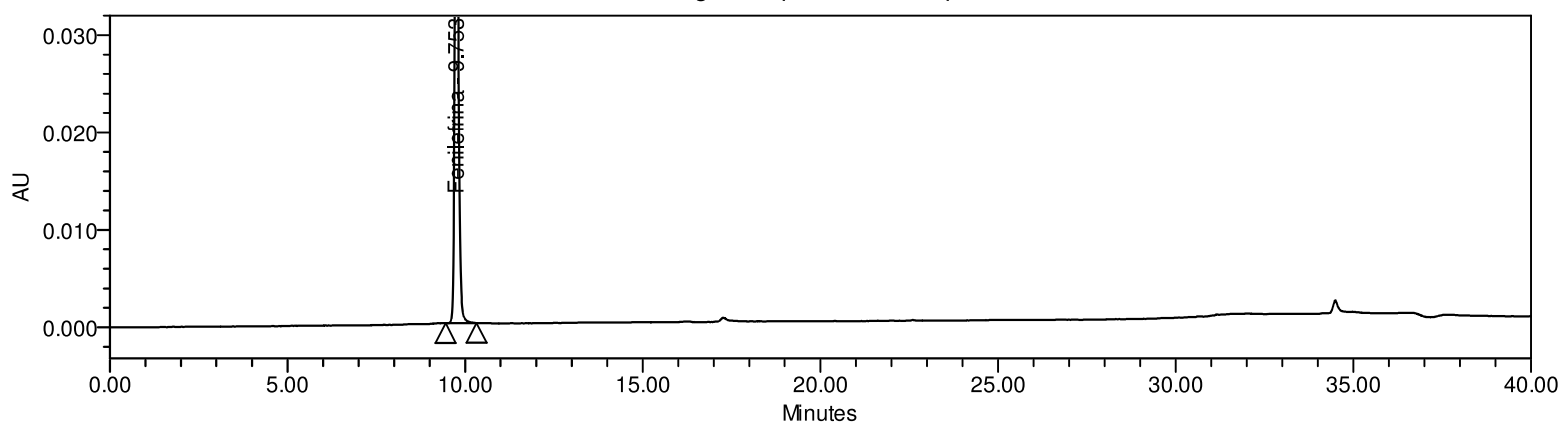
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:07 PM GMT+3; Result Id 69422

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,3; SampleName Precisao dia 1 AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:32:25 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:09 PM GMT+3; Result Id 69423

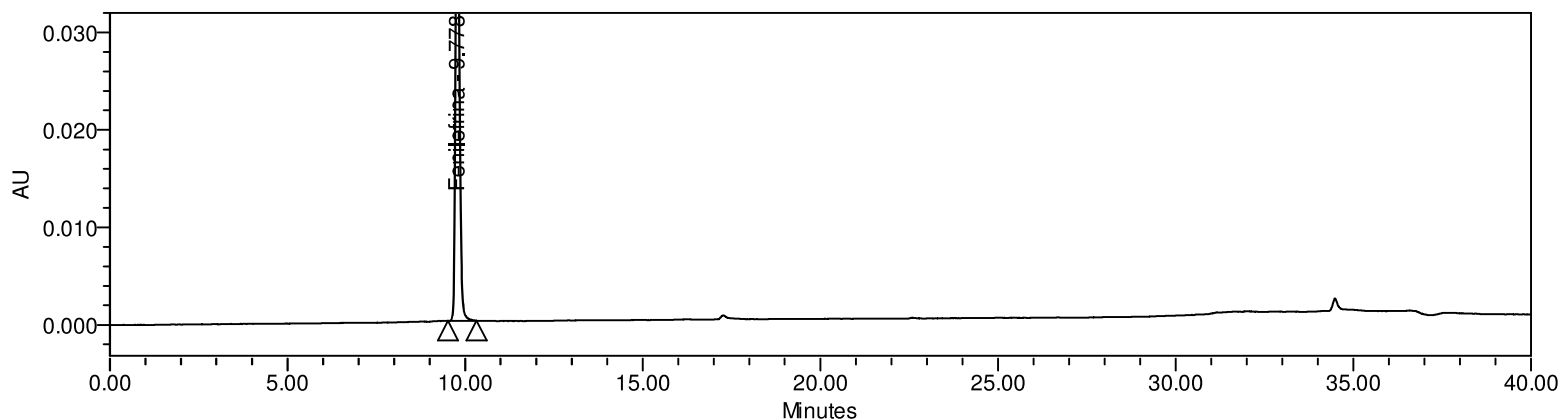
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,4; SampleName Precisao dia 1 AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 8:13:08 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:13 PM GMT+3; Result Id 69424

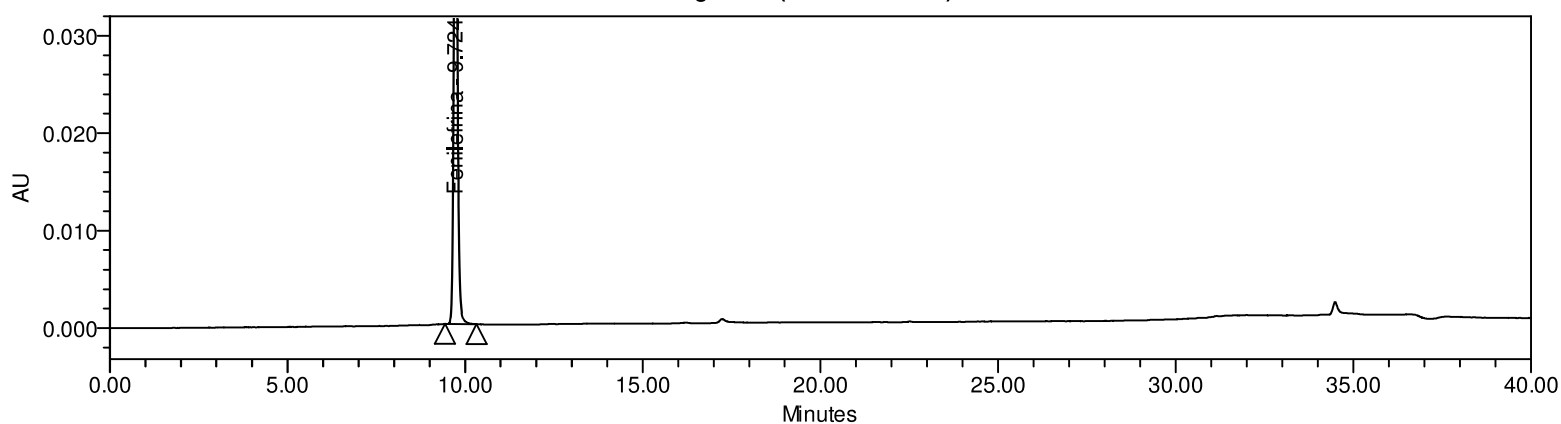
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



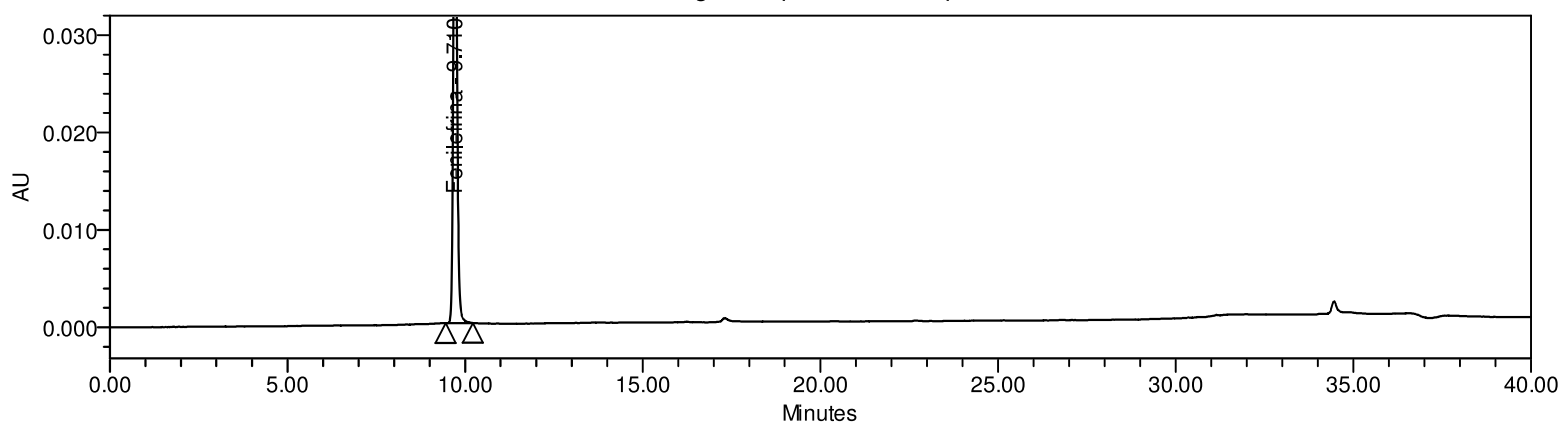
Vial 1:D,5; SampleName Precisao dia 1 AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 8:53:51 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:16 PM GMT+3; Result Id 69425

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,6; SampleName Precisao dia 1 AM04; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 9:34:31 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:19 PM GMT+3; Result Id 69426

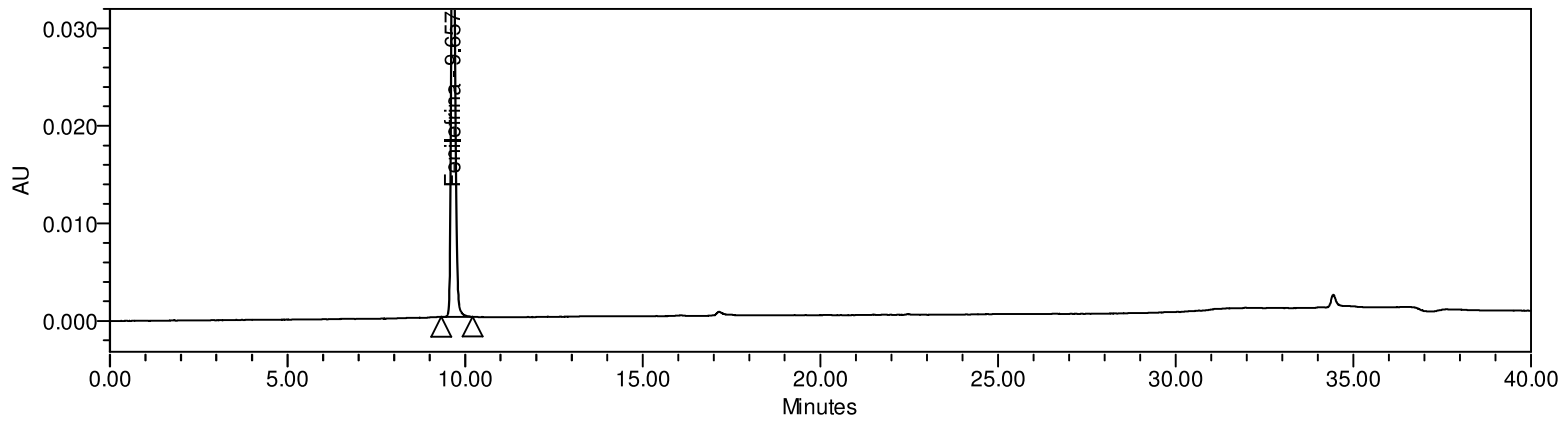
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,7; SampleName Precisao dia 1 AM05; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 10:15:11 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:22 PM GMT+3; Result Id 69427

# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,8; SampleName Precisao dia 1 AM06; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 10:55:51 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 1:41:24 PM GMT+3; Result Id 69428

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405697	0.2000	8.3	1.3	48795	69416
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405342	0.2000	8.3	1.3	49355	69419
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	404887	0.2000	8.3	1.2	47151	69420
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	405276	0.2000	8.3	1.2	48163	69421
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	9.8	406121	0.2000	8.2	1.2	45240	69422
Mean						9.8	405465	0.2000	8.3	1.2	47741	
Std. Dev.							466.3	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM01

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,3	1	2.0	Precisao dia 1 AM01	Fenilefrina	9.7	405828	0.2000	100.0000	100.09	8.2	1.2	43997	69423

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM02

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,4	1	2.0	Precisao dia 1 AM02	Fenilefrina	9.8	406811	0.2000	100.0000	100.33	8.2	1.2	44452	69424

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM03

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,5	1	2.0	Precisao dia 1 AM03	Fenilefrina	9.8	405506	0.2000	100.0000	100.01	8.2	1.2	43631	69425

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM04

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,6	1	2.0	Precisao dia 1 AM04	Fenilefrina	9.7	408402	0.2000	100.0000	100.72	8.2	1.2	44317	69426

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM05

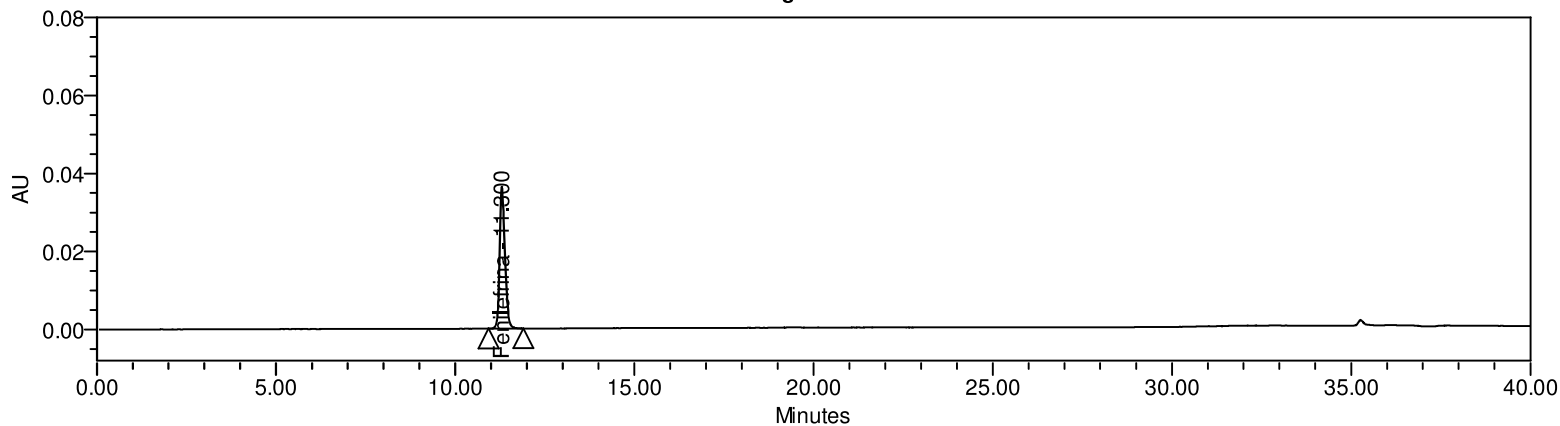
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,7	1	2.0	Precisao dia 1 AM05	Fenilefrina	9.7	407352	0.2000	100.0000	100.47	8.2	1.2	48581	69427

## Nome da Amostra: Precisao dia 1 AM06

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,8	1	2.0	Precisao dia 1 AM06	Fenilefrina	9.7	406838	0.2000	100.0000	100.34	8.1	1.2	46352	69428

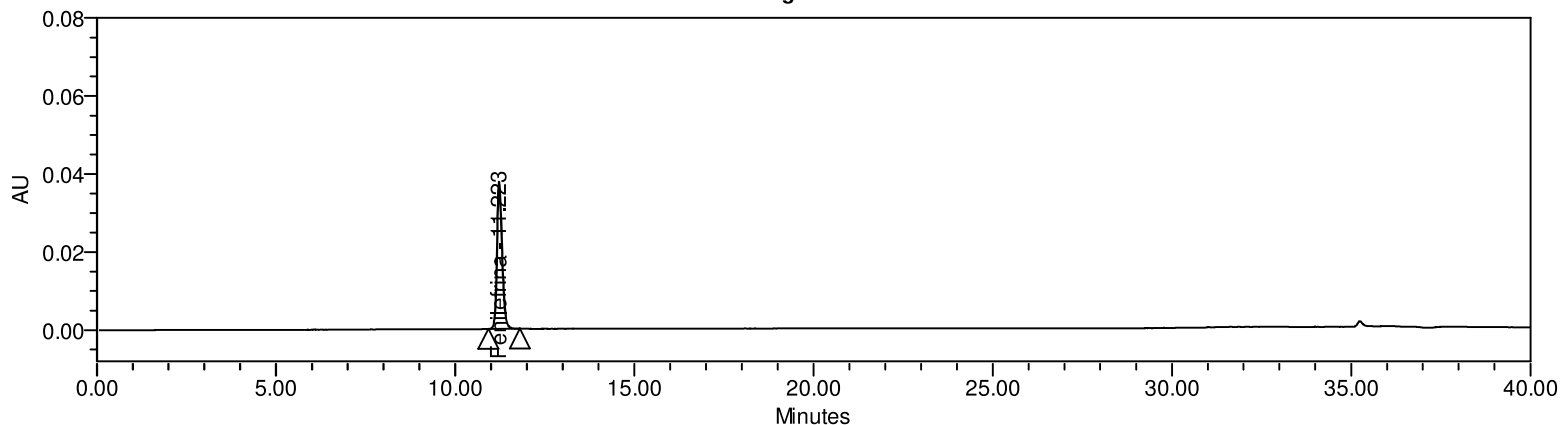
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



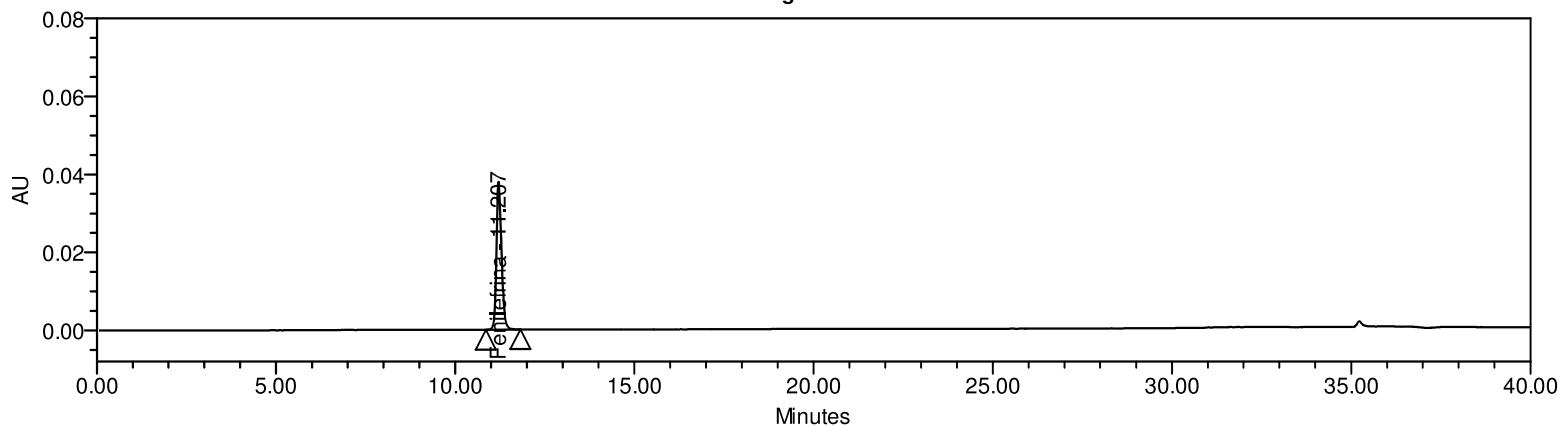
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:26:55 PM GMT+3; Result Id 69461

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:26:58 PM GMT+3; Result Id 69464

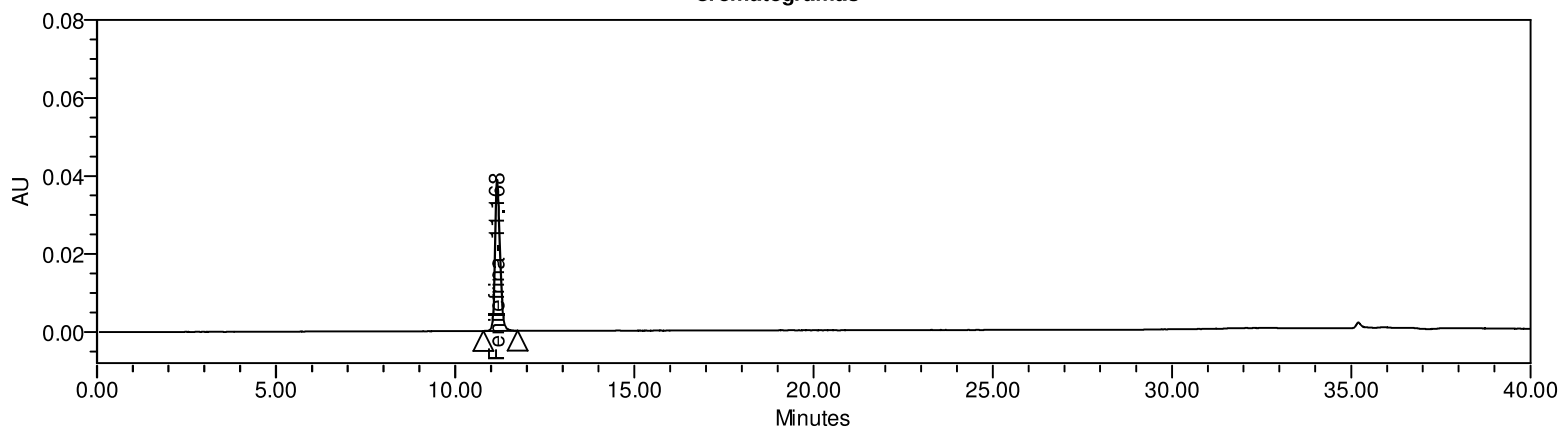
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:00 PM GMT+3; Result Id 69465

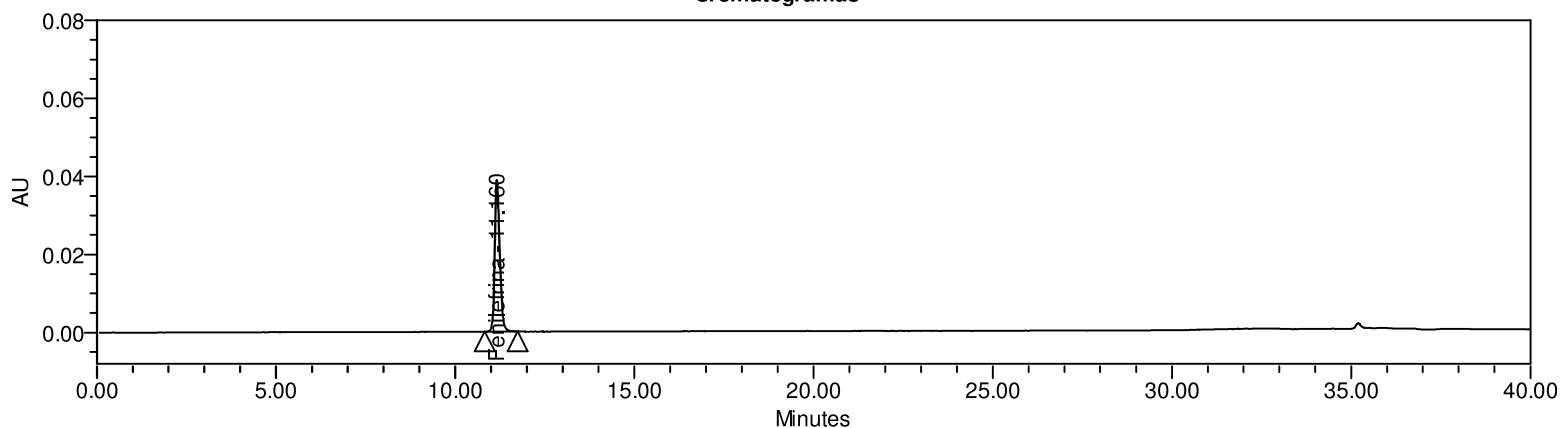
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



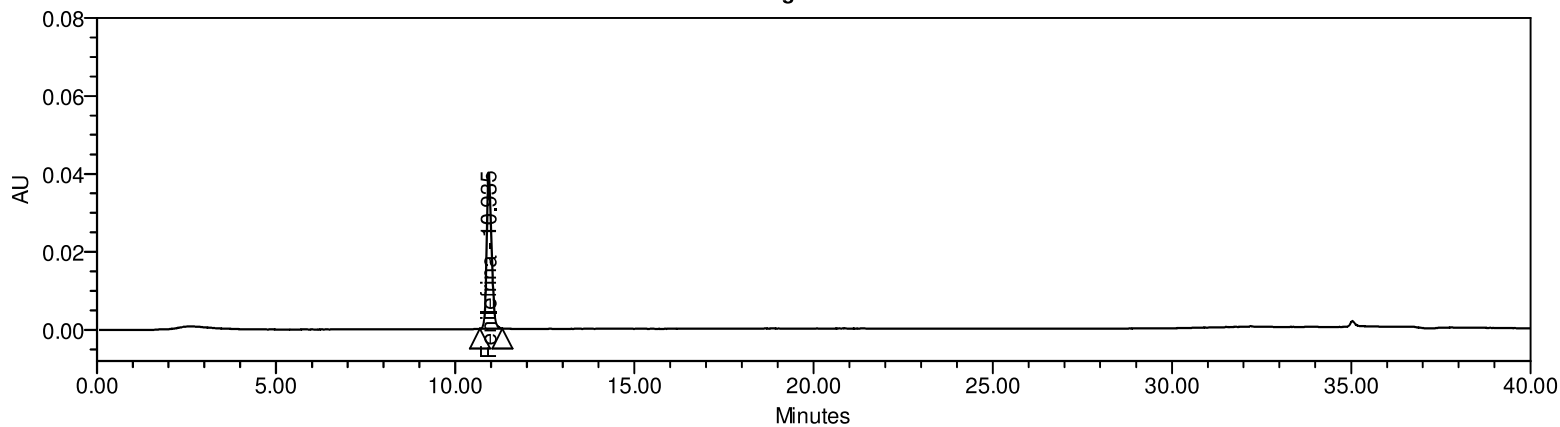
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:03 PM GMT+3; Result Id 69466

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:05 PM GMT+3; Result Id 69467

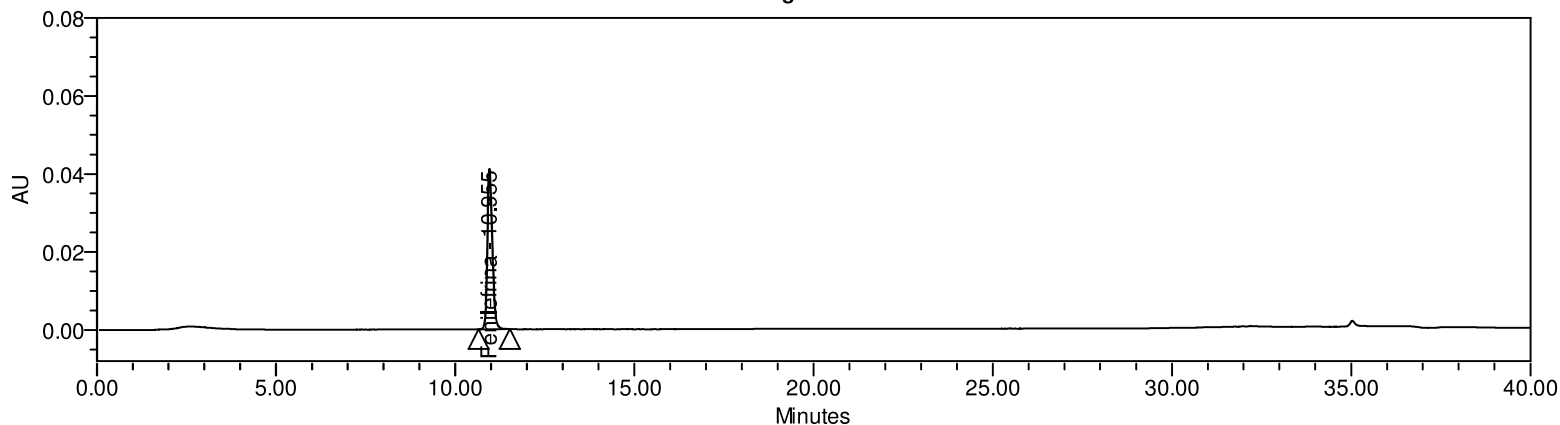
Cromatogramas



Vial 1:D,3; SampleName Precisao dia 2 AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:09:03 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:17 PM GMT+3; Result Id 69468

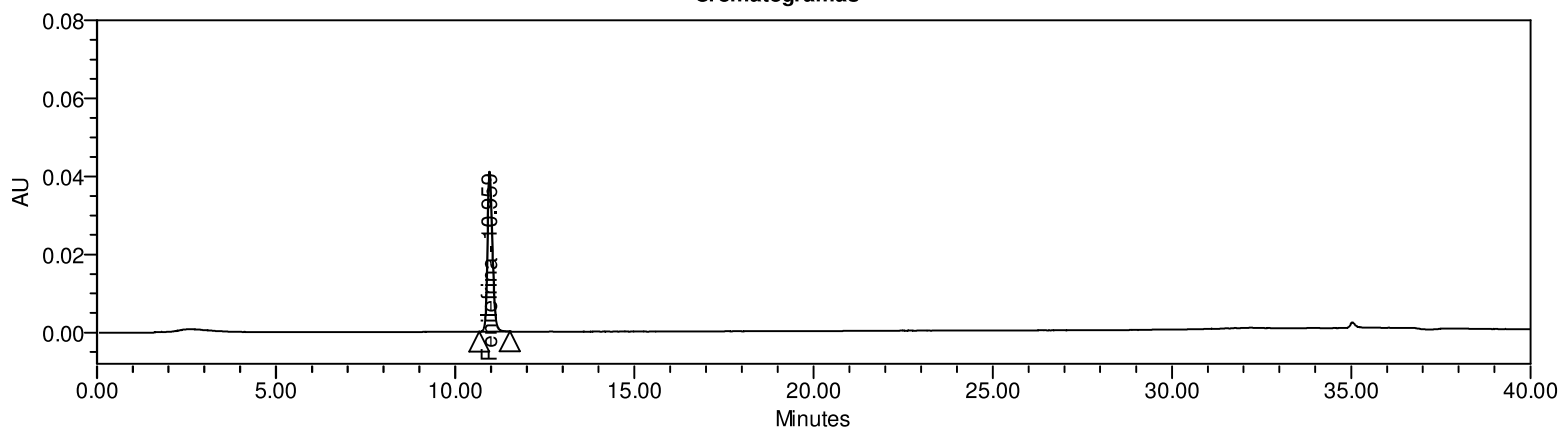
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



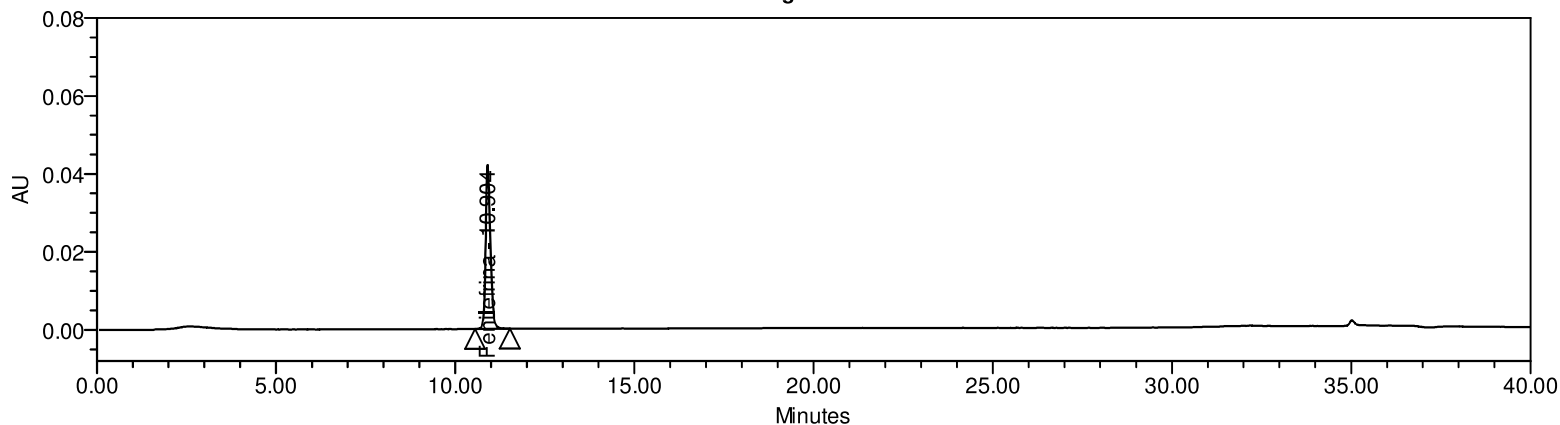
Vial 1:D,4; SampleName Precisao dia 2 AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:49:44 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:20 PM GMT+3; Result Id 69469

Cromatogramas



Vial 1:D,5; SampleName Precisao dia 2 AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:30:26 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:24 PM GMT+3; Result Id 69470

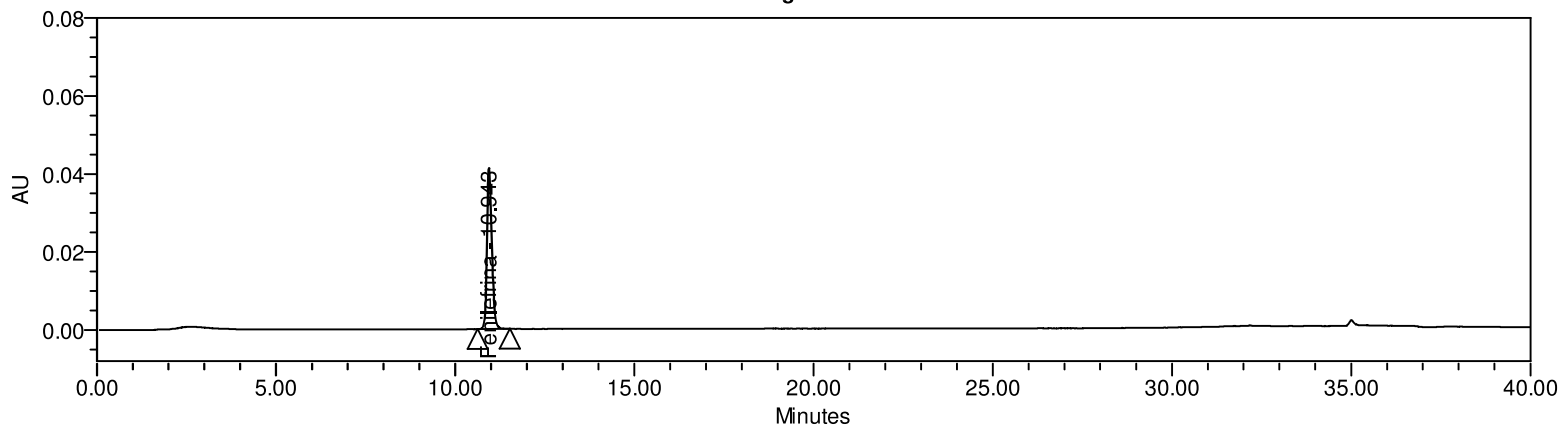
Cromatogramas



Vial 1:D,6; SampleName Precisao dia 2 AM04; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:11:09 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:27 PM GMT+3; Result Id 69471

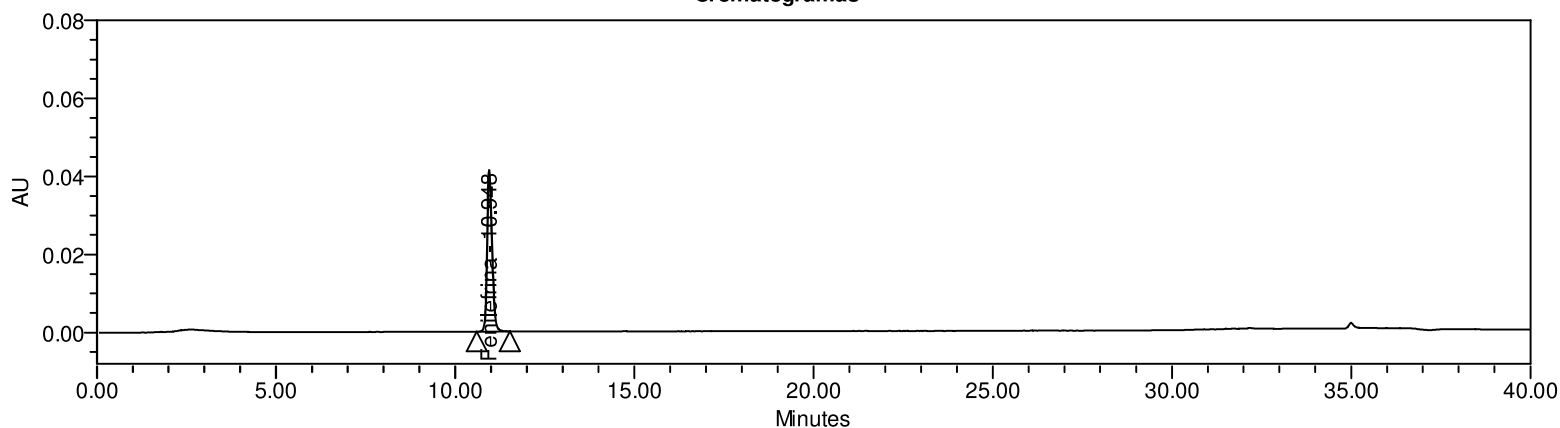
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



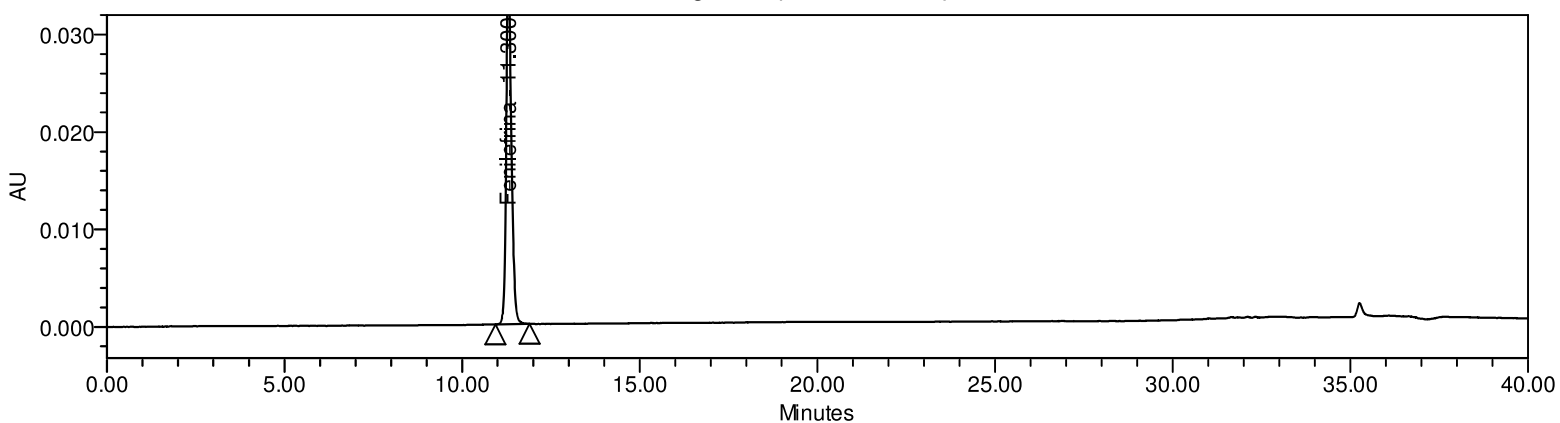
Vial 1:D,7; SampleName Precisao dia 2 AM05; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:51:50 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:30 PM GMT+3; Result Id 69472

Cromatogramas



Vial 1:D,8; SampleName Precisao dia 2 AM06; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 6:32:31 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:33 PM GMT+3; Result Id 69473

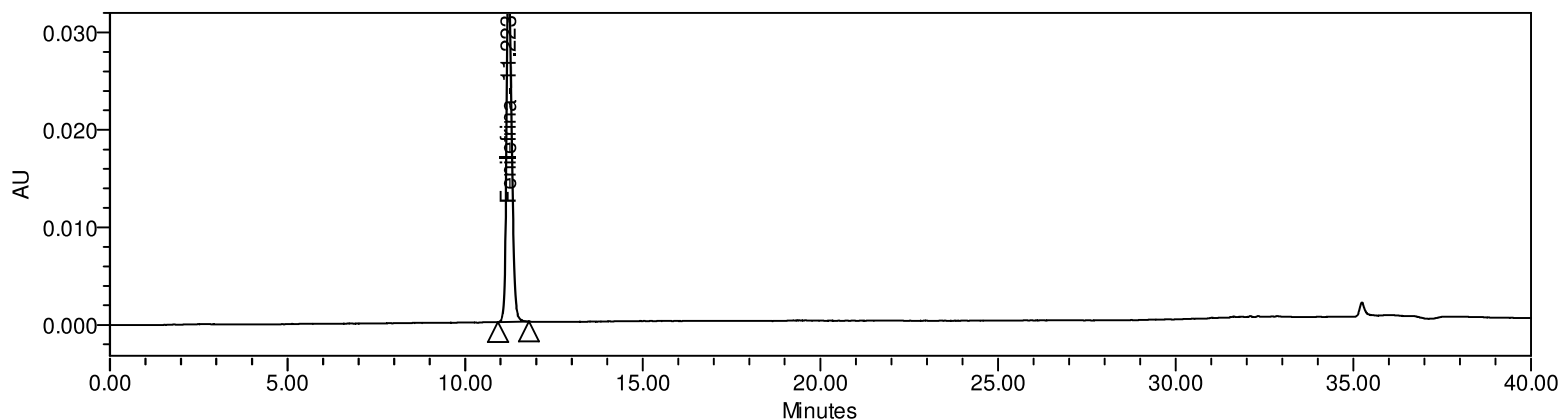
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:26:55 PM GMT+3; Result Id 69461

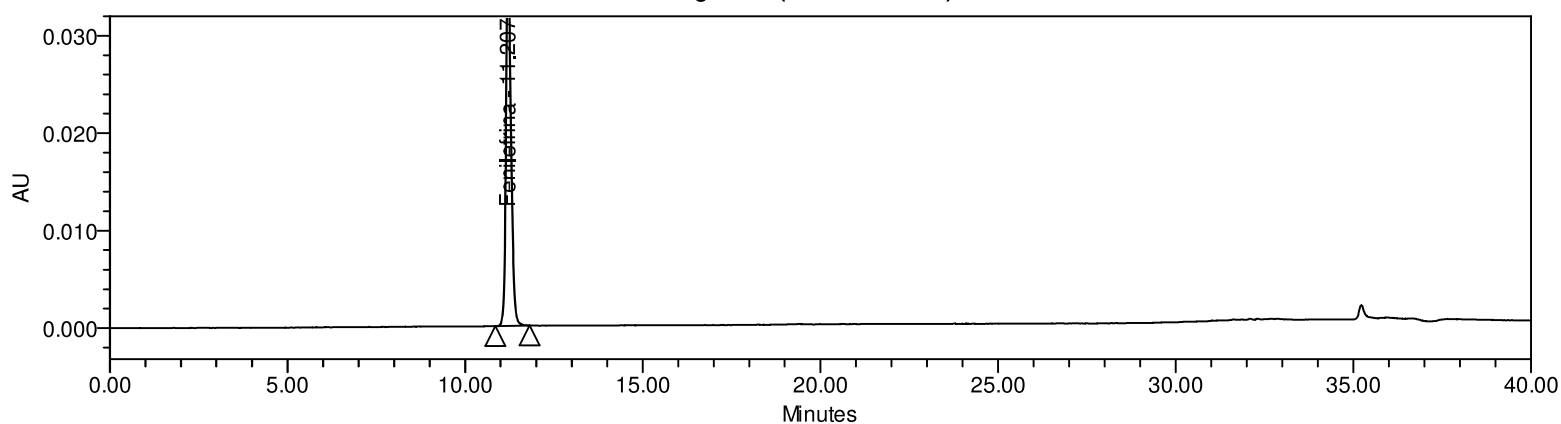
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



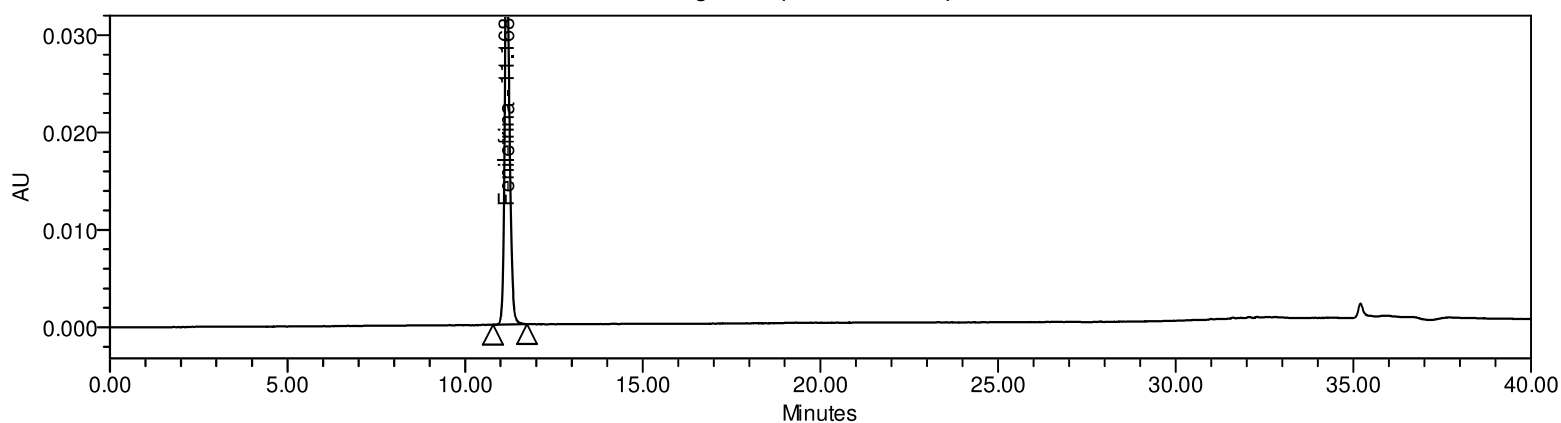
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:26:58 PM GMT+3; Result Id 69464

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:00 PM GMT+3; Result Id 69465

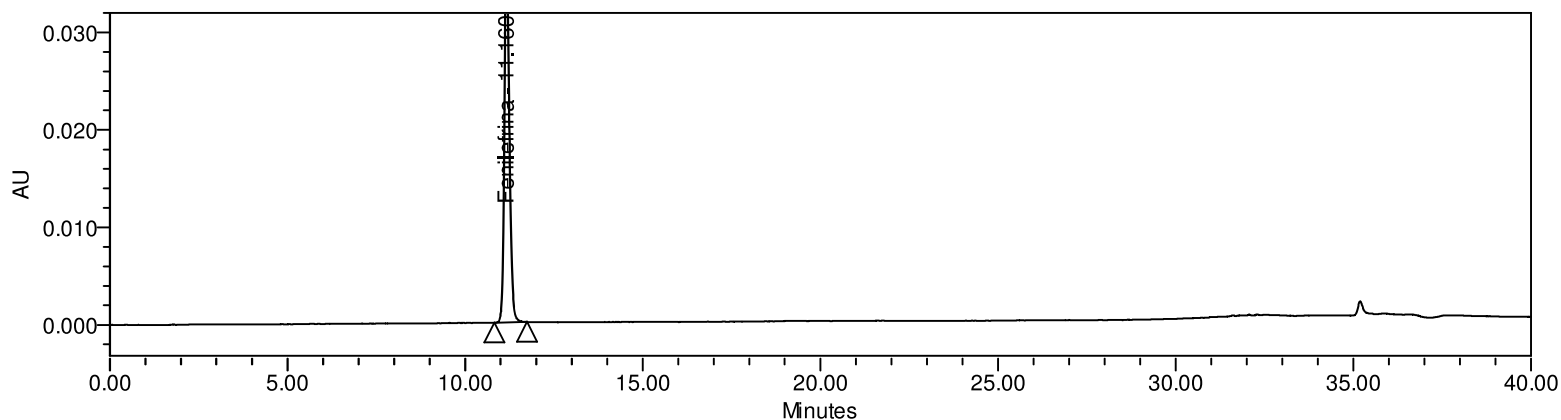
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:03 PM GMT+3; Result Id 69466

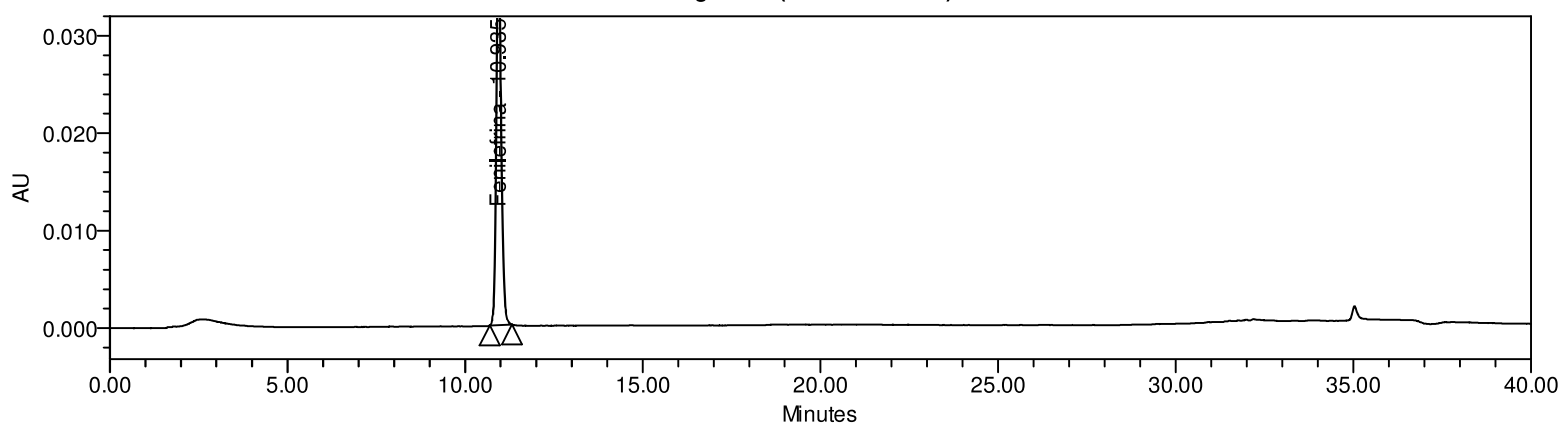
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



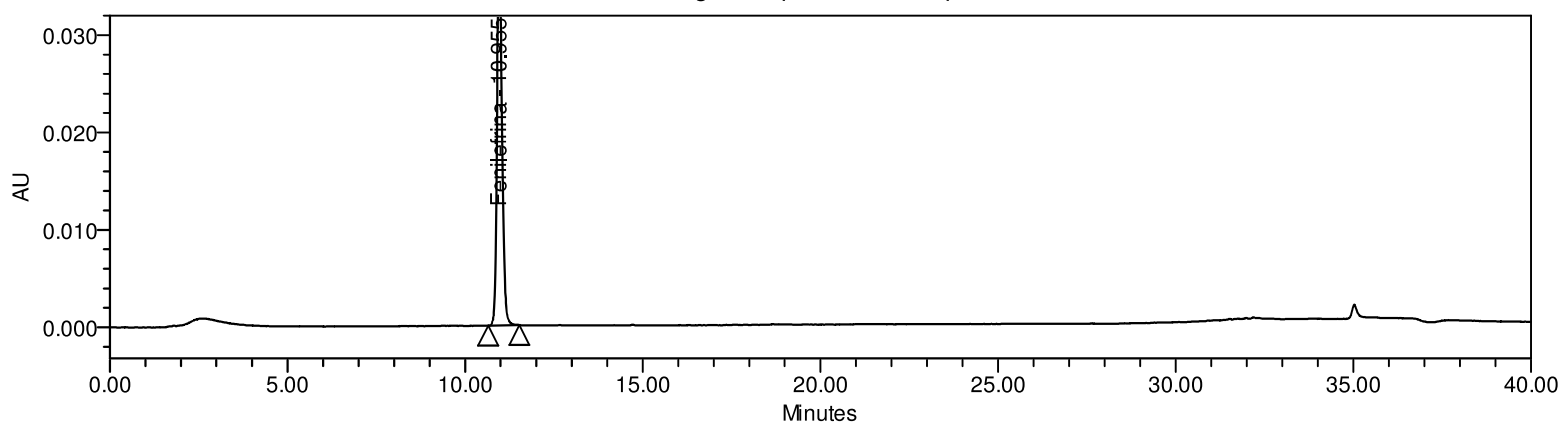
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:05 PM GMT+3; Result Id 69467

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,3; SampleName Precisao dia 2 AM01; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:09:03 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:17 PM GMT+3; Result Id 69468

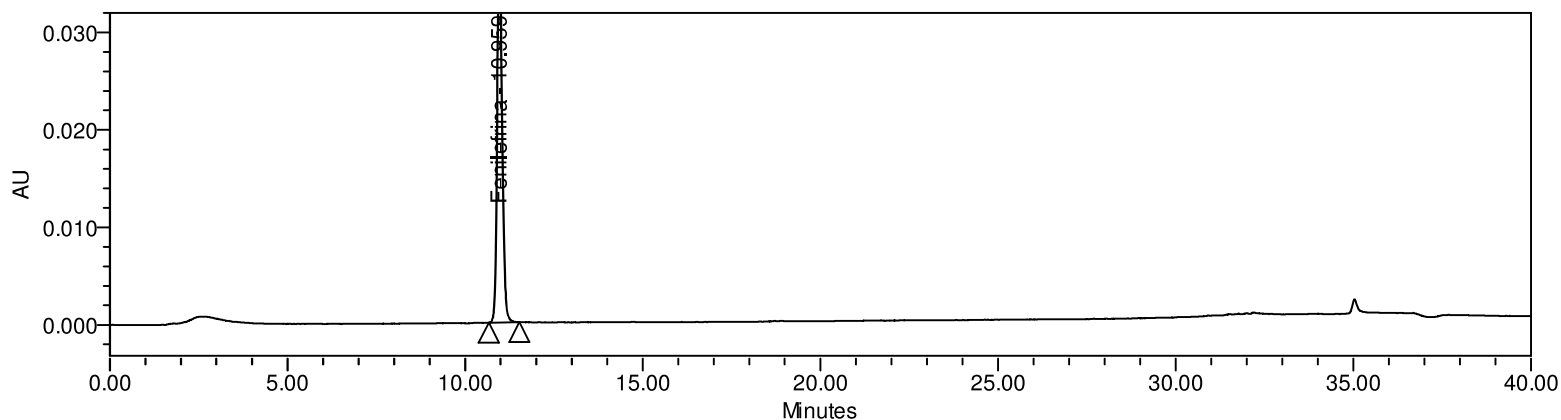
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,4; SampleName Precisao dia 2 AM02; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 3:49:44 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:20 PM GMT+3; Result Id 69469

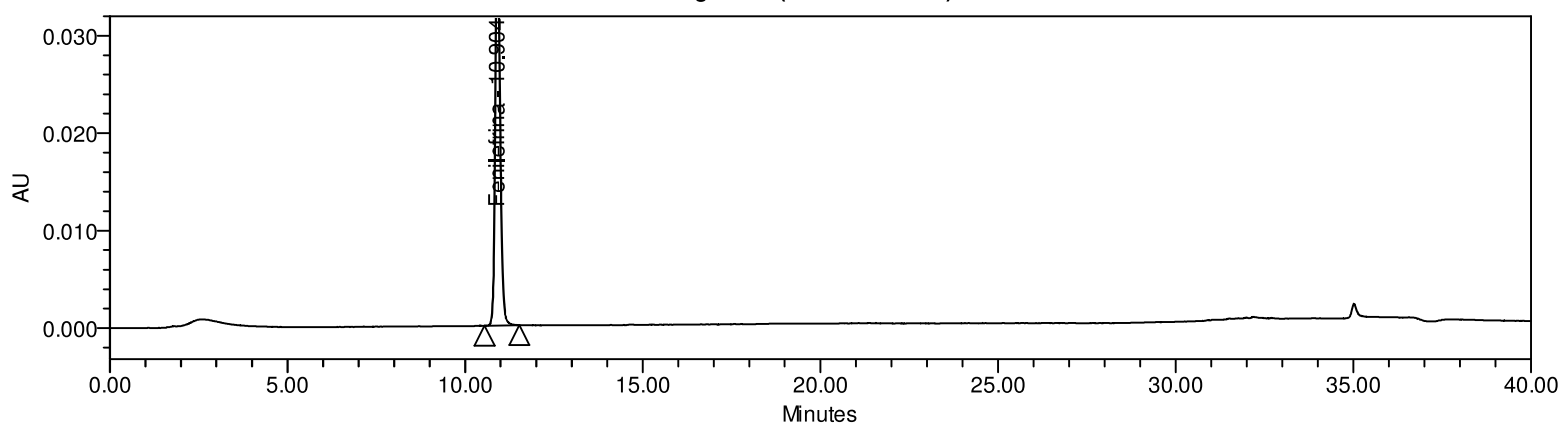
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



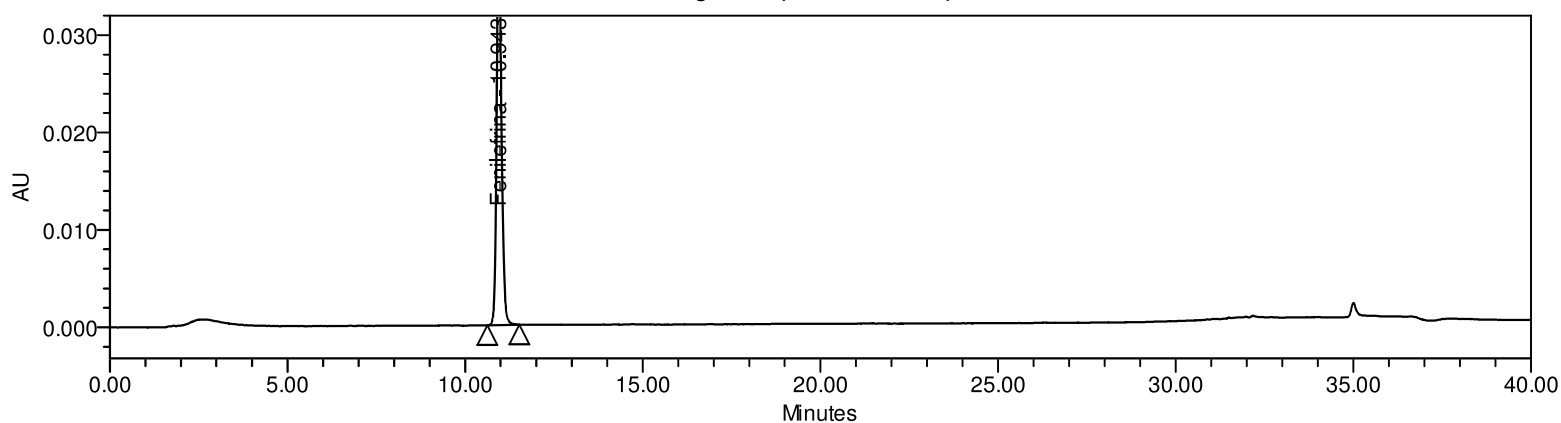
Vial 1:D,5; SampleName Precisao dia 2 AM03; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 4:30:26 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:24 PM GMT+3; Result Id 69470

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,6; SampleName Precisao dia 2 AM04; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:11:09 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:27 PM GMT+3; Result Id 69471

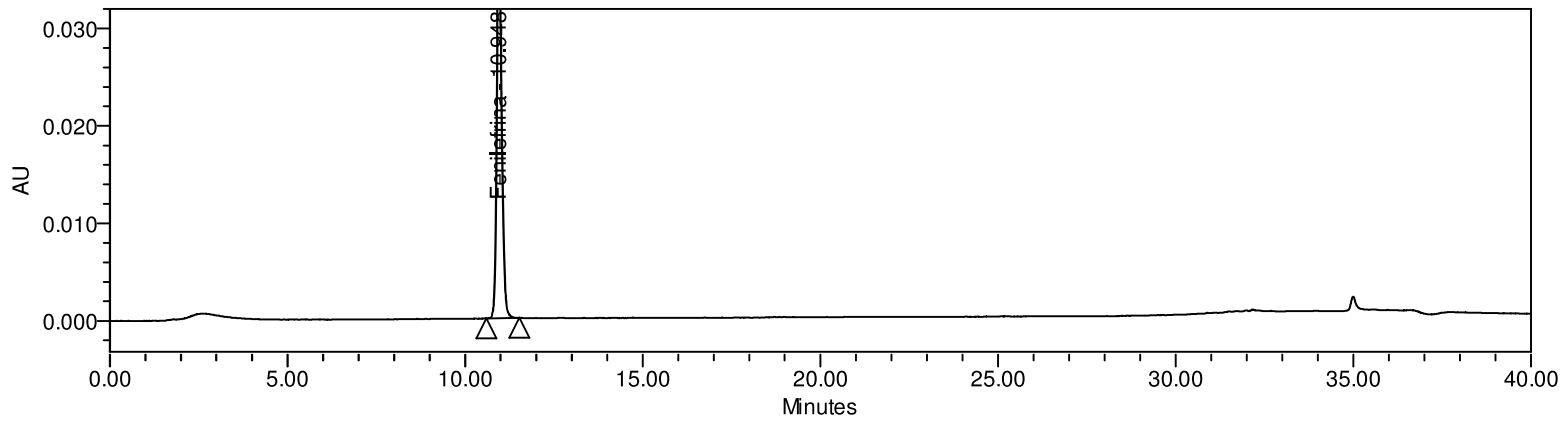
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,7; SampleName Precisao dia 2 AM05; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 5:51:50 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:30 PM GMT+3; Result Id 69472

# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,8; SampleName Precisao dia 2 AM06; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 6:32:31 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:27:33 PM GMT+3; Result Id 69473

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.3	372784	0.2000	9.7	1.3	28485	69461
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376138	0.2000	9.6	1.3	29673	69464
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	374437	0.2000	9.6	1.3	30156	69465
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376872	0.2000	9.5	1.3	30744	69466
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	378516	0.2000	9.5	1.3	30708	69467
Mean						11.2	375749	0.2000	9.6	1.3	29953	
Std. Dev.							2212.5	0.0				
% RSD							0.6	0.0				

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM01

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,3	1	2.0	Precisao dia 2 AM01	Fenilefrina	10.9	381439	0.2000	100.0000	101.51	9.3	1.2	30618	69468

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM02

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,4	1	2.0	Precisao dia 2 AM02	Fenilefrina	11.0	395784	0.2100	100.0000	100.32	9.3	1.2	30439	69469

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM03

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,5	1	2.0	Precisao dia 2 AM03	Fenilefrina	11.0	394462	0.2100	100.0000	99.98	9.3	1.2	30435	69470

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM04

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,6	1	2.0	Precisao dia 2 AM04	Fenilefrina	10.9	395856	0.2100	100.0000	100.33	9.3	1.2	31681	69471

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM05

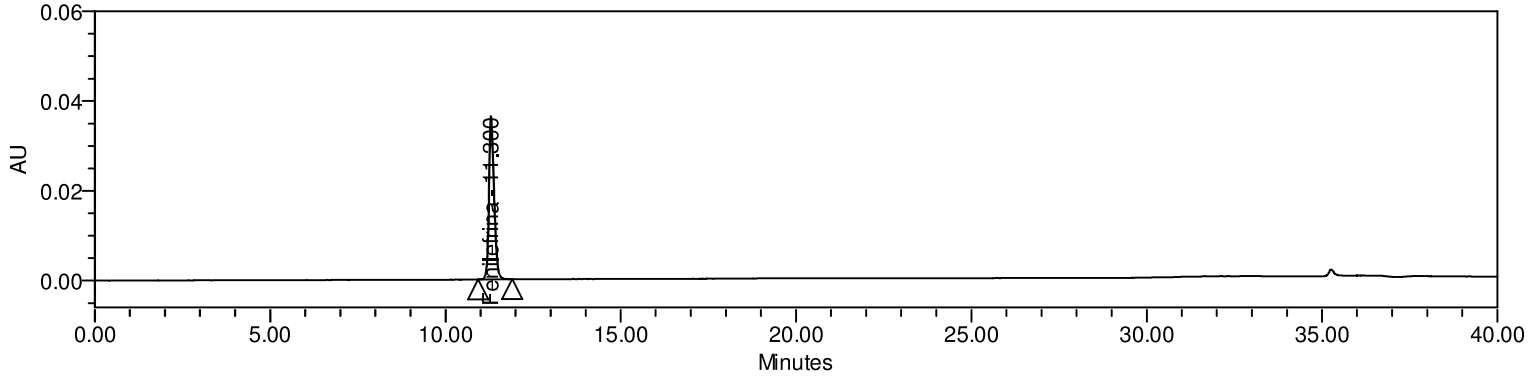
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,7	1	2.0	Precisao dia 2 AM05	Fenilefrina	10.9	392826	0.2100	100.0000	99.57	9.3	1.2	30998	69472

## Nome da Amostra: Precisao dia 2 AM06

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,8	1	2.0	Precisao dia 2 AM06	Fenilefrina	10.9	396127	0.2100	100.0000	100.40	9.3	1.2	30862	69473

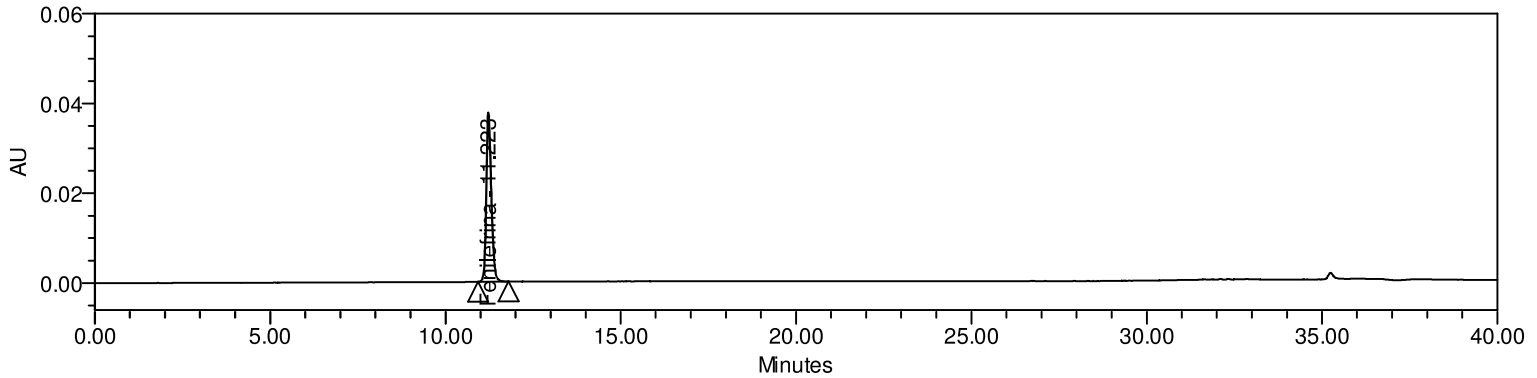
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



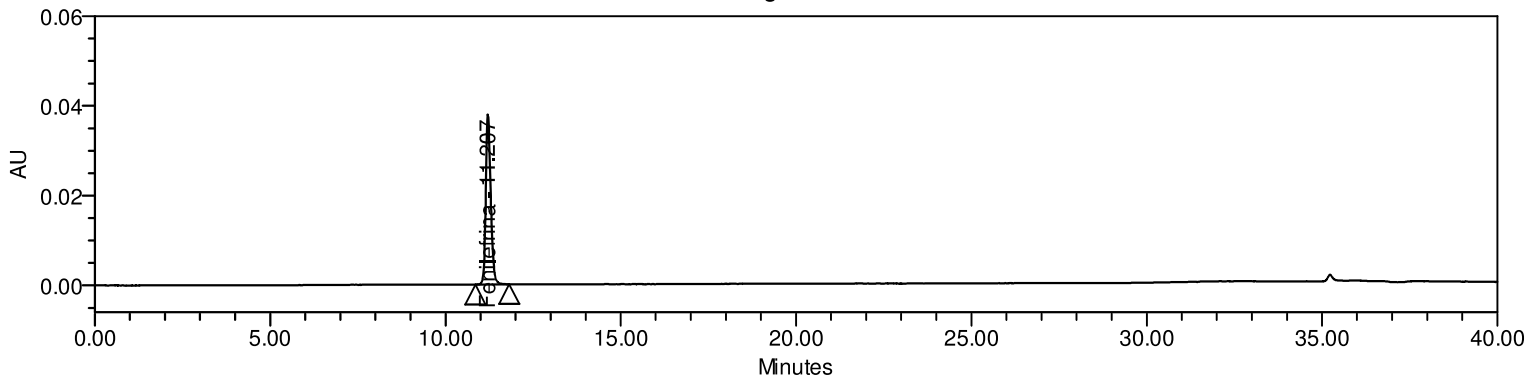
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:53 PM GMT+3; Result Id 69385; Calibration Id 69386

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:55 PM GMT+3; Result Id 69388; Calibration Id 69386

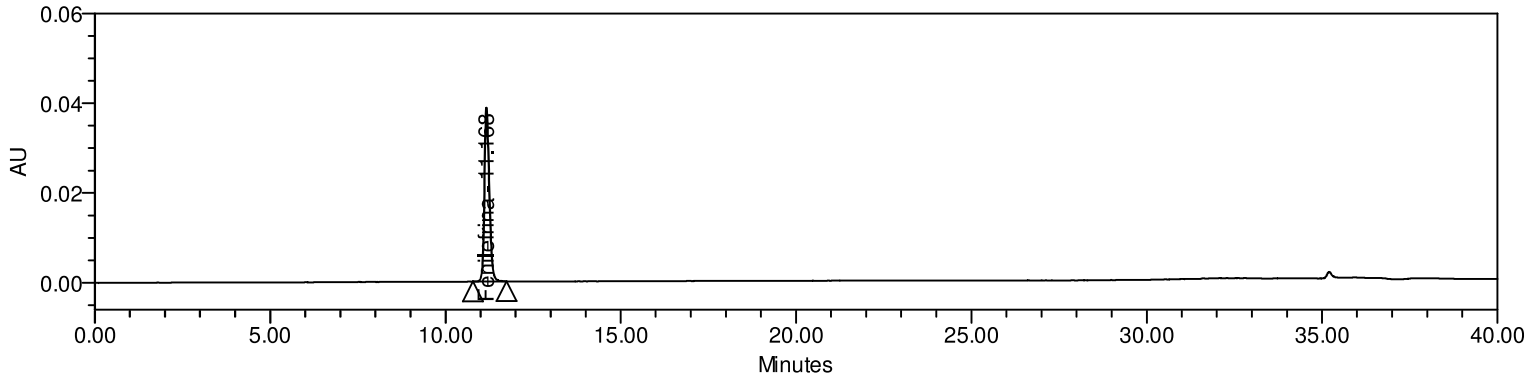
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:57 PM GMT+3; Result Id 69389; Calibration Id 69386

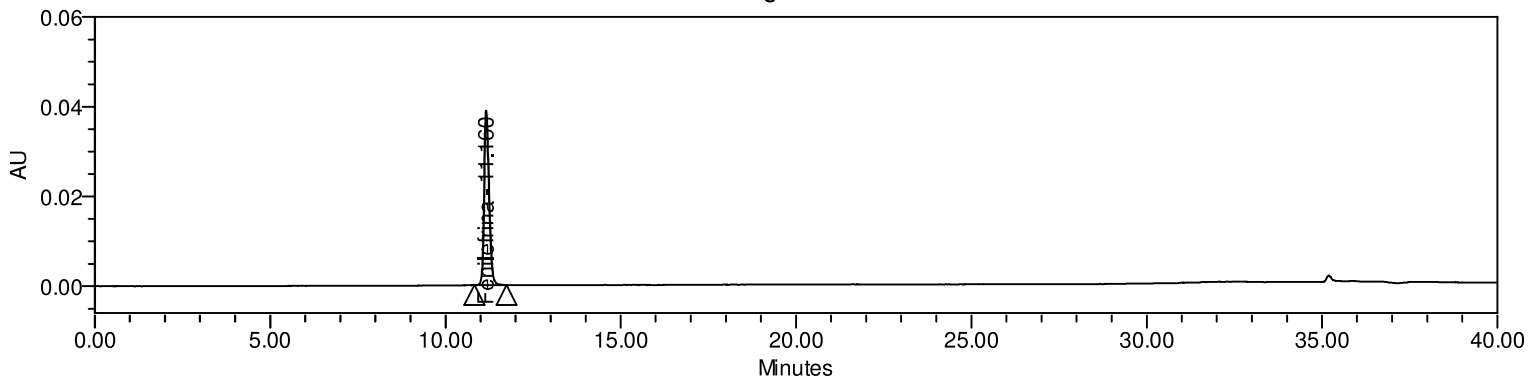
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



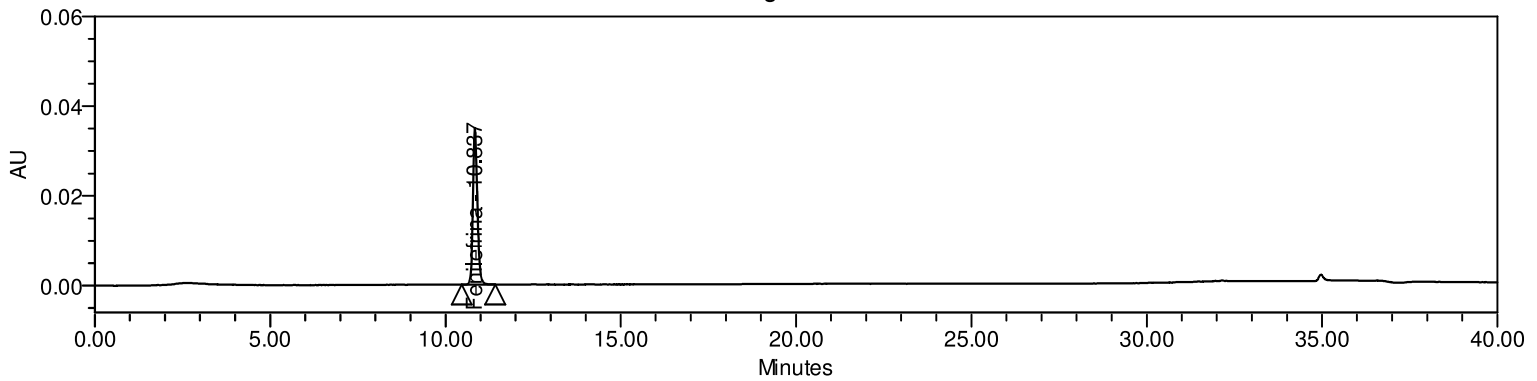
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:58 PM GMT+3; Result Id 69390; Calibration Id 69386

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:59 PM GMT+3; Result Id 69391; Calibration Id 69386

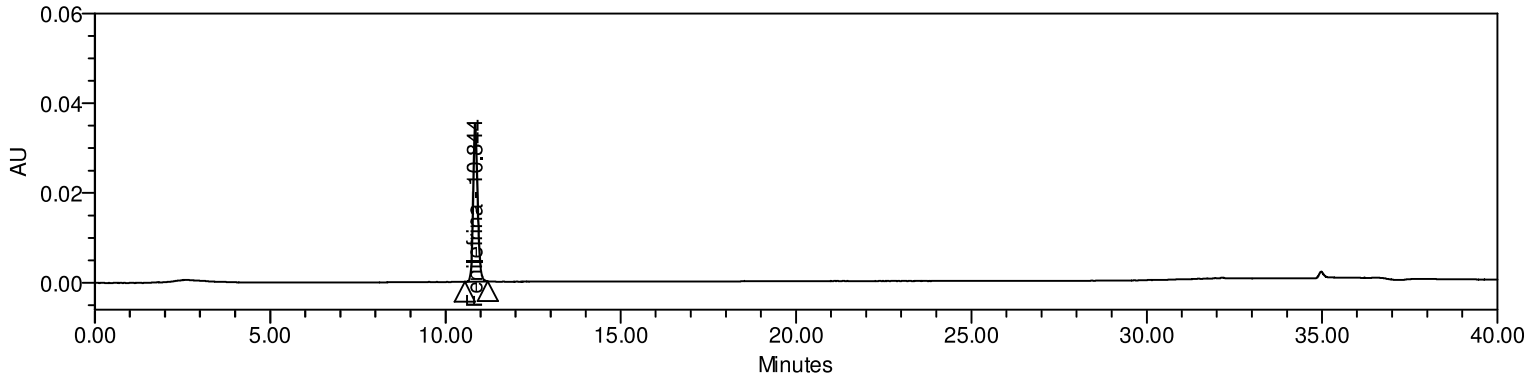
Cromatogramas



Vial 1:E,5; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 9:55:53 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:04 PM GMT+3; Result Id 69395; Calibration Id 69386

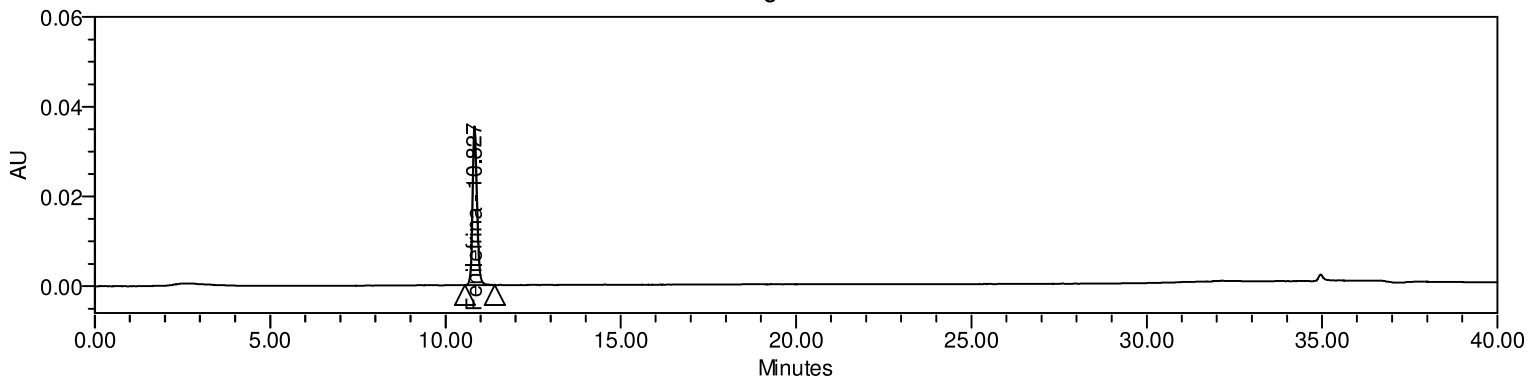
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



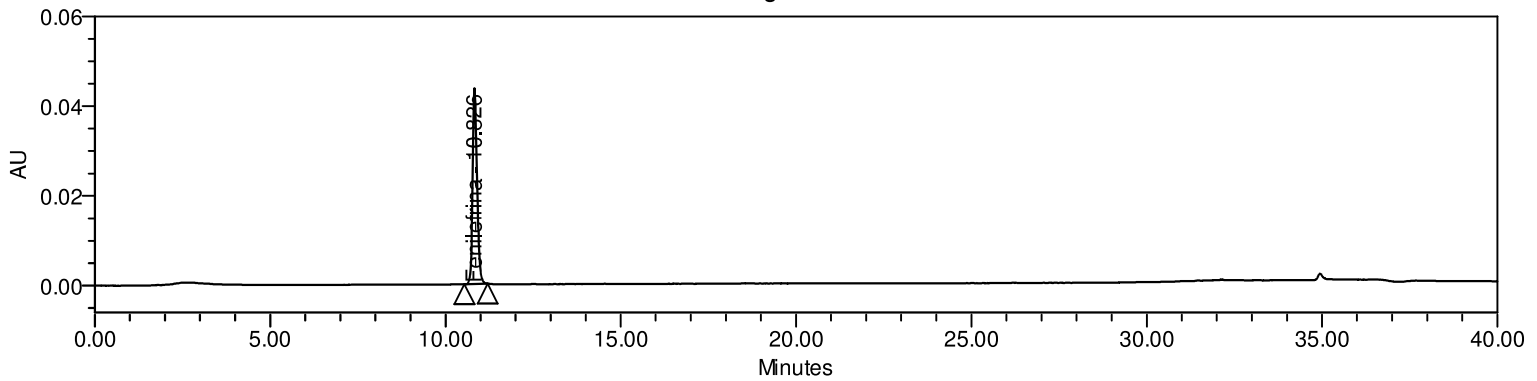
Vial 1:E,6; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 10:36:35 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:05 PM GMT+3; Result Id 69396; Calibration Id 69386

Cromatogramas



Vial 1:E,7; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:17:14 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:06 PM GMT+3; Result Id 69397; Calibration Id 69386

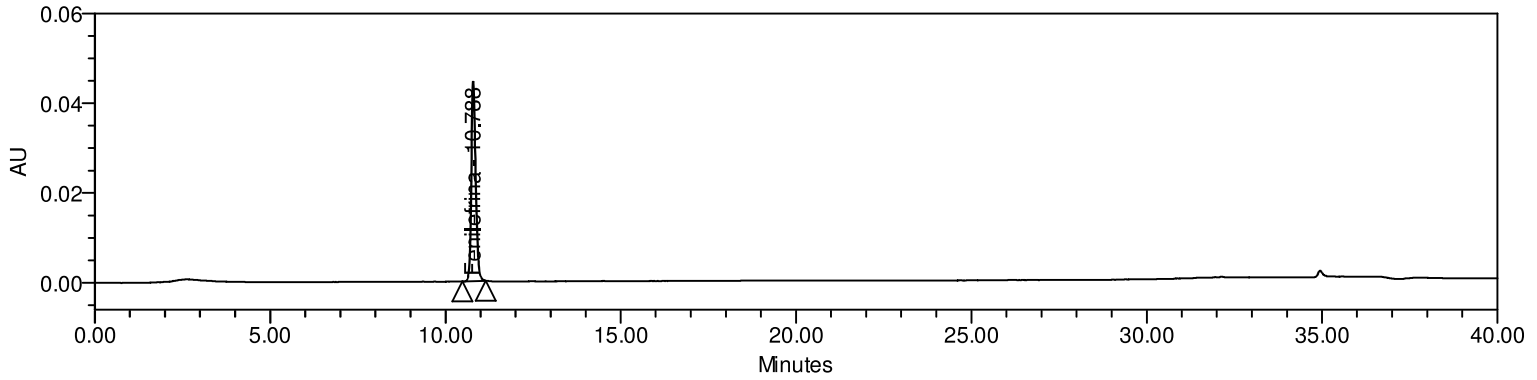
Cromatogramas



Vial 1:E,8; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:57:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:07 PM GMT+3; Result Id 69398; Calibration Id 69386

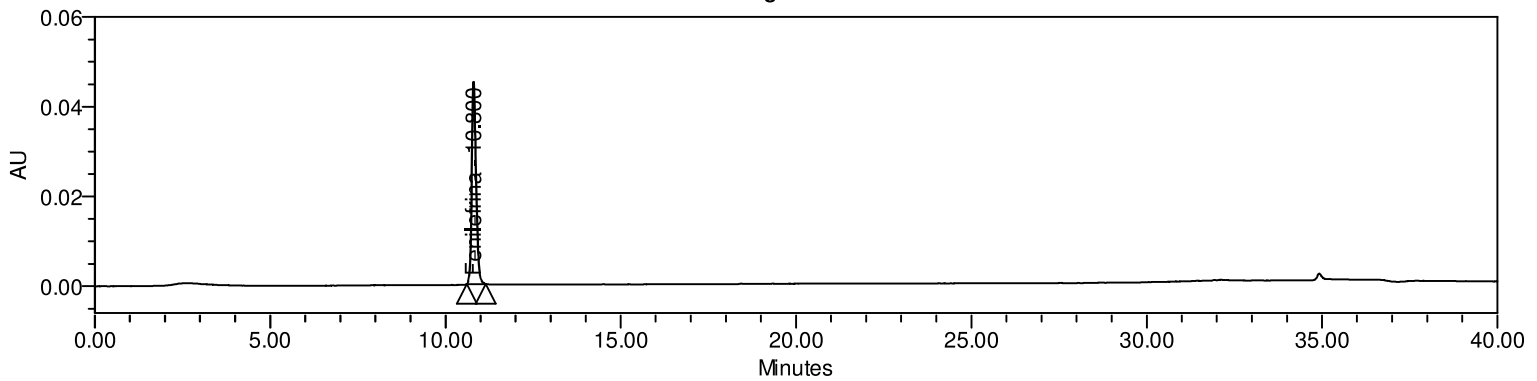
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



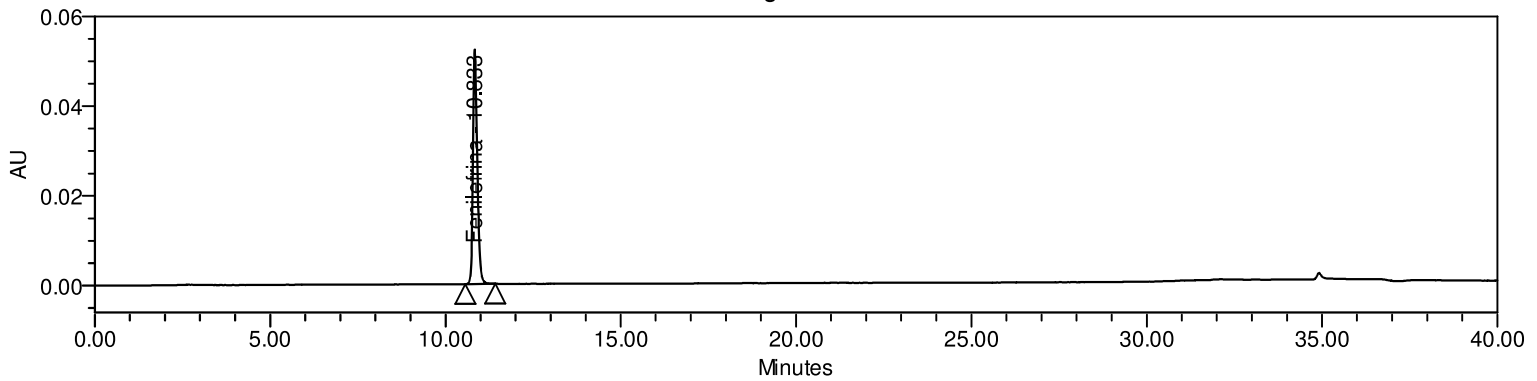
Vial 1:F,1; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 12:38:34 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:08 PM GMT+3; Result Id 69399; Calibration Id 69386

Cromatogramas



Vial 1:F,2; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 1:19:16 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:10 PM GMT+3; Result Id 69400; Calibration Id 69386

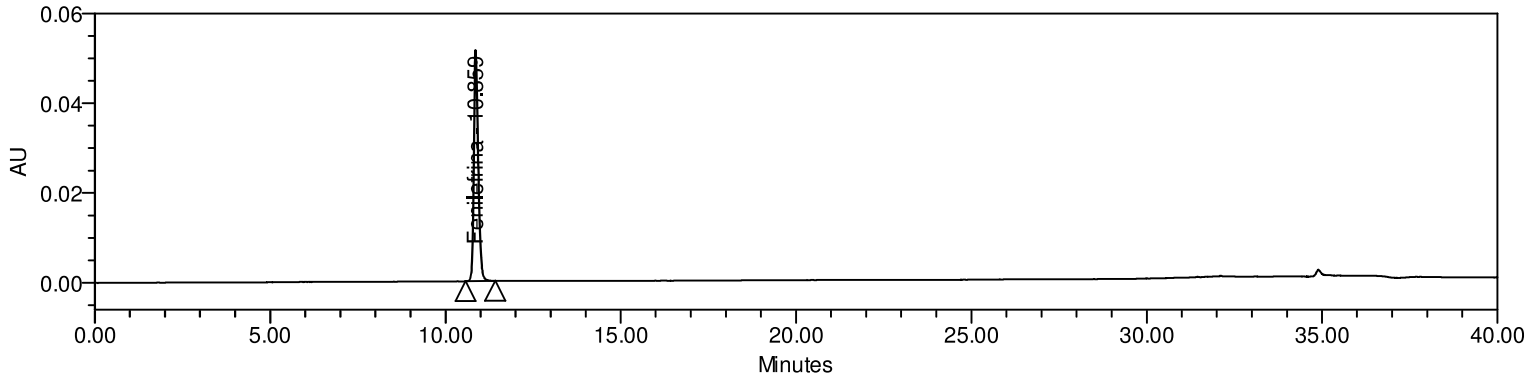
Cromatogramas



Vial 1:F,3; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 1:59:59 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:11 PM GMT+3; Result Id 69401; Calibration Id 69386

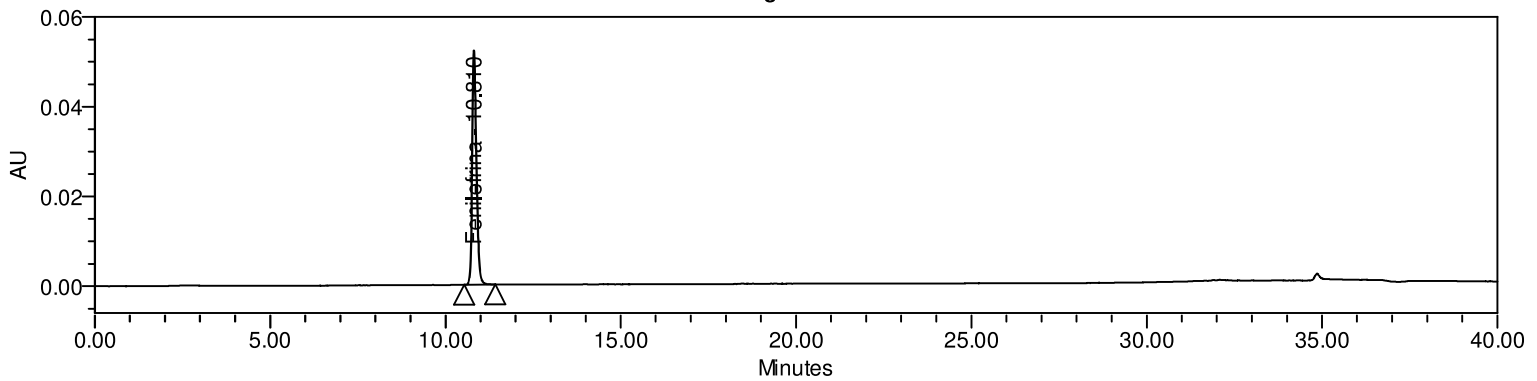
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



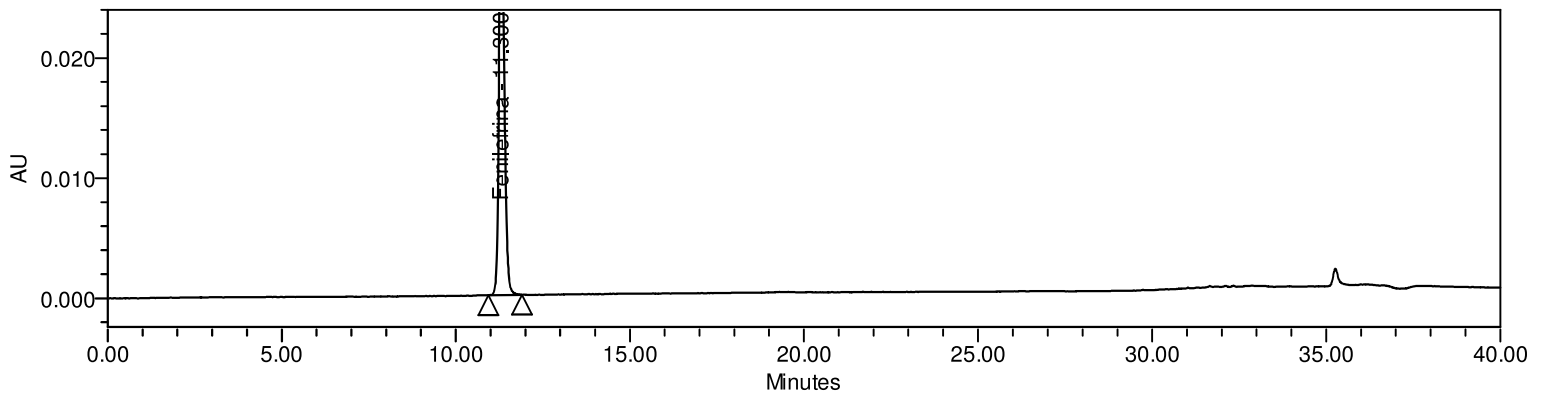
Vial 1:F,4; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 2:40:41 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:13 PM GMT+3; Result Id 69402; Calibration Id 69386

Cromatogramas



Vial 1:F,5; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 3:21:21 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:14 PM GMT+3; Result Id 69403; Calibration Id 69386

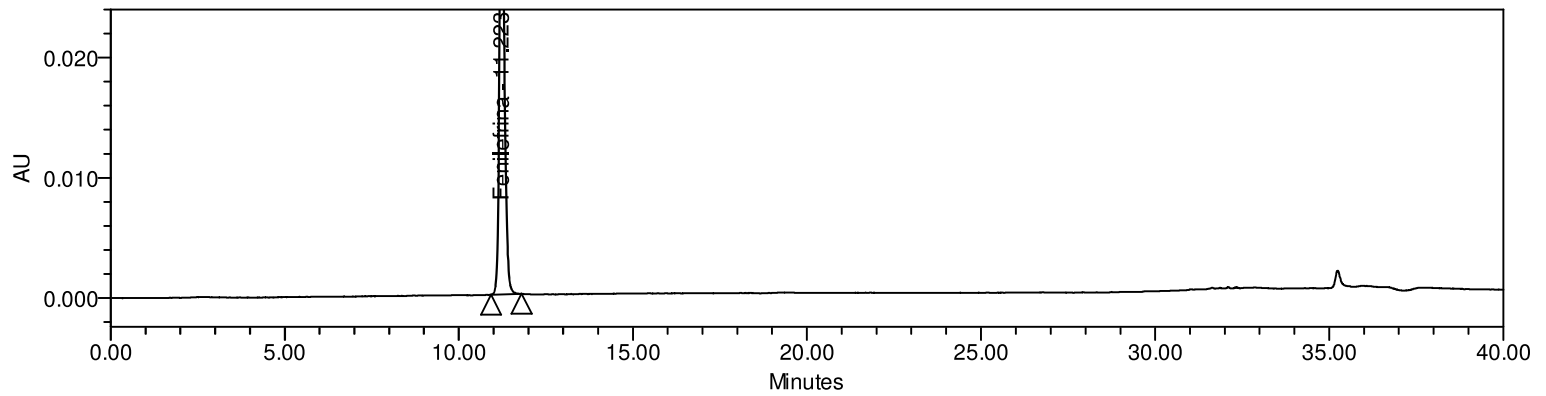
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 5:27:12 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:53 PM GMT+3; Result Id 69385; Calibration Id 69386

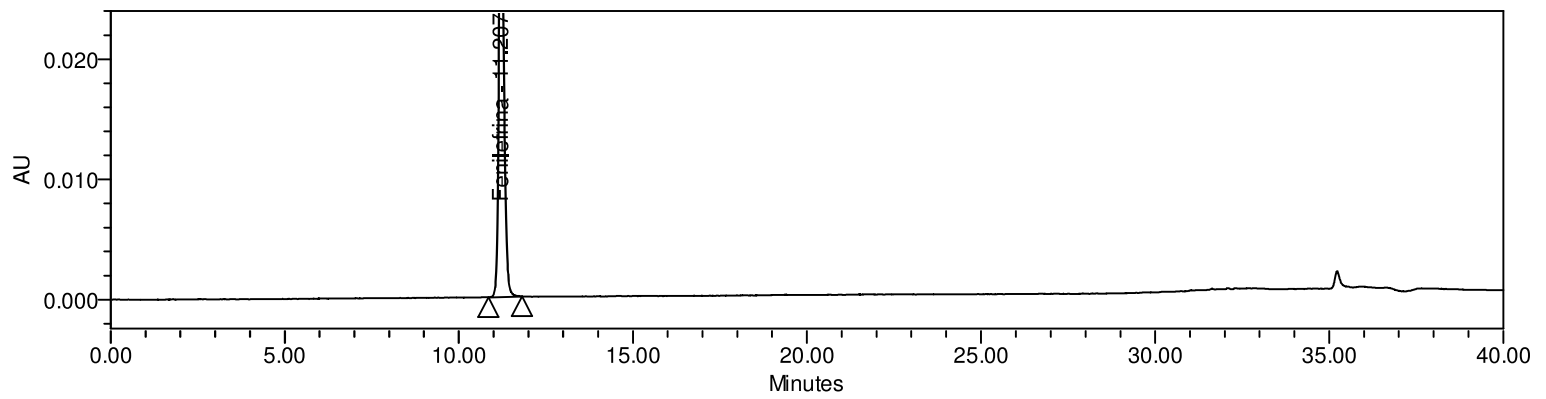
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



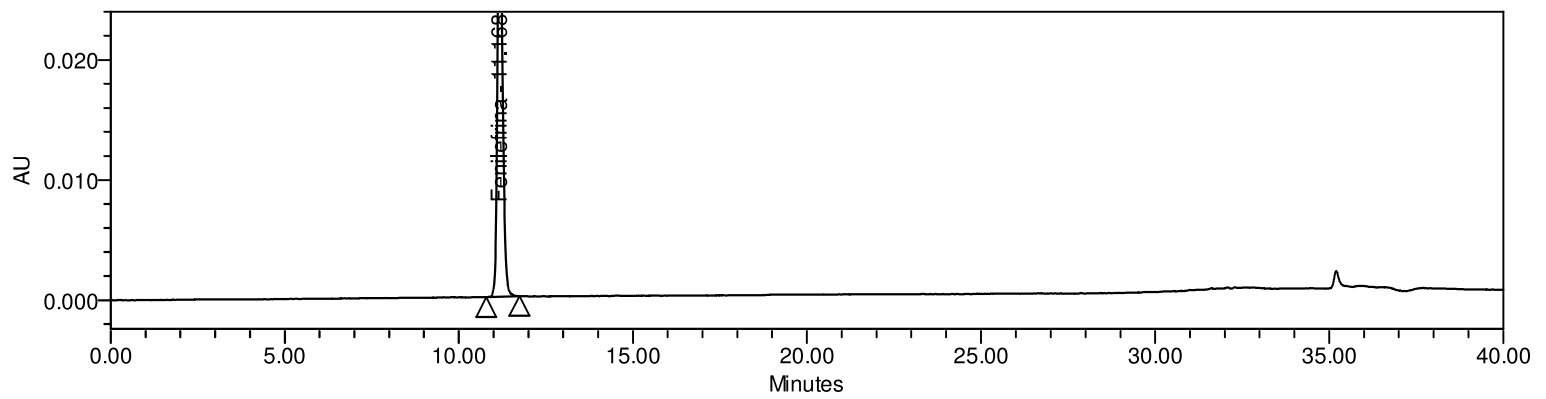
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:07:52 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:55 PM GMT+3; Result Id 69388; Calibration Id 69386

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 6:48:34 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:57 PM GMT+3; Result Id 69389; Calibration Id 69386

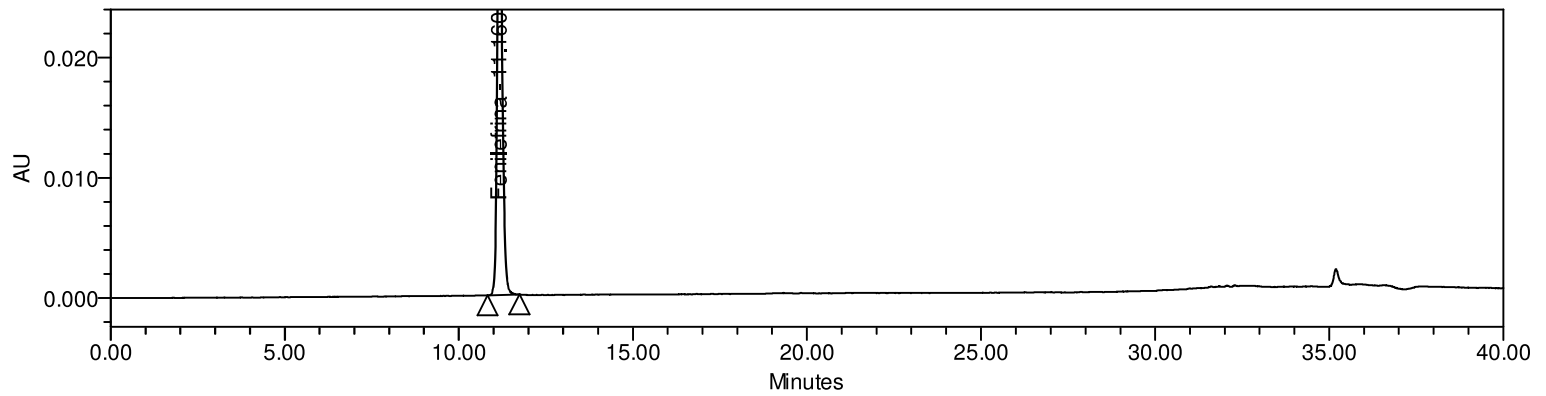
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 7:29:15 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:58 PM GMT+3; Result Id 69390; Calibration Id 69386

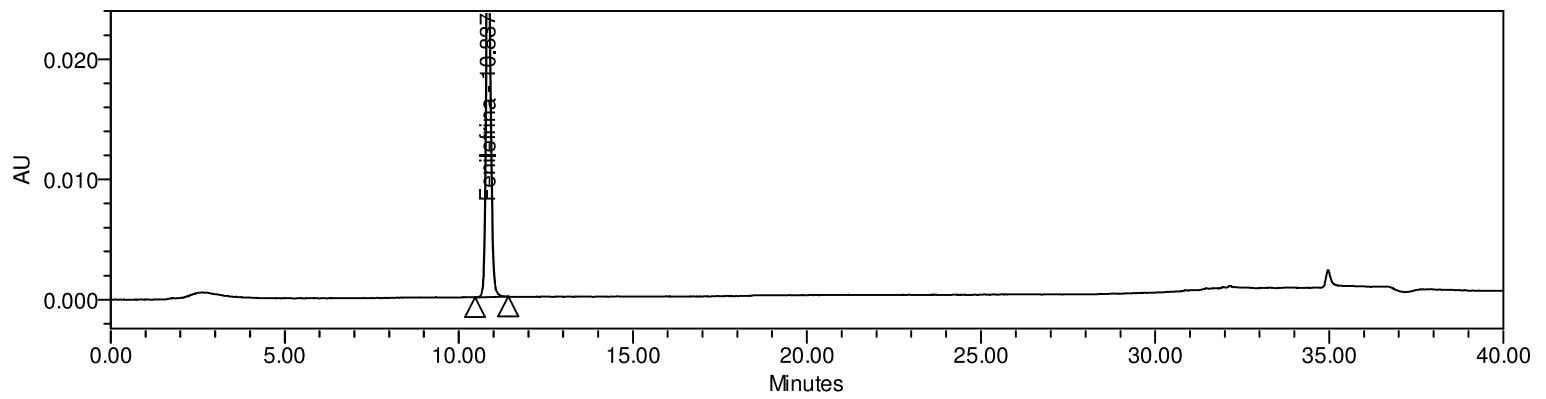
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



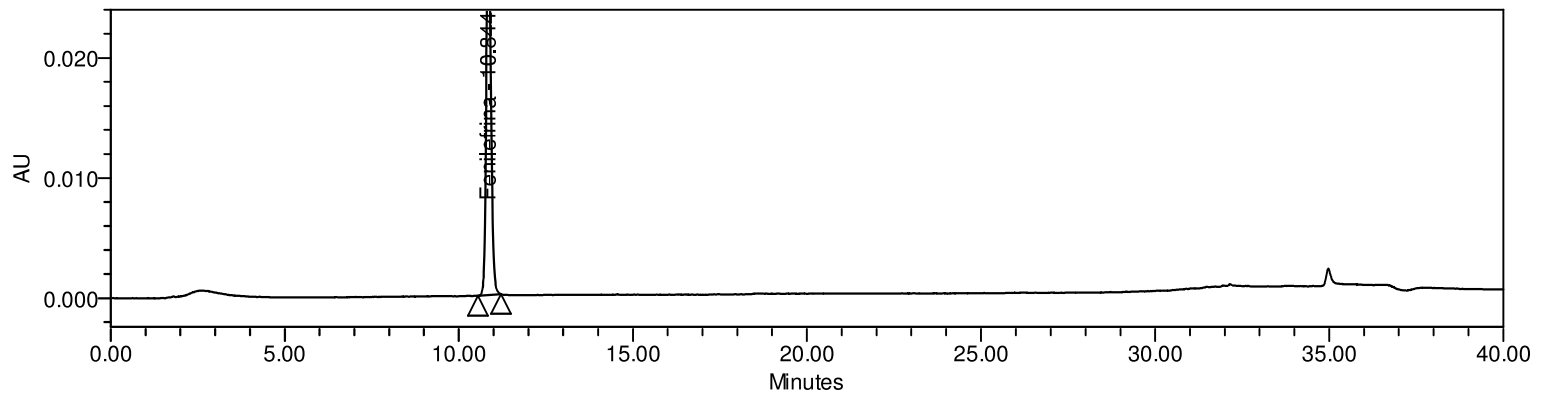
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/9/2021 8:09:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:10:59 PM GMT+3; Result Id 69391; Calibration Id 69386

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,5; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 9:55:53 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:04 PM GMT+3; Result Id 69395; Calibration Id 69386

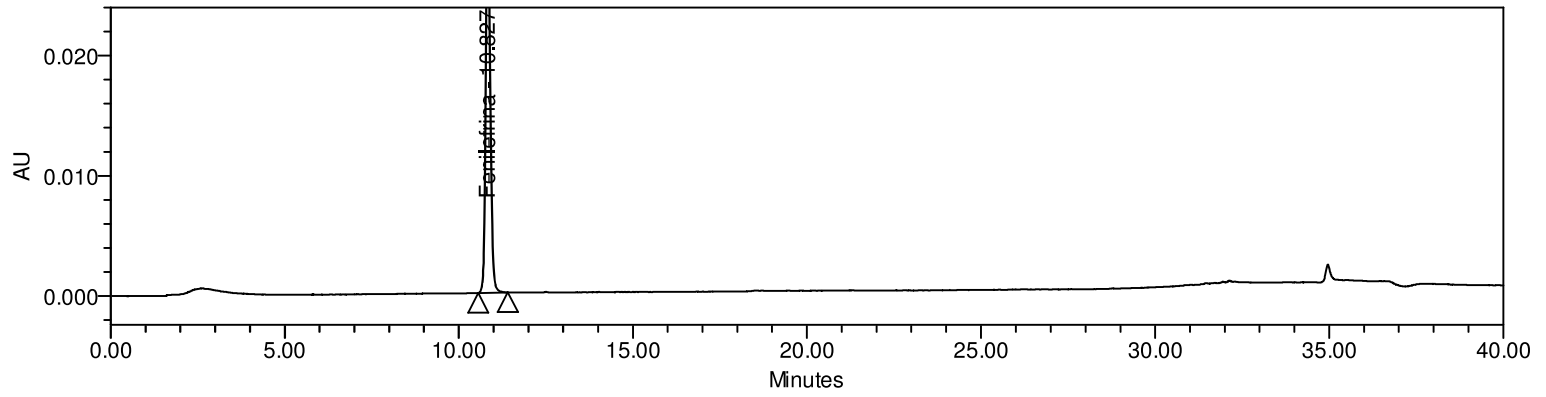
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,6; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 10:36:35 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:05 PM GMT+3; Result Id 69396; Calibration Id 69386

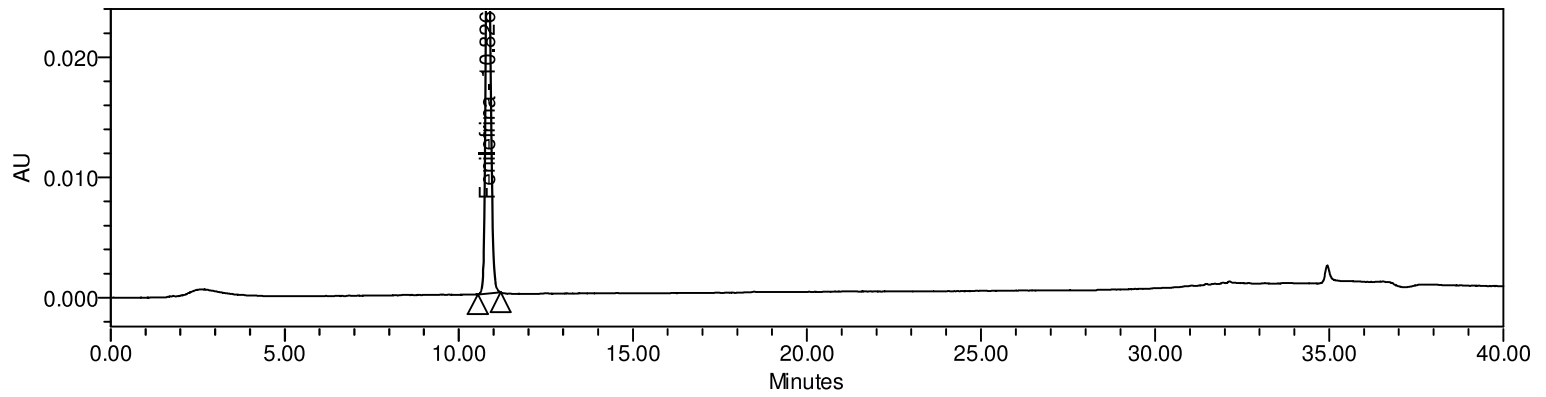
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



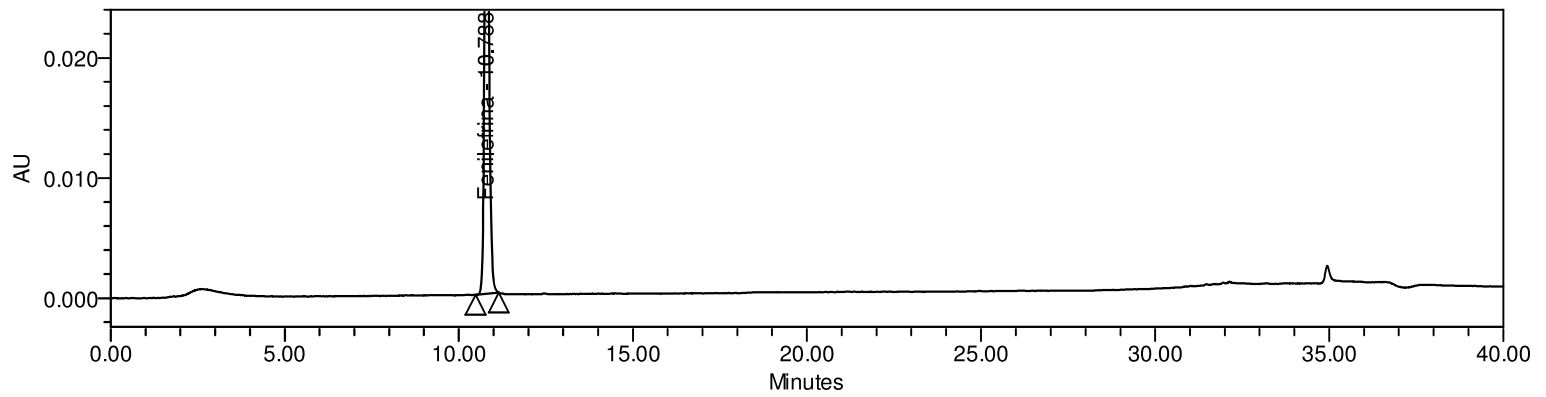
Vial 1:E,7; SampleName Exatidão 80%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:17:14 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:06 PM GMT+3; Result Id 69397; Calibration Id 69386

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:E,8; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/10/2021 11:57:56 PM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:07 PM GMT+3; Result Id 69398; Calibration Id 69386

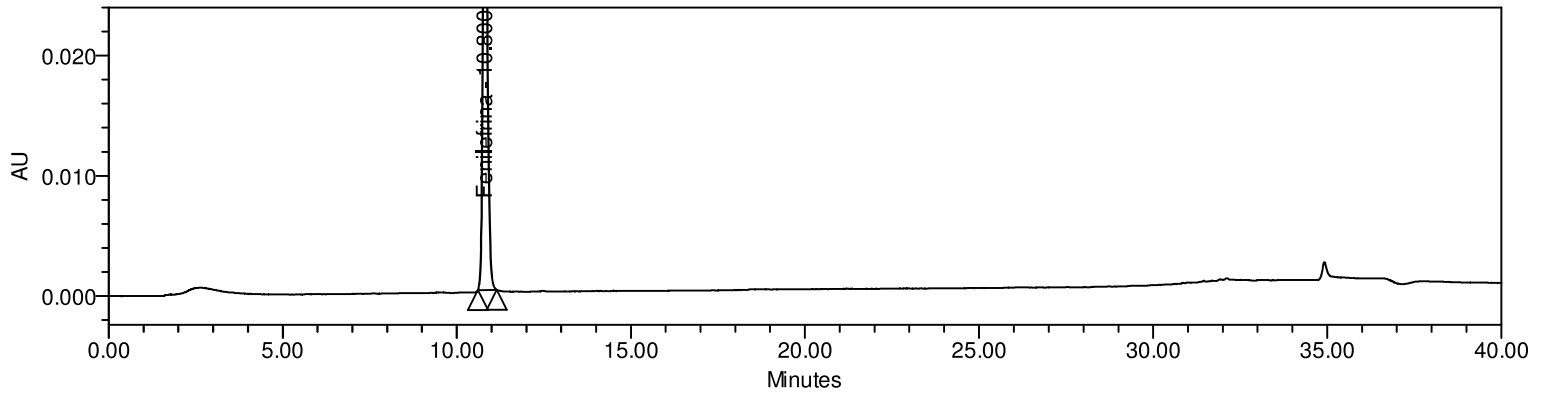
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:F,1; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 12:38:34 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:08 PM GMT+3; Result Id 69399; Calibration Id 69386

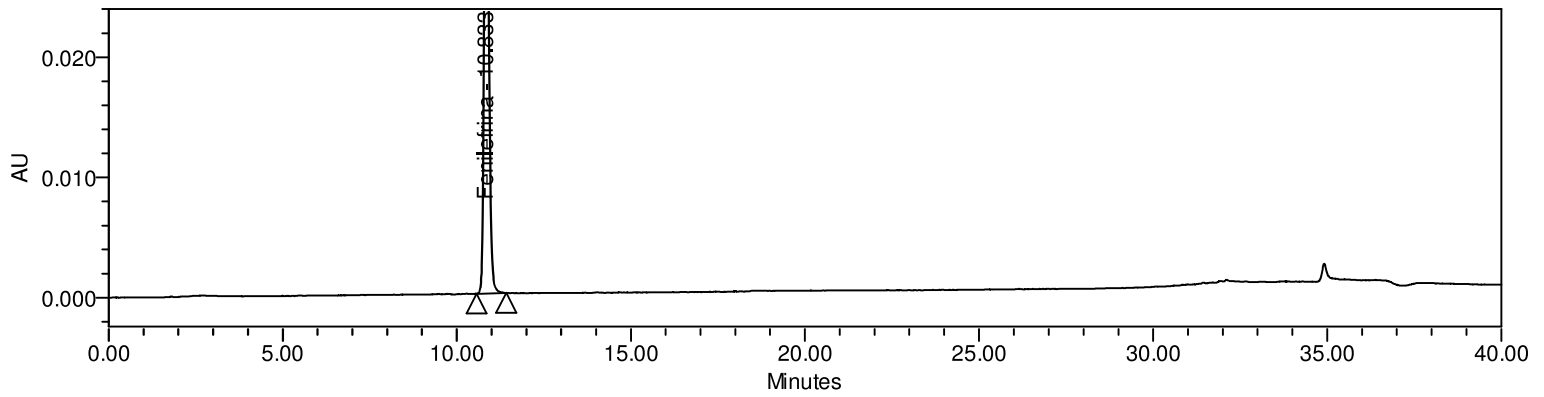
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



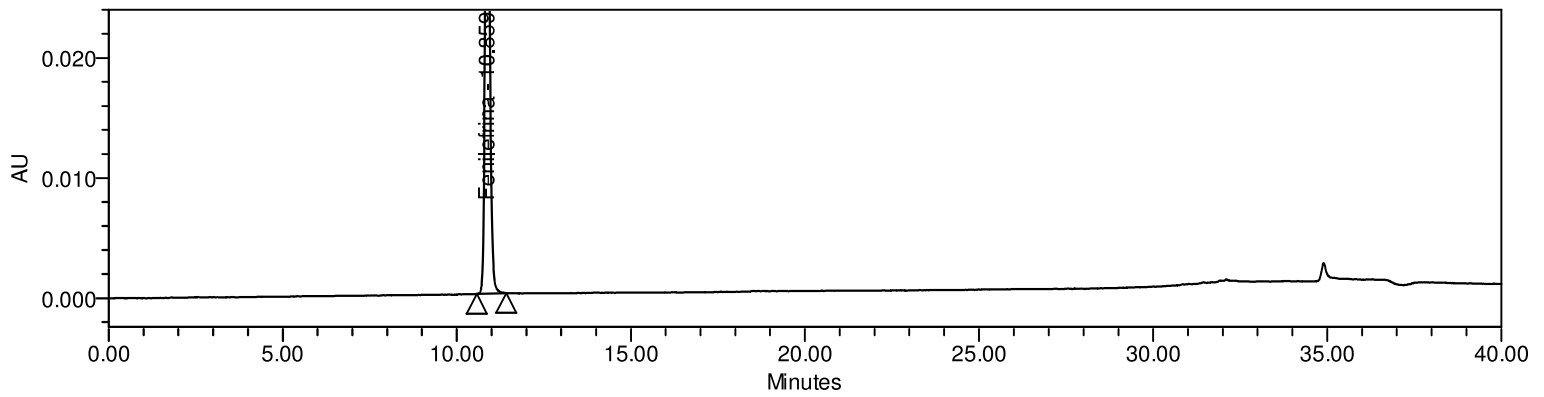
Vial 1:F,2; SampleName Exatidão 100%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 1:19:16 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:10 PM GMT+3; Result Id 69400; Calibration Id 69386

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:F,3; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 1:59:59 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:11 PM GMT+3; Result Id 69401; Calibration Id 69386

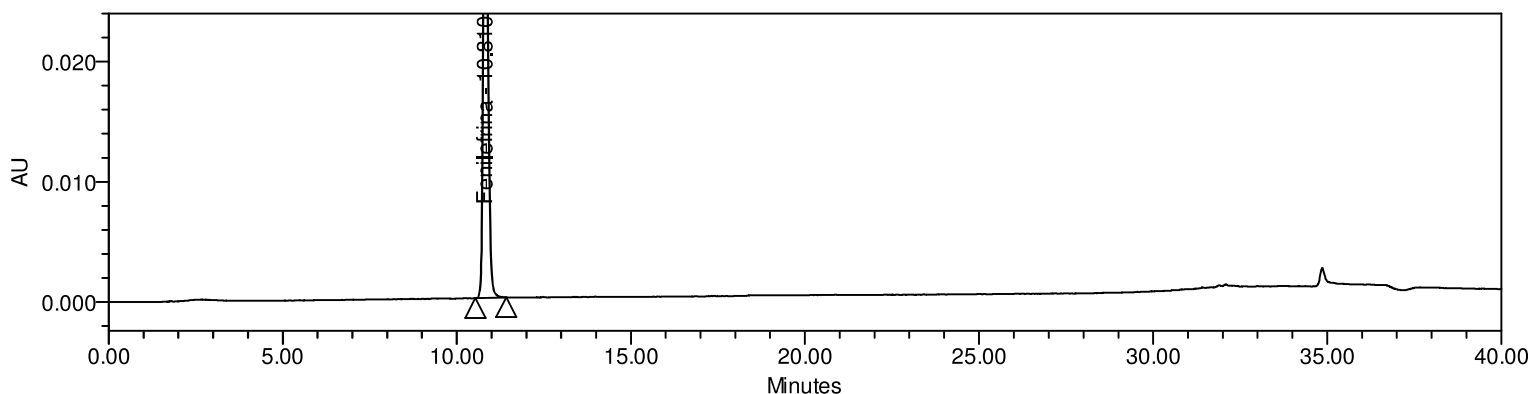
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:F,4; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 2:40:41 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:13 PM GMT+3; Result Id 69402; Calibration Id 69386

# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:F,5; SampleName Exatidão 120%; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 3:21:21 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 12:11:14 PM GMT+3; Result Id 69403; Calibration Id 69386

## Name: Fenilefrina

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.3	372784	1.0000	1.0000	69385
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376138	1.0000	1.0000	69388
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	374437	1.0000	1.0000	69389
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	376872	1.0000	1.0000	69390
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%	Fenilefrina	11.2	378516	1.0000	1.0000	69391
Mean						11.2	375749			
Std. Dev.							2212.5			
% RSD							0.6			

## Nome da Amostra: Exatidão 80%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	Result Id
1	1:E,5	1	2.0	Exatidão 80%	Fenilefrina	10.8	309102	0.1640	100.0000	100	69395
2	1:E,6	1	2.0	Exatidão 80%	Fenilefrina	10.8	313625	0.1640	100.0000	102	69396
3	1:E,7	1	2.0	Exatidão 80%	Fenilefrina	10.8	312361	0.1640	100.0000	101	69397
Mean						10.8	311696			101	
Std. Dev.							2333.9			0.8	
% RSD							0.7			0.7	

## Nome da Amostra: Exatidão 100%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	Result Id
1	1:E,8	1	2.0	Exatidão 100%	Fenilefrina	10.8	386144	0.2020	100.0000	102	69398
2	1:F,1	1	2.0	Exatidão 100%	Fenilefrina	10.8	384651	0.2020	100.0000	101	69399
3	1:F,2	1	2.0	Exatidão 100%	Fenilefrina	10.8	385464	0.2020	100.0000	102	69400
Mean						10.8	385420			102	
Std. Dev.							747.5			0.2	
% RSD							0.2			0.2	

## Nome da Amostra: Exatidão 120%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	Result Id
1	1:F,3	1	2.0	Exatidão 120%	Fenilefrina	10.8	451268	0.2400	100.0000	100	69401
2	1:F,4	1	2.0	Exatidão 120%	Fenilefrina	10.9	446388	0.2400	100.0000	99	69402
3	1:F,5	1	2.0	Exatidão 120%	Fenilefrina	10.8	443524	0.2400	100.0000	98	69403

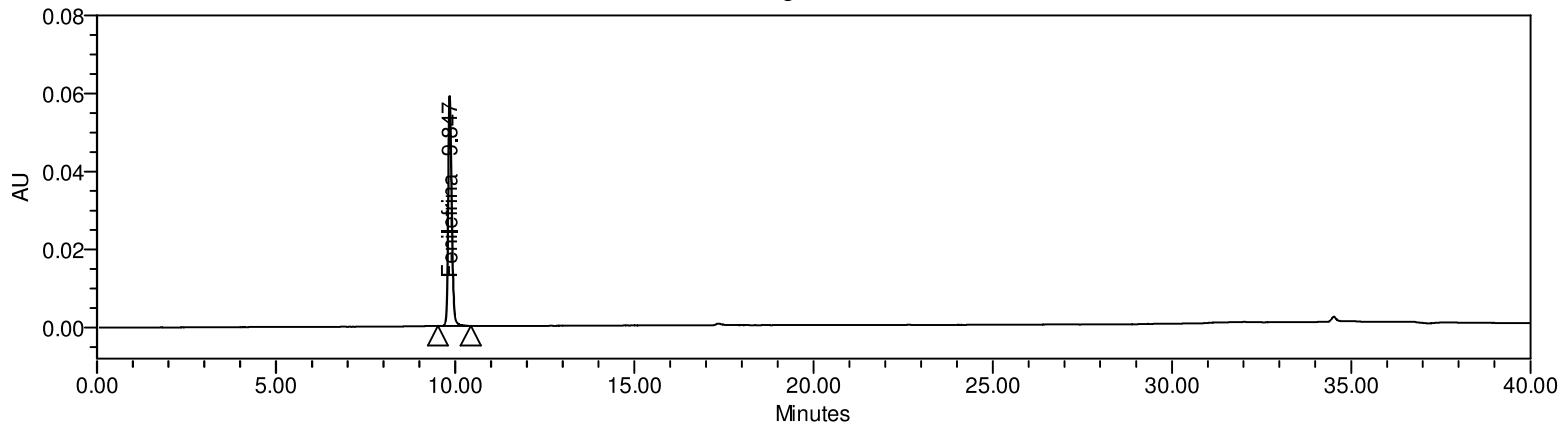
# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: Exatidão 120%

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	Result Id
Mean						10.8	447060			99	
Std. Dev.							3915.7			0.9	
% RSD							0.9			0.9	

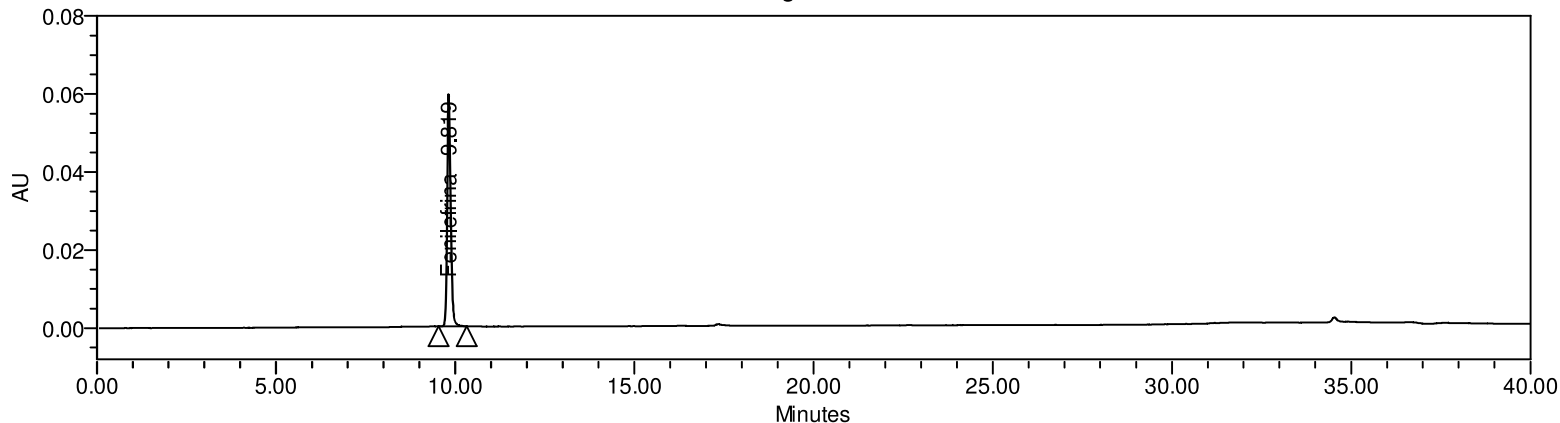
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



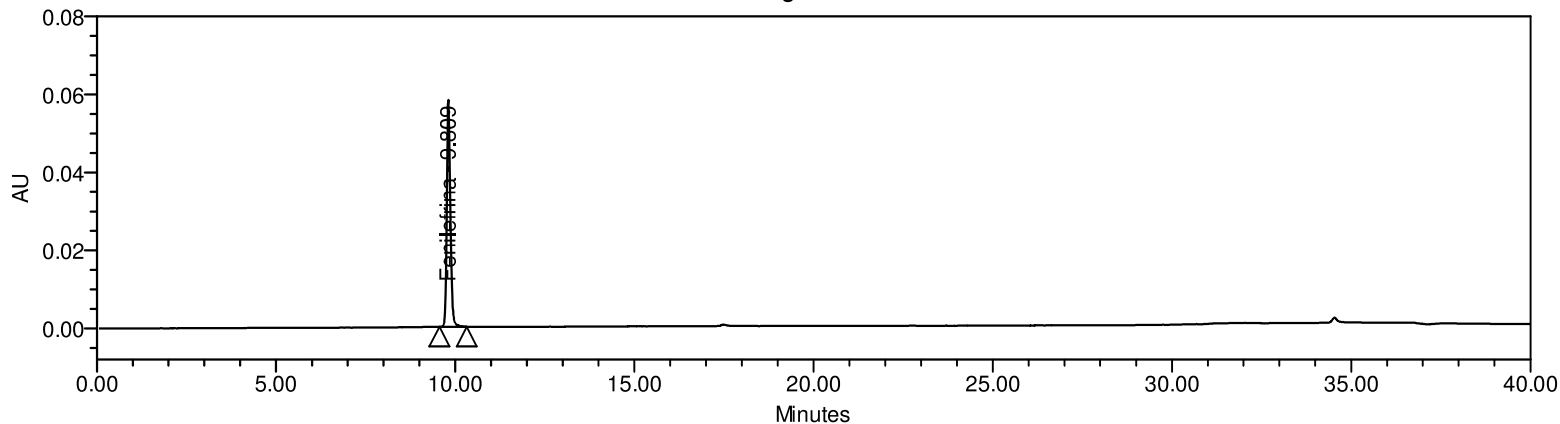
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:29 PM GMT+3; Result Id 69518

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:31 PM GMT+3; Result Id 69521

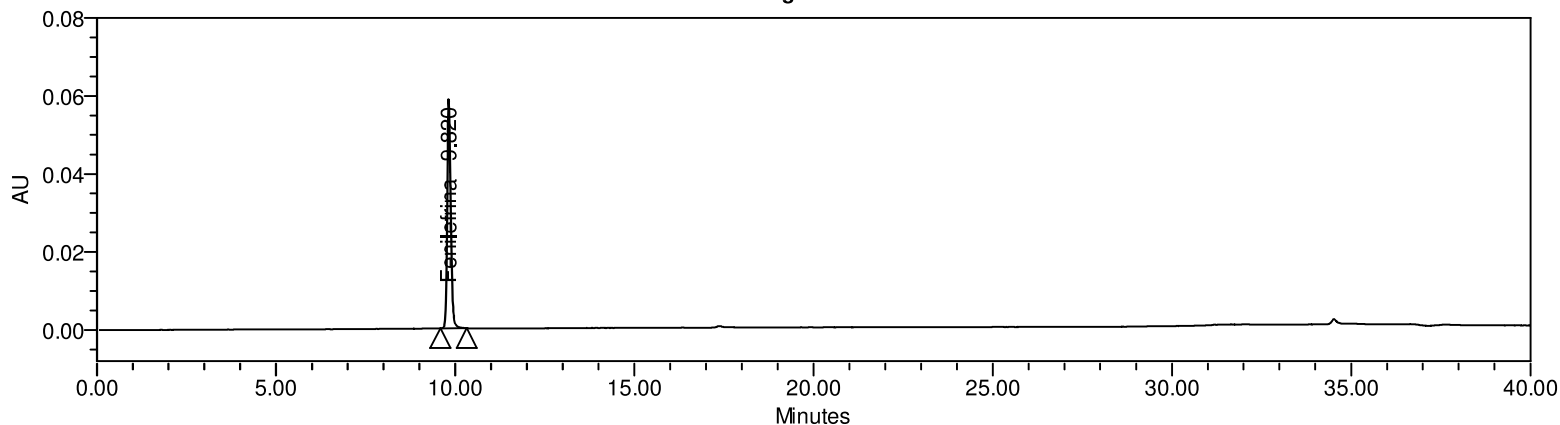
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:32 PM GMT+3; Result Id 69522

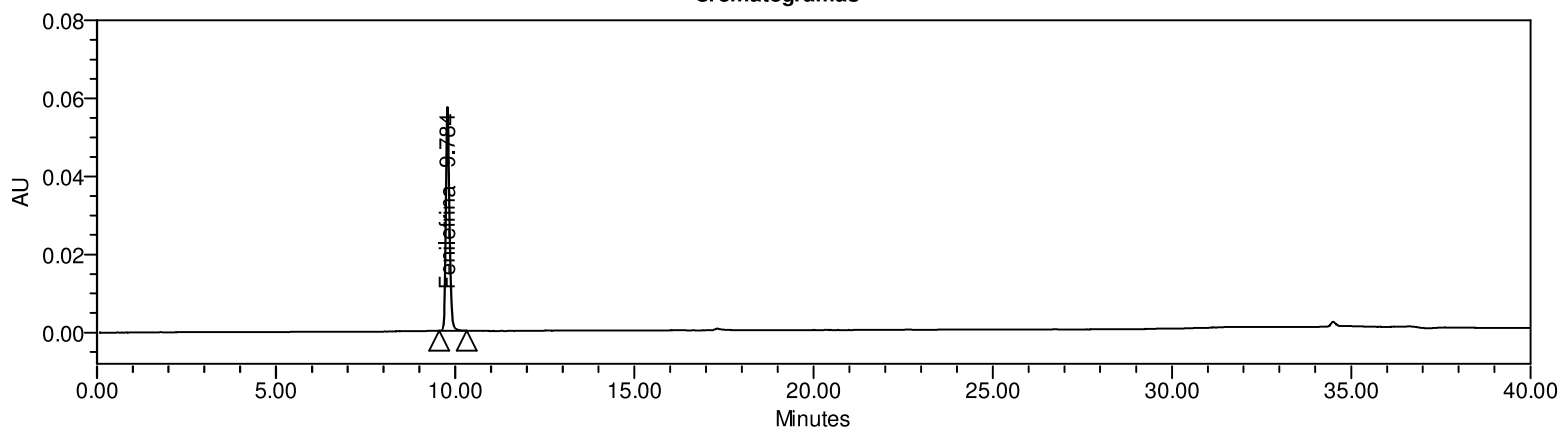
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



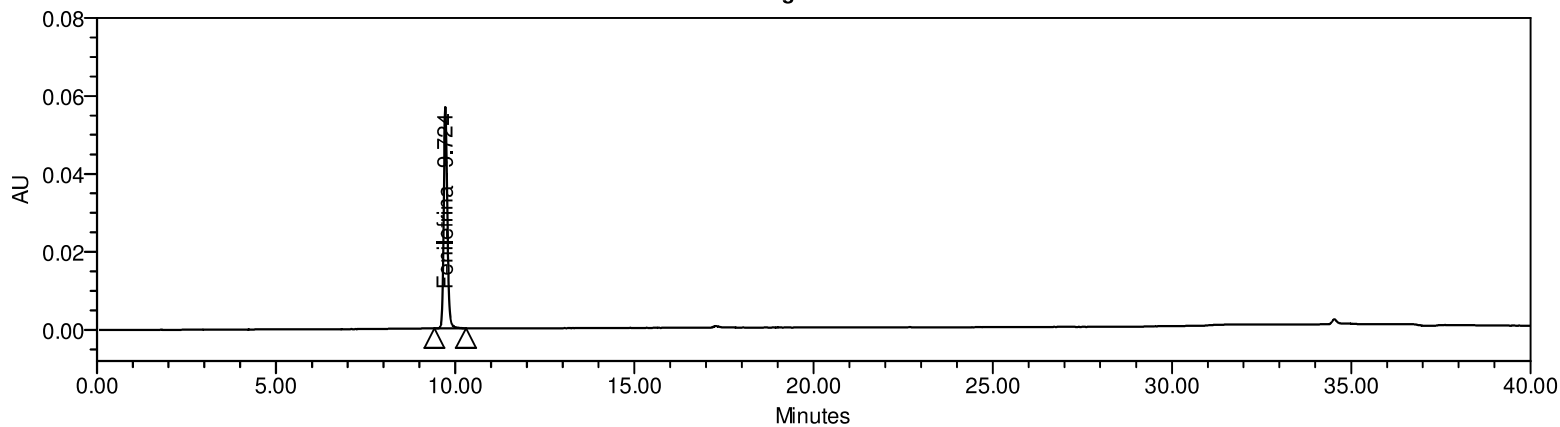
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:34 PM GMT+3; Result Id 69523

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:36 PM GMT+3; Result Id 69524

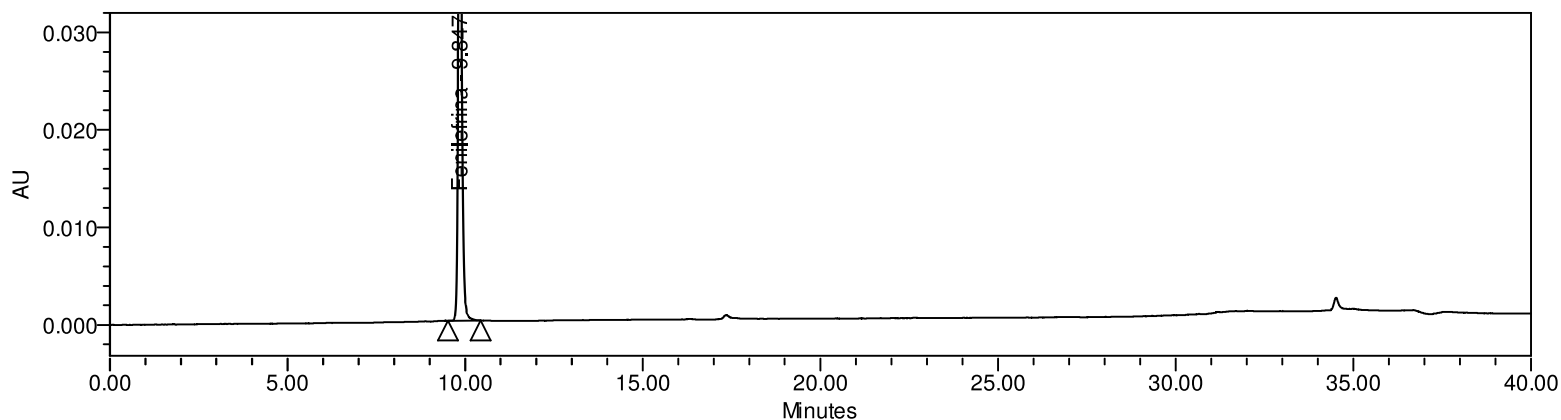
Cromatogramas



Vial 1:D,3; SampleName AM01\_Rob Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:32:25 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:37 PM GMT+3; Result Id 69525

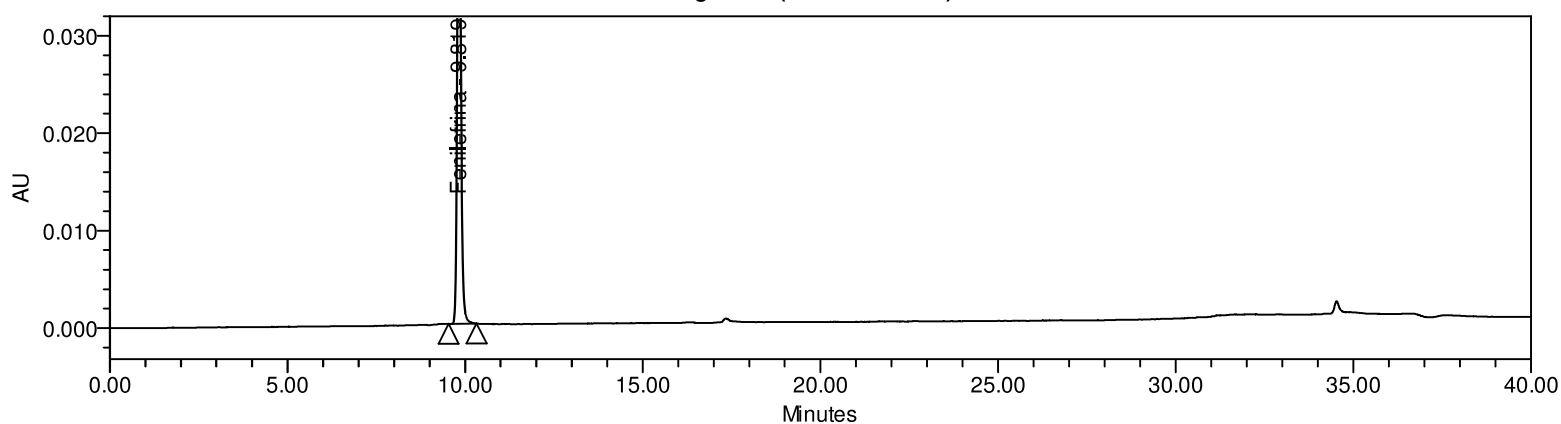
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



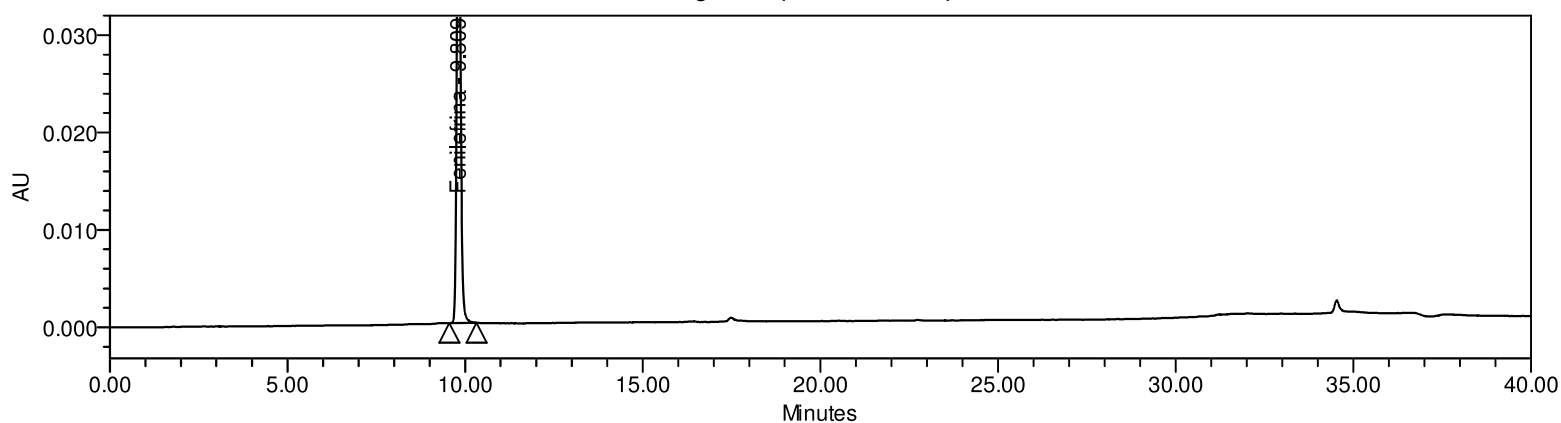
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:29 PM GMT+3; Result Id 69518

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:09:04 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:31 PM GMT+3; Result Id 69521

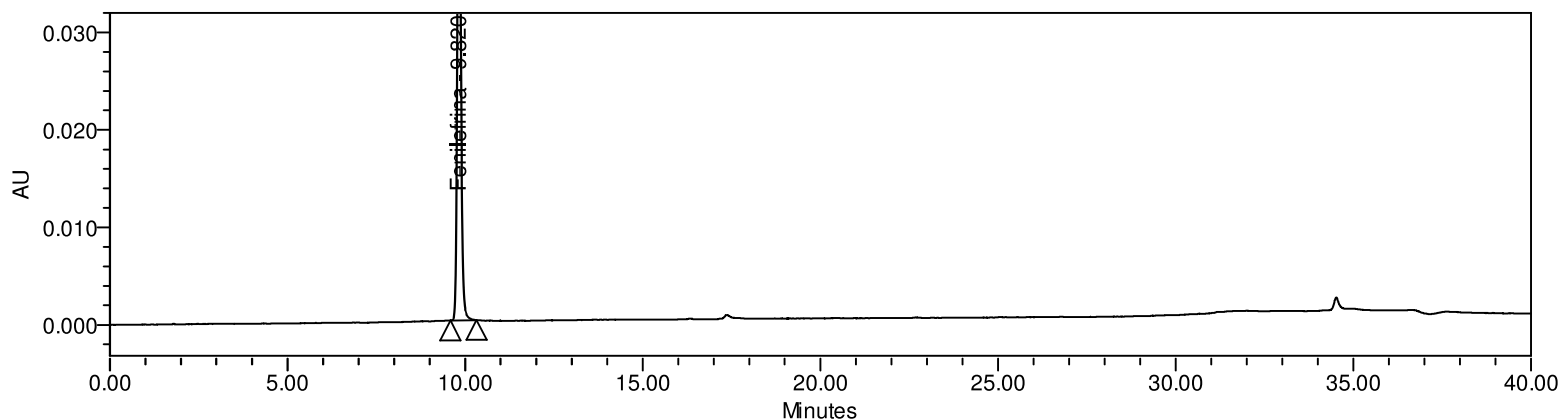
Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 4:49:44 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:32 PM GMT+3; Result Id 69522

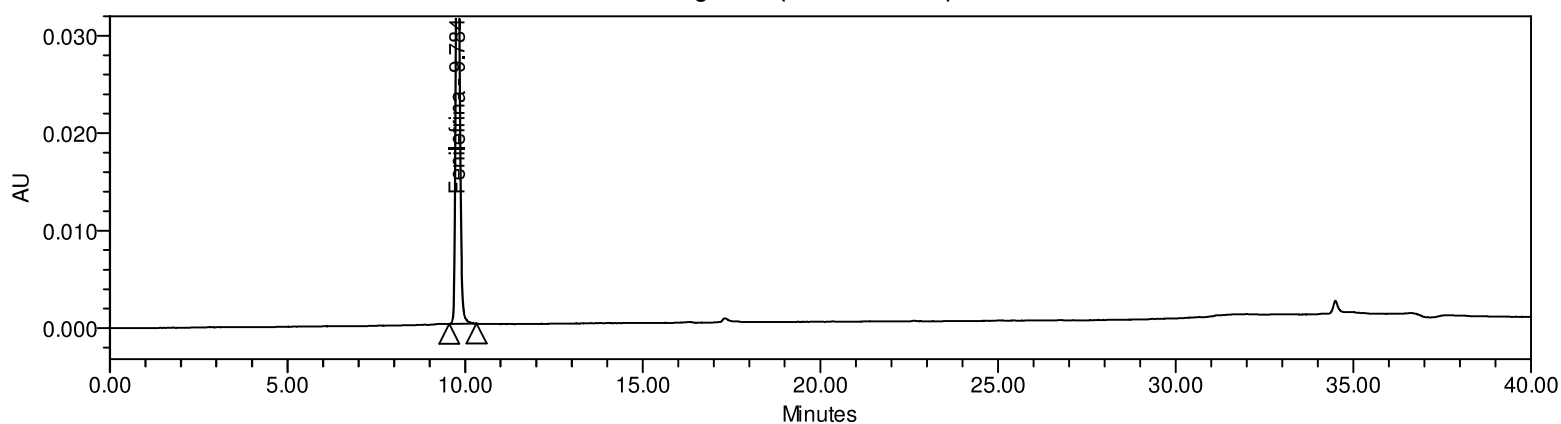
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



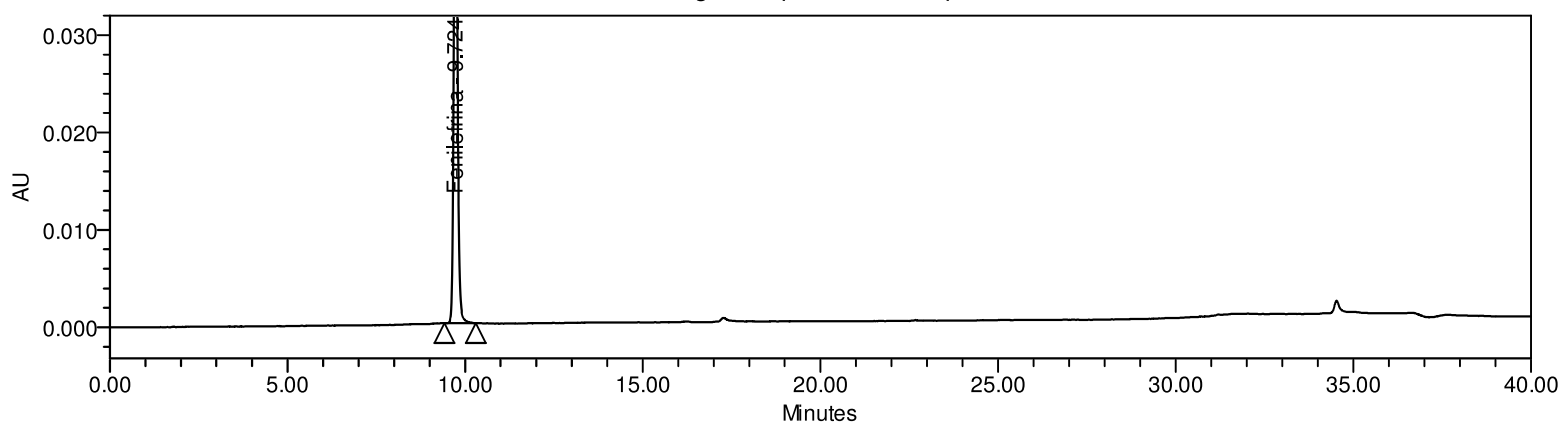
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 5:30:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:34 PM GMT+3; Result Id 69523

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Rob Inic; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 6:11:03 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:36 PM GMT+3; Result Id 69524

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,3; SampleName AM01\_Rob Inic; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/7/2021 7:32:25 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:39:37 PM GMT+3; Result Id 69525

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%\_Rob Inic

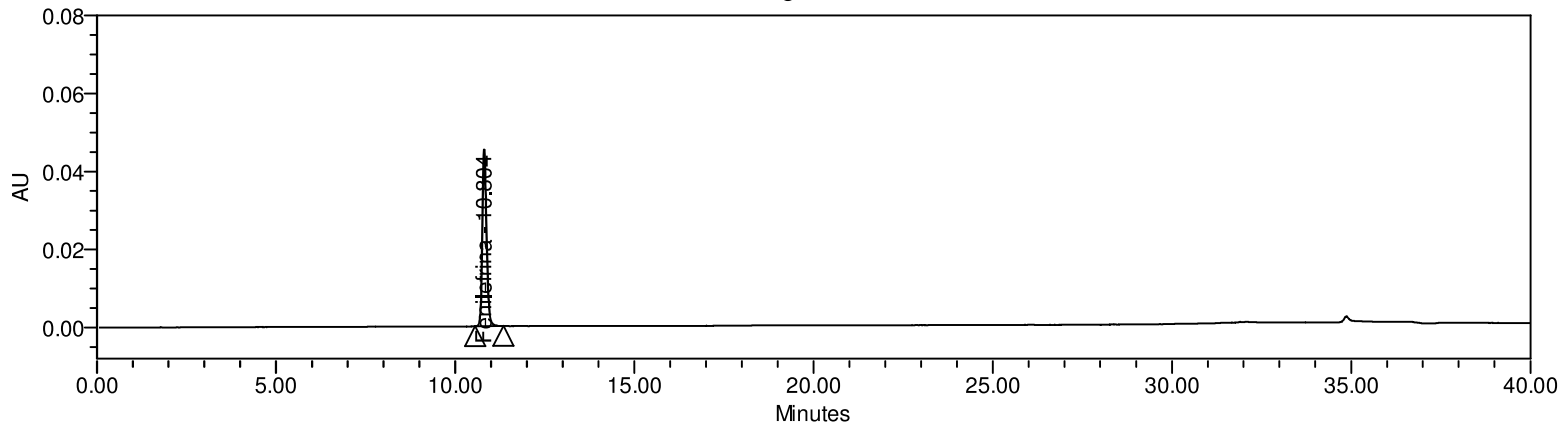
	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%_Rob Inic	Fenilefrina	9.8	405697	0.2000	8.3	1.3	48795	69518
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%_Rob Inic	Fenilefrina	9.8	405342	0.2000	8.3	1.3	49355	69521
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%_Rob Inic	Fenilefrina	9.8	404887	0.2000	8.3	1.2	47151	69522
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%_Rob Inic	Fenilefrina	9.8	405276	0.2000	8.3	1.2	48163	69523
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%_Rob Inic	Fenilefrina	9.8	406121	0.2000	8.2	1.2	45240	69524
Mean						9.8	405465	0.2000	8.3	1.2	47741	
Std. Dev.							466.3	0.0				
% RSD							0.1	0.0				

## Nome da Amostra: AM01\_Rob Inic

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,3	1	2.0	AM01_Rob Inic	Fenilefrina	9.7	405828	0.2000	100.0000	100.09	8.2	1.2	43997	69525

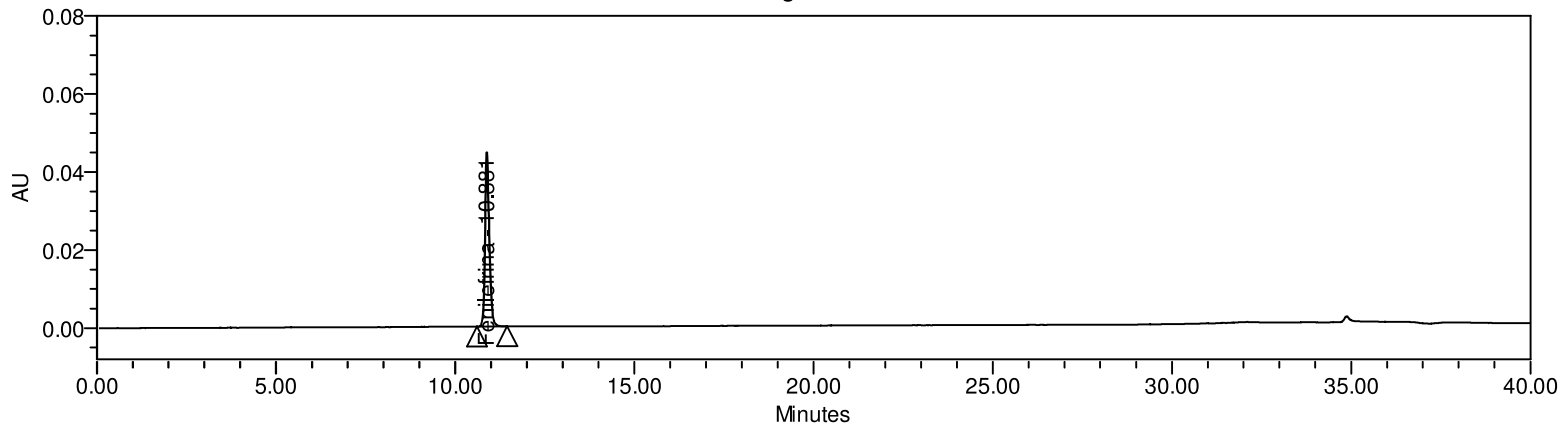
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



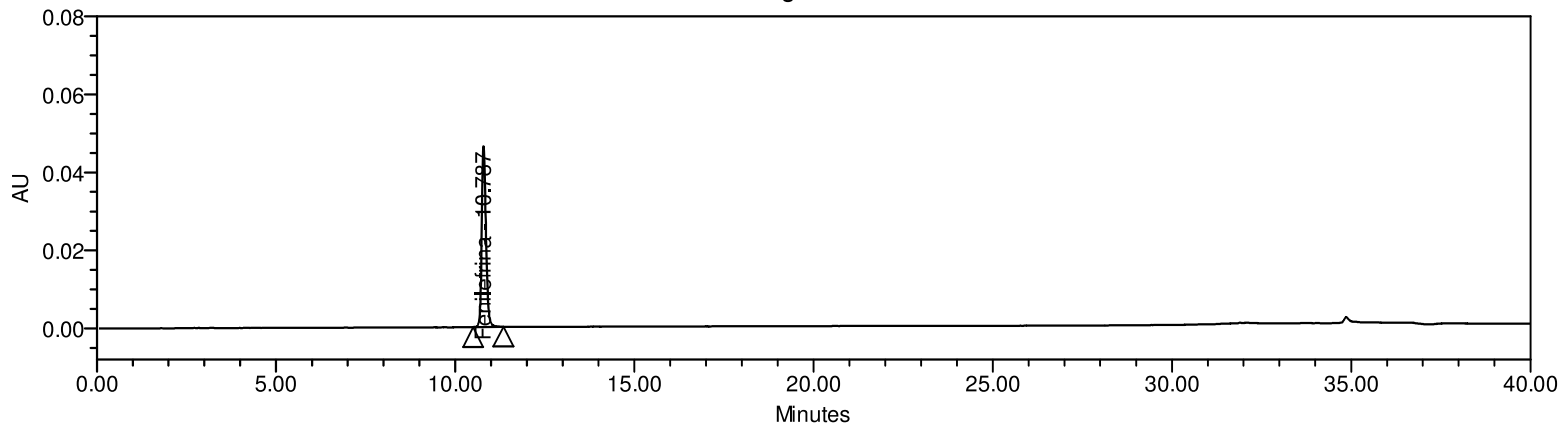
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 4:42:40 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:38 PM GMT+3; Result Id 69489

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 2; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 5:23:20 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:40 PM GMT+3; Result Id 69492

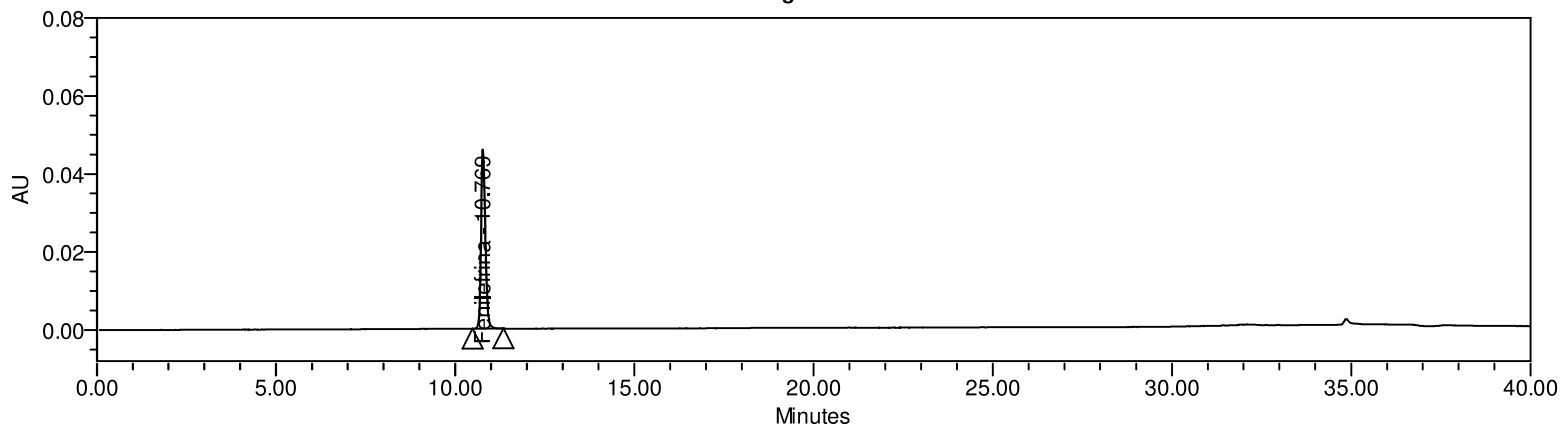
Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 3; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 6:04:02 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:42 PM GMT+3; Result Id 69493

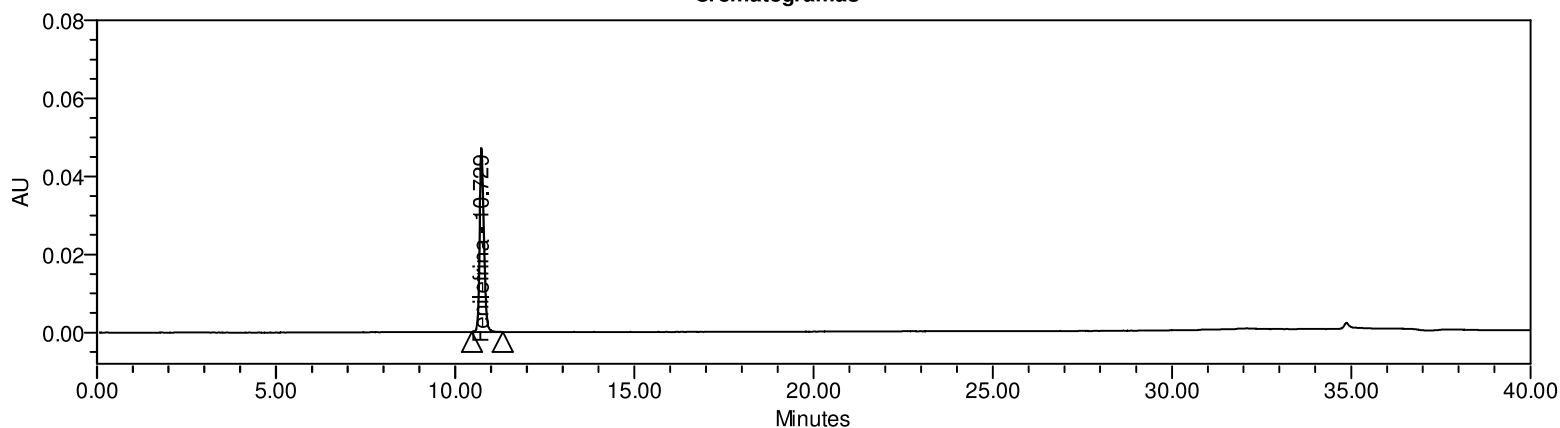
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas



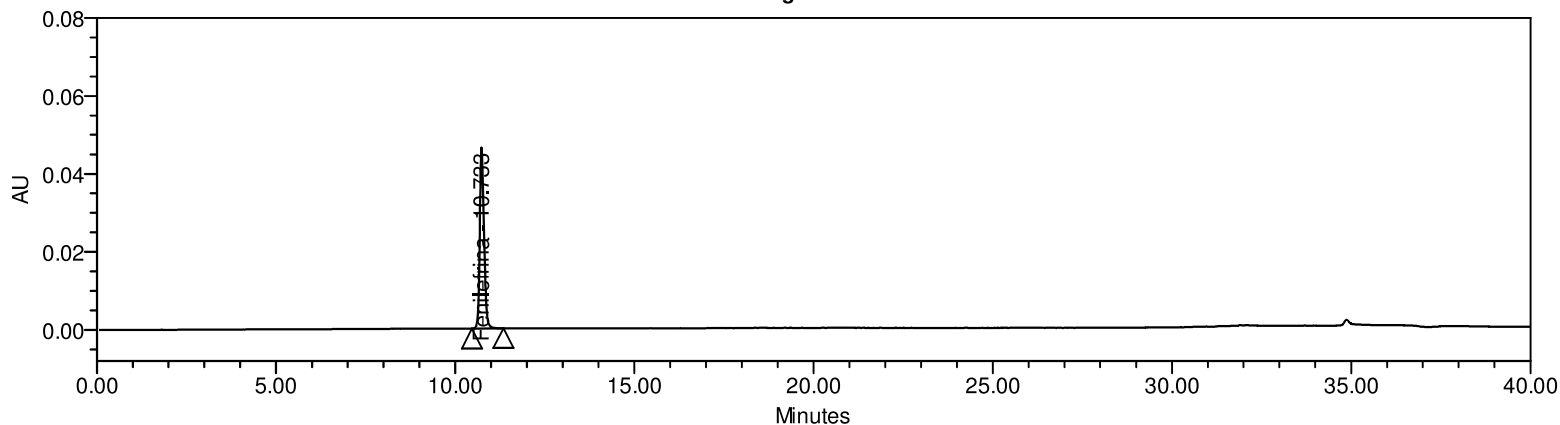
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 6:44:42 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:44 PM GMT+3; Result Id 69494

Cromatogramas



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 7:25:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:46 PM GMT+3; Result Id 69495

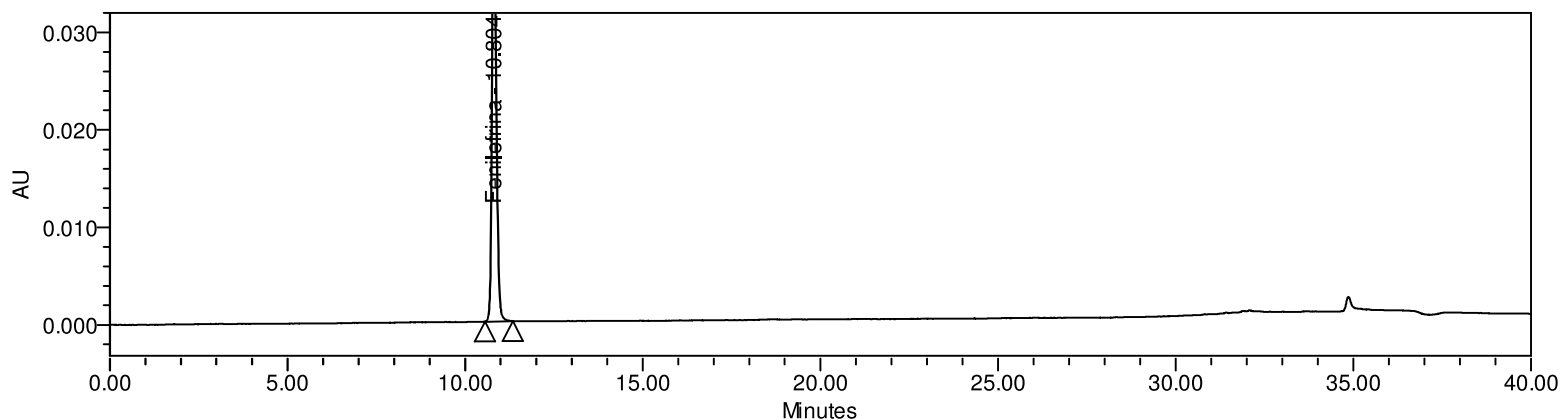
Cromatogramas



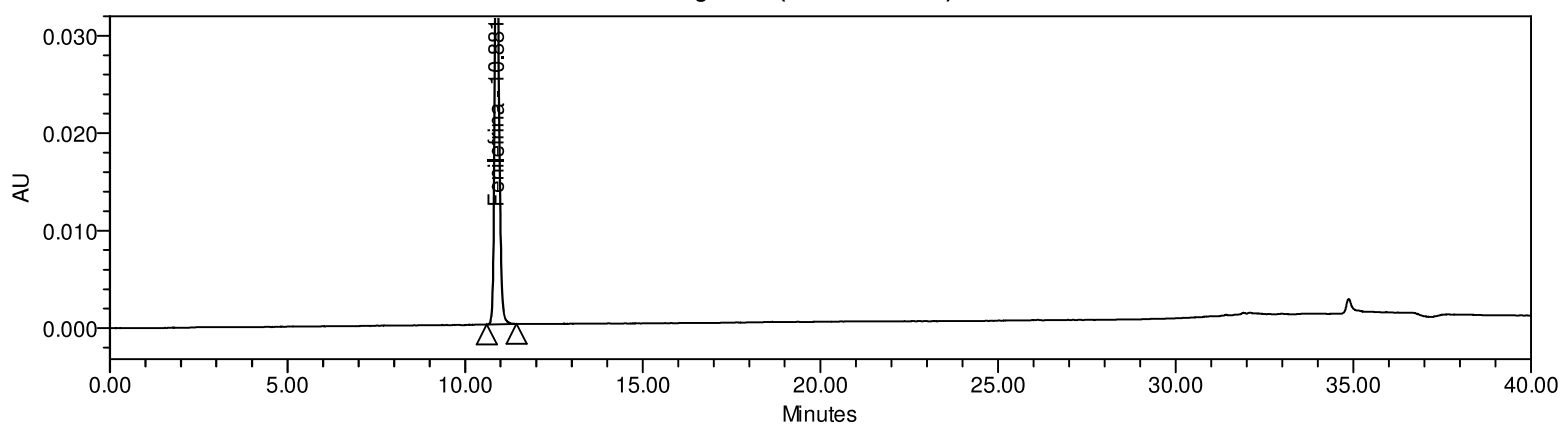
Vial 1:D,3; SampleName AM01\_Coluna2; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 8:06:01 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:48 PM GMT+3; Result Id 69496

# Validação/Verificação de Método Analítico

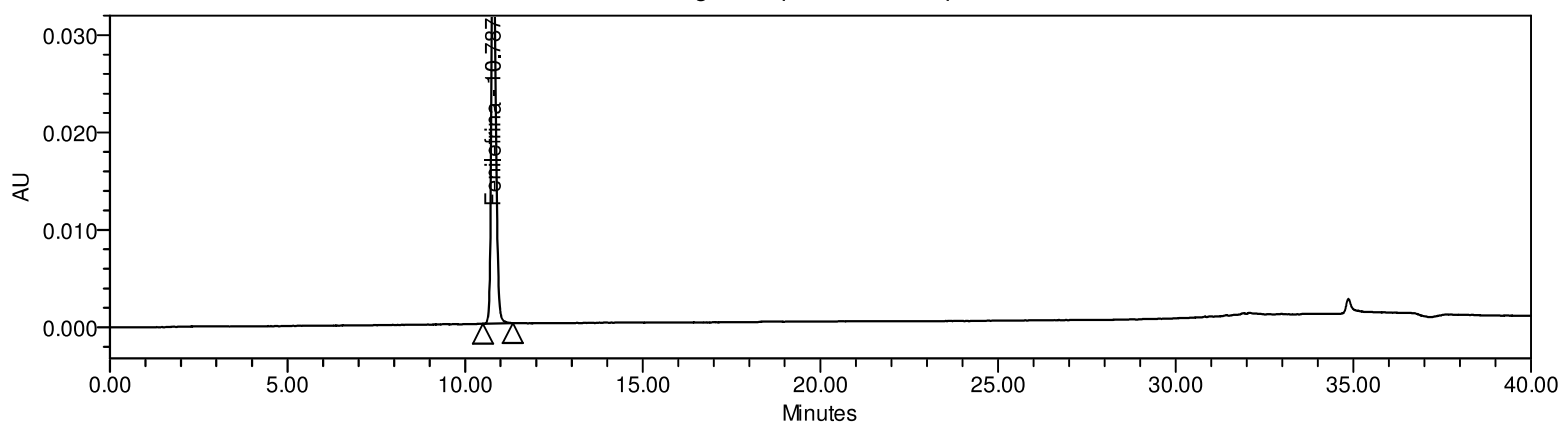
Cromatogramas (escala reduzida)



Cromatogramas (escala reduzida)

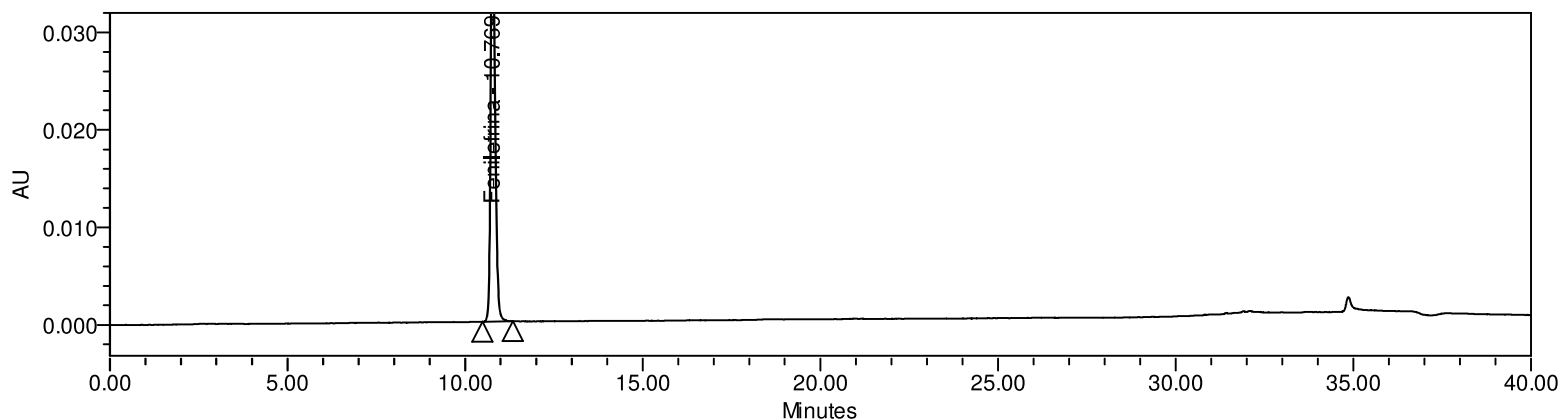


Cromatogramas (escala reduzida)



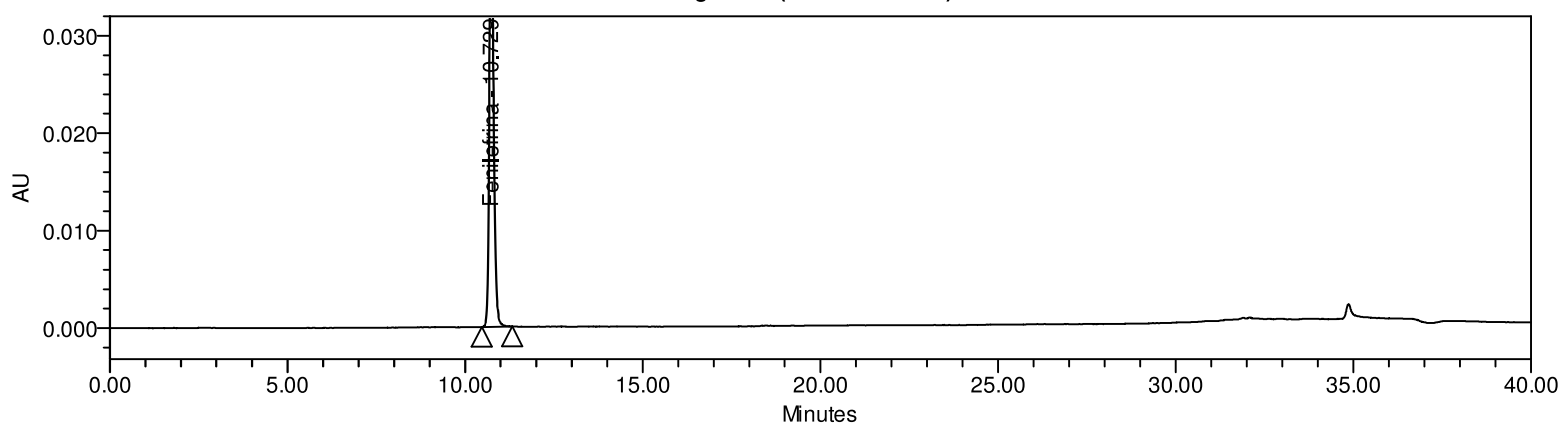
# Validação/Verificação de Método Analítico

Cromatogramas (escala reduzida)



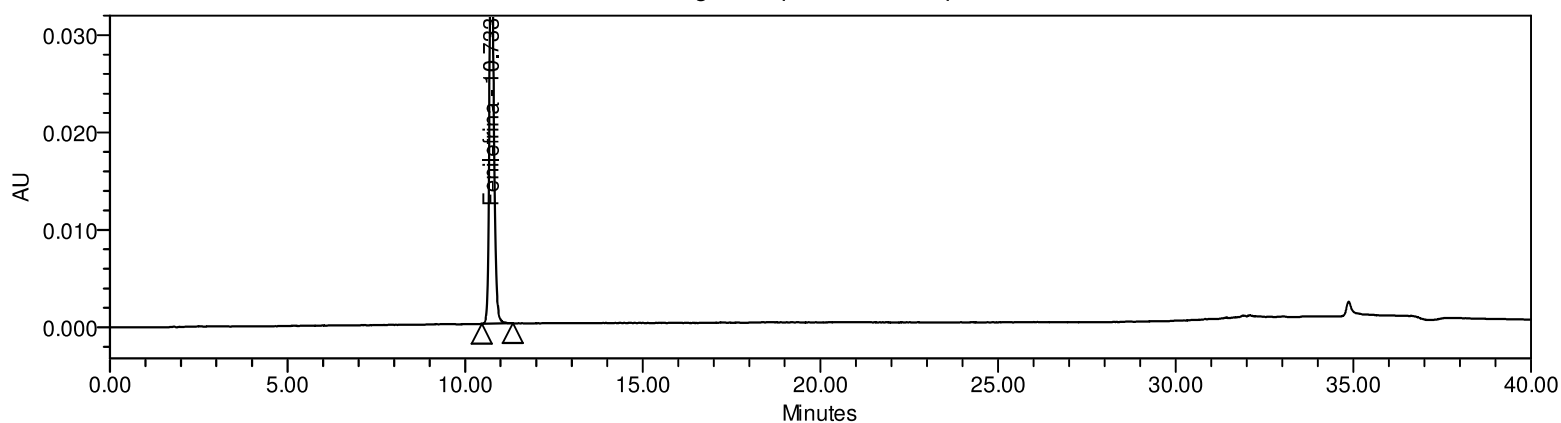
Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 4; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 6:44:42 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:44 PM GMT+3; Result Id 69494

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:A,1; SampleName PD\_100%\_Coluna2; Injection 5; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 7:25:23 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:46 PM GMT+3; Result Id 69495

Cromatogramas (escala reduzida)



Vial 1:D,3; SampleName AM01\_Coluna2; Injection 1; Channel PDA Ch1 270nm@4.8nm; Date Acquired 11/11/2021 8:06:01 AM GMT+3; Date Processed 11/22/2021 3:33:48 PM GMT+3; Result Id 69496

# Validação/Verificação de Método Analítico

## Nome da Amostra: PD\_100%\_Coluna2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Amount (mg/mL)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:A,1	1	2.0	PD_100%_Coluna2	Fenilefrina	10.8	376648	0.2000	9.2	1.3	39814	69489
2	1:A,1	2	2.0	PD_100%_Coluna2	Fenilefrina	10.9	378985	0.2000	9.3	1.3	38764	69492
3	1:A,1	3	2.0	PD_100%_Coluna2	Fenilefrina	10.8	382562	0.2000	9.2	1.3	40291	69493
4	1:A,1	4	2.0	PD_100%_Coluna2	Fenilefrina	10.8	381574	0.2000	9.2	1.3	39594	69494
5	1:A,1	5	2.0	PD_100%_Coluna2	Fenilefrina	10.7	386364	0.2000	9.1	1.3	40736	69495
Mean						10.8	381227	0.2000	9.2	1.3	39840	
Std. Dev.							3683.7	0.0				
% RSD							1.0	0.0				

## Nome da Amostra: AM01\_Coluna2

	Vial	Inj	Inj Vol (ul)	Nome da Amostra	Name	RT	Área	Sample Weight	Dilution	Amount (%)	K Prime	USP Tailing	USP Plate Count	Result Id
1	1:D,3	1	2.0	AM01_Coluna2	Fenilefrina	10.7	381103	0.2000	100.0000	99.97	9.1	1.3	40346	69496

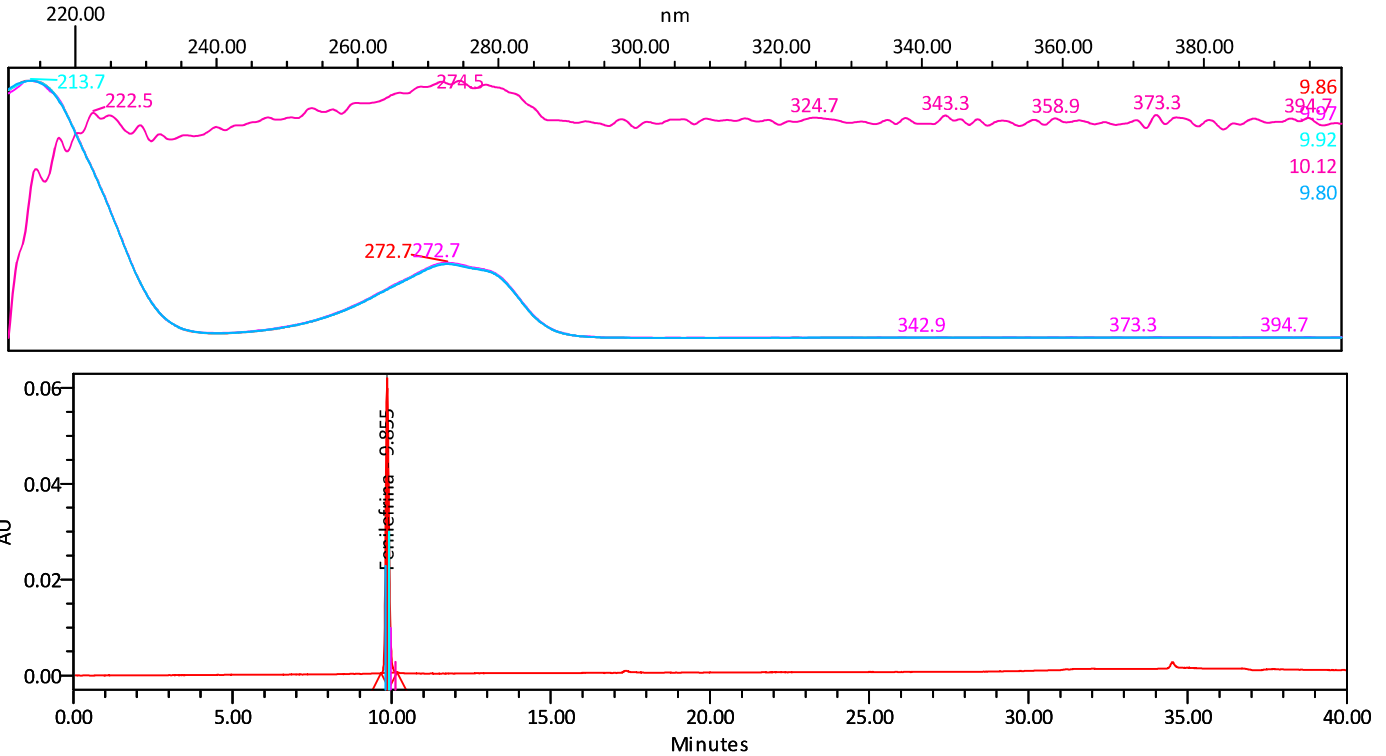
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: PD\_100%

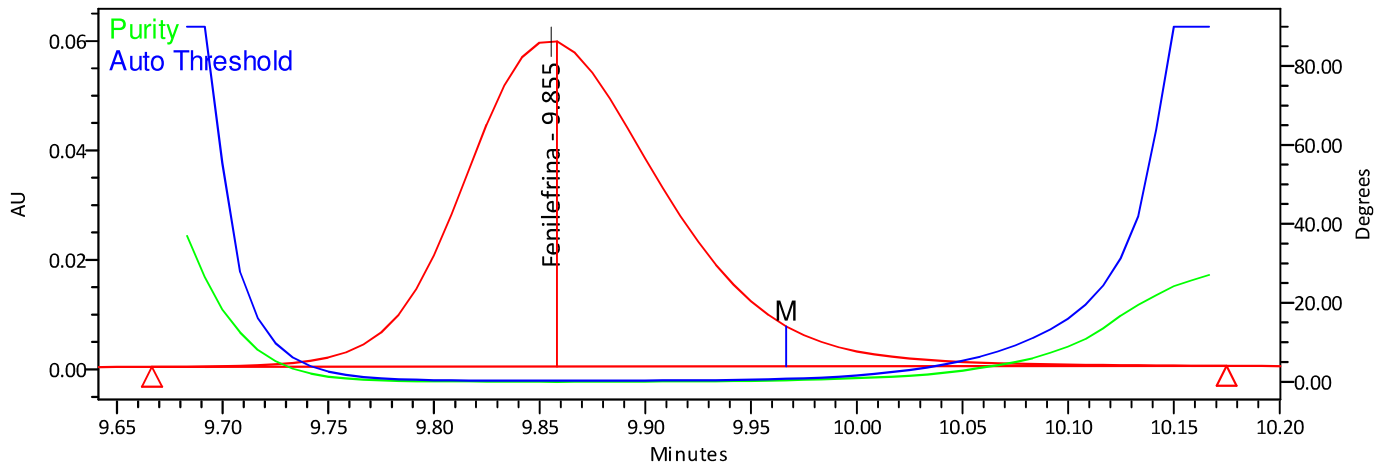
### Spectrum Index Plot

Fenilefrina - 9.855



Nome da amostra: PD\_100%; Injeção: 1; Vial 1:A,1; Data de Aquisição: 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3; Id. Resultado: 70683; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

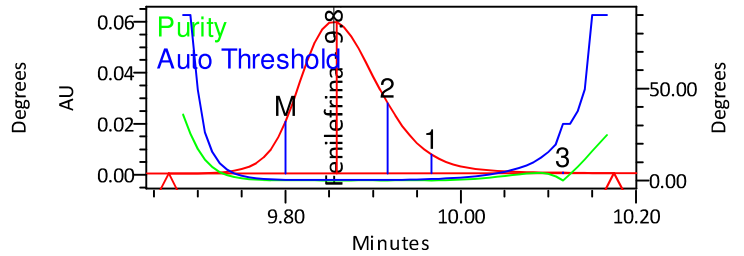
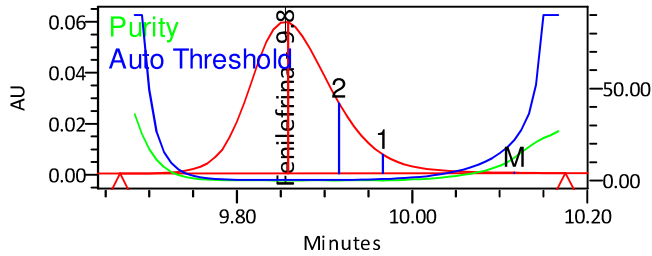
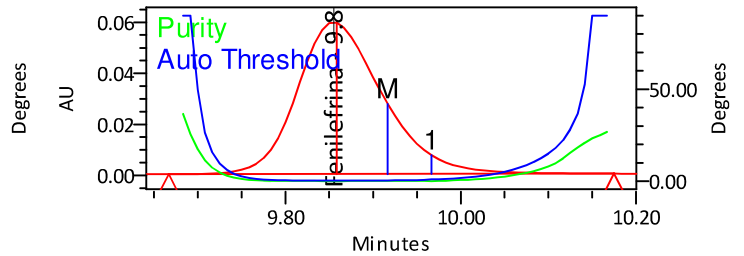
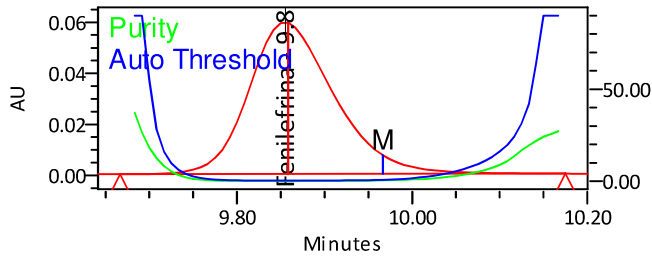
### Purity Plot Fraction



PA: 0.098 TH: 0.353

- SampleName PD\_100% Injection 1 Vial 1:A,1 Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3 Result Id 70683 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName PD\_100% Injection 1 Vial 1:A,1 Date Acquired 11/7/2021 3:28:24 AM GMT+3 Result Id 70683 Processed Channel Descr. PDA  
— Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

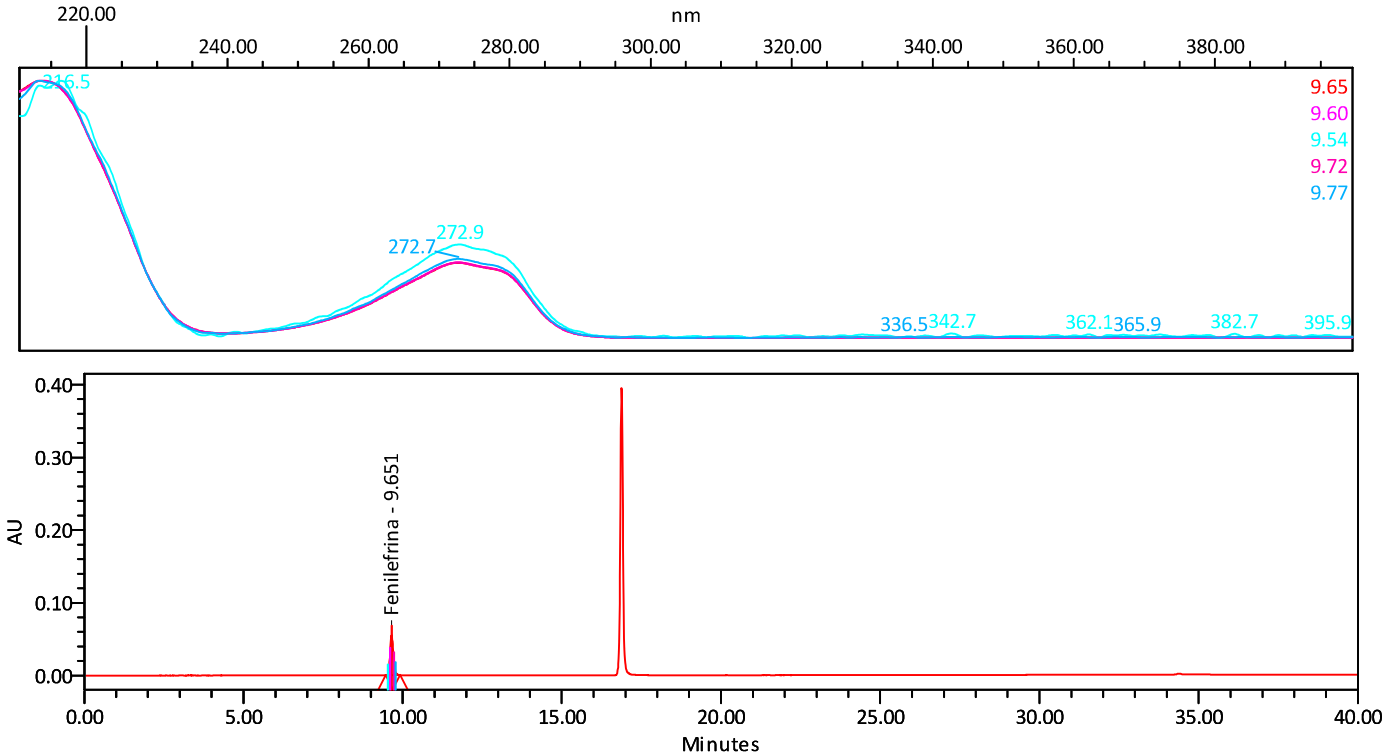
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Cafeína Inic

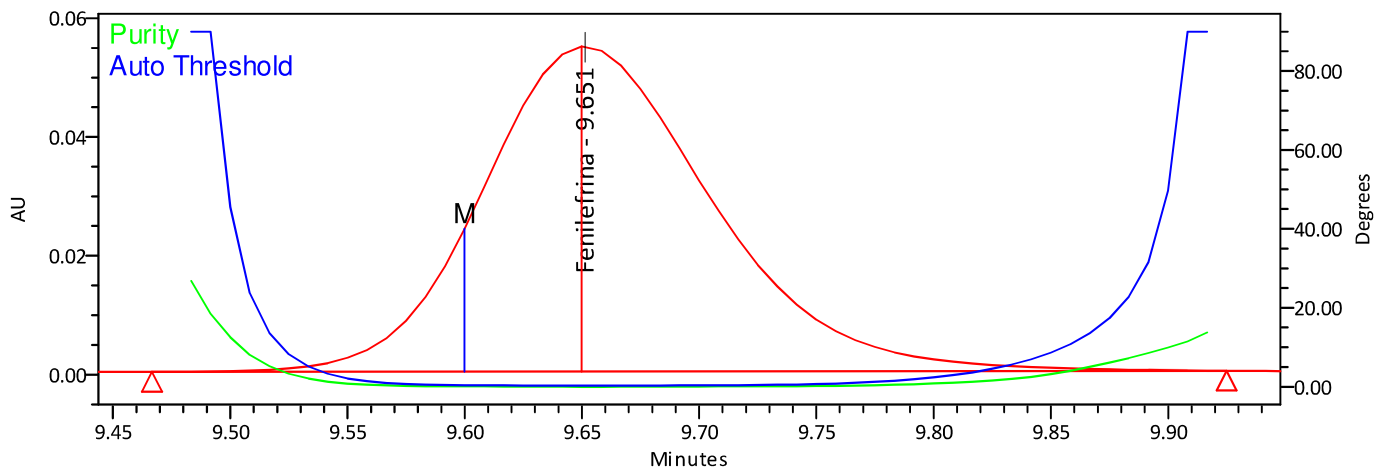
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.651



Nome da amostra: Fenilefrina + Cafeína Inic; Injeção: 1; Vial 2;C,2; Data de Aquisição: 11/7/2021 11:48:56 PM GMT+3; Id. Resultado: 70699; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

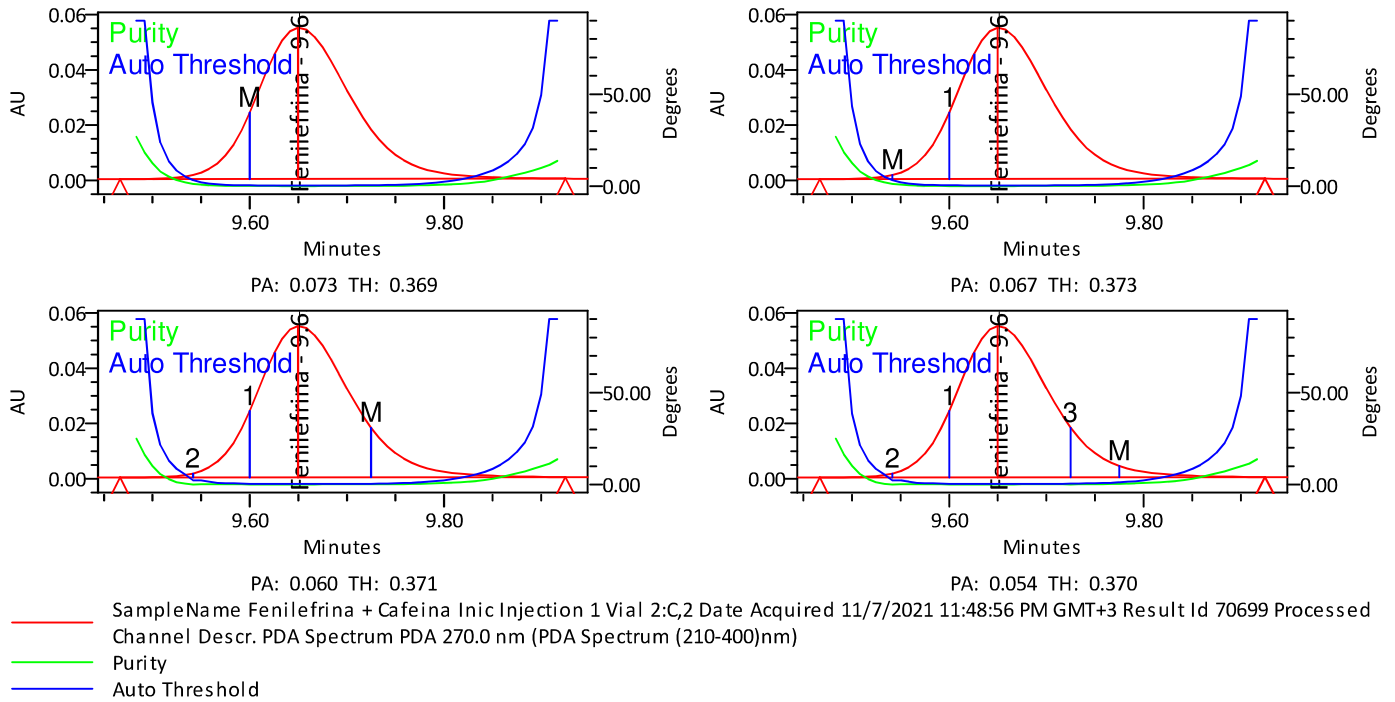
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.073 TH: 0.369

- SampleName Fenilefrina + Cafeína Inic Injection 1 Vial 2;C,2 Date Acquired 11/7/2021 11:48:56 PM GMT+3 Result Id 70699 Processed
- Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

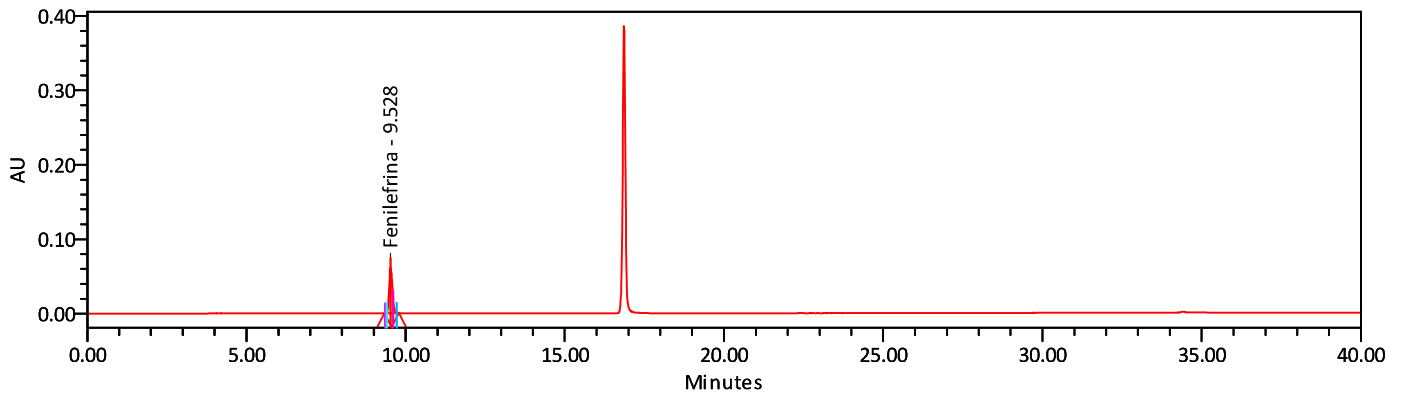
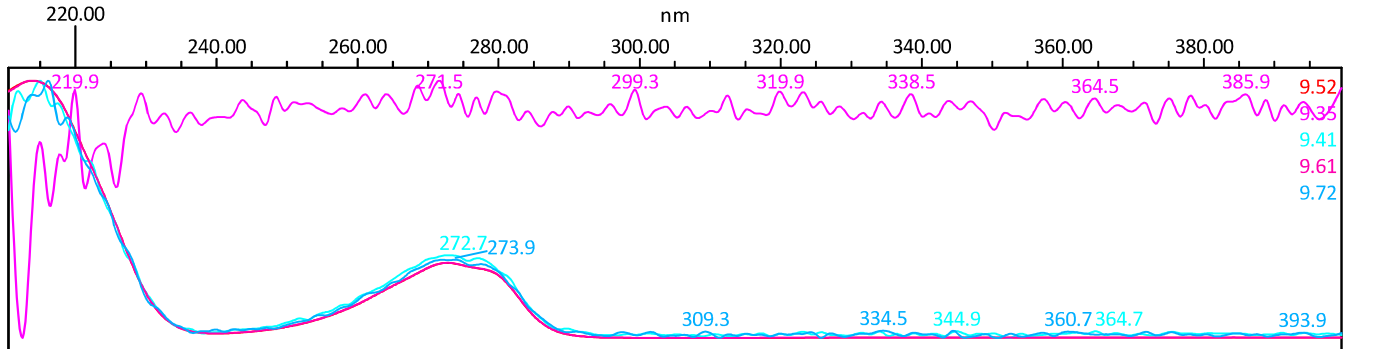
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Cafeína Foto

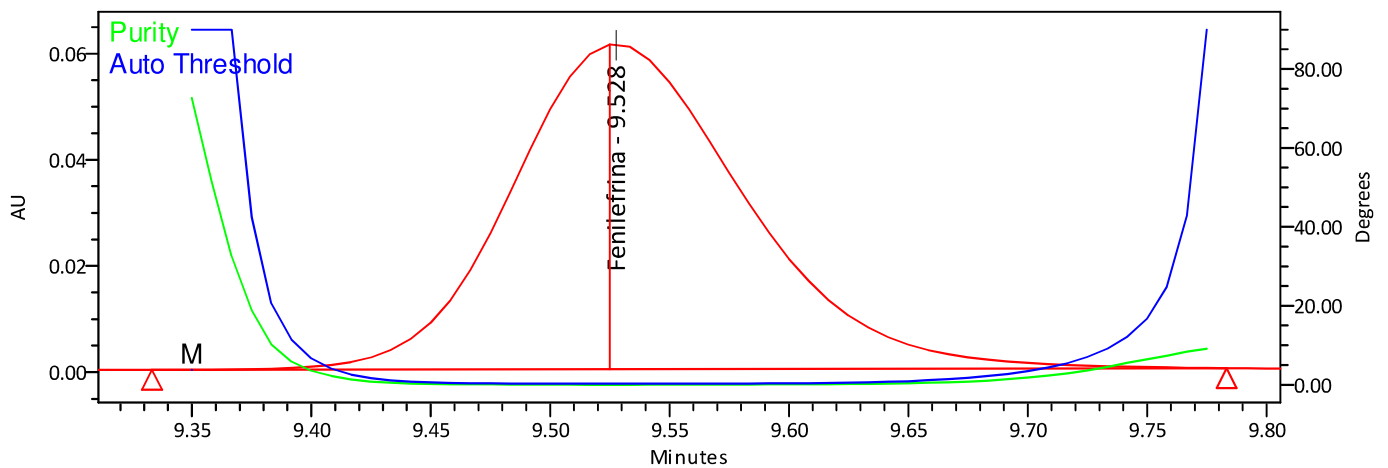
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.528



Nome da amostra: Fenilefrina + Cafeína Foto; Injeção: 1; Vial 2:A,3; Data de Aquisição: 11/7/2021 1:38:33 PM GMT+3; Id. Resultado: 70691; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

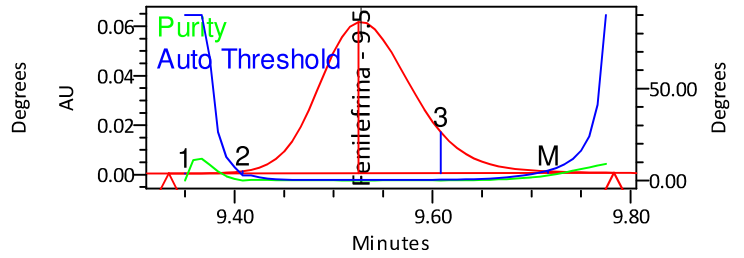
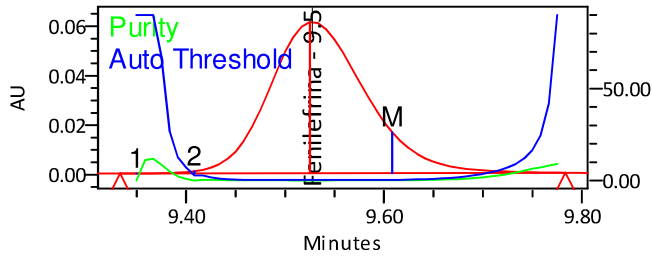
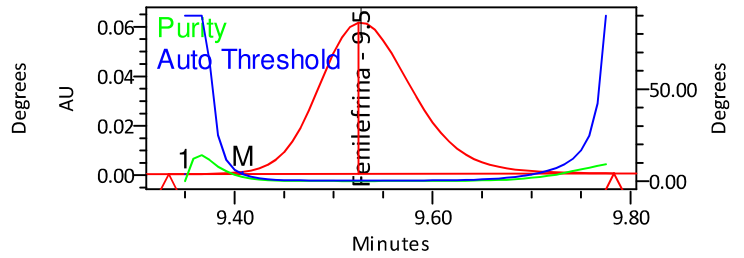
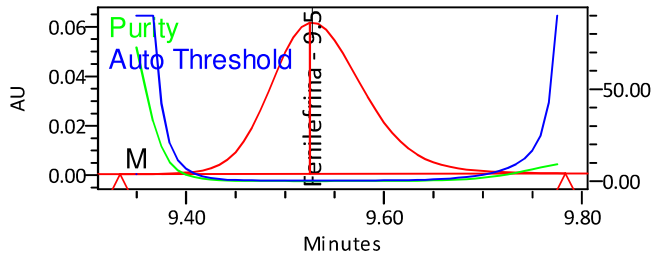
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.066 TH: 0.316

- SampleName Fenilefrina + Cafeína Foto Injection 1 Vial 2:A,3 Date Acquired 11/7/2021 1:38:33 PM GMT+3 Result Id 70691 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Cafeína Foto Injection 1 Vial 2:A,3 Date Acquired 11/7/2021 1:38:33 PM GMT+3 Result Id 70691 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

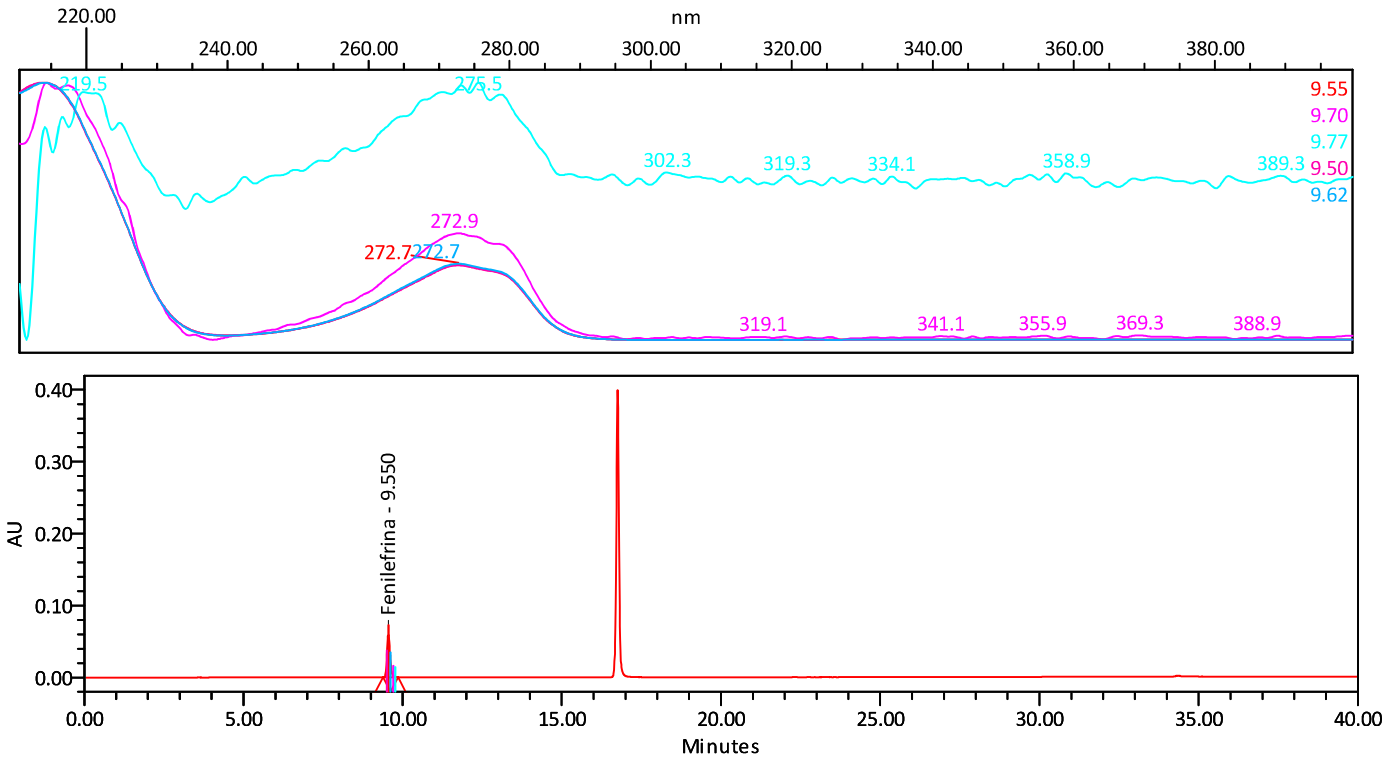
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Cafeina Temp

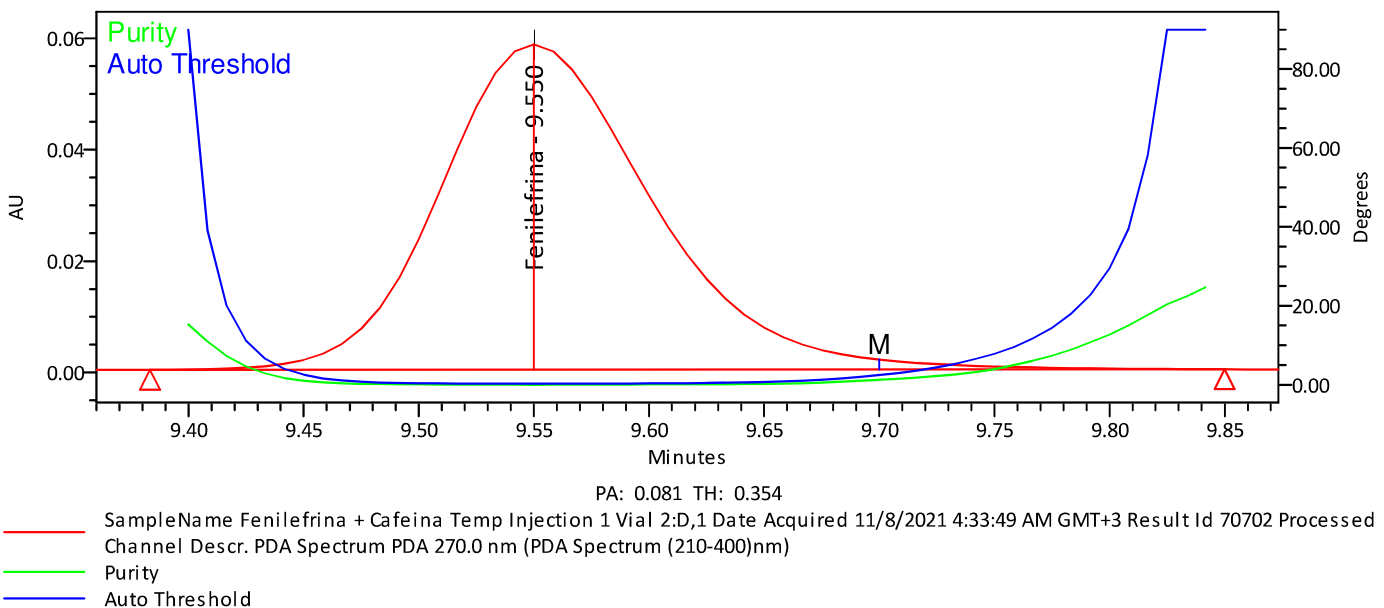
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.550

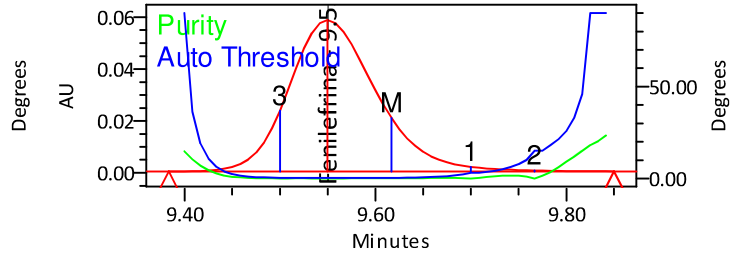
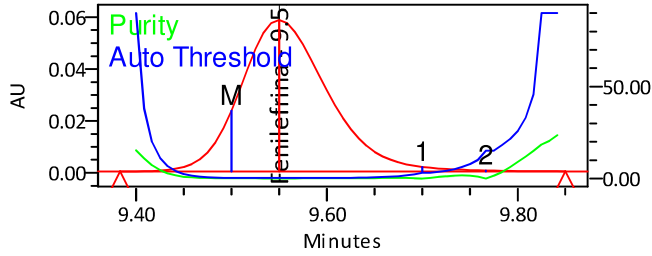
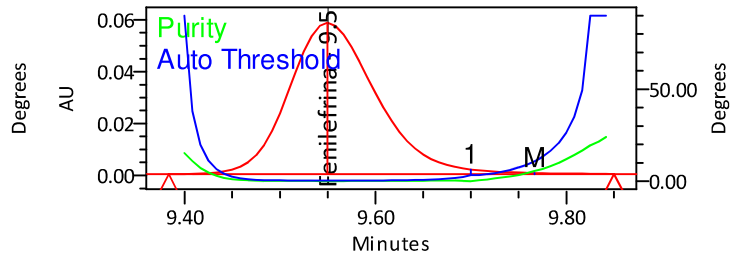
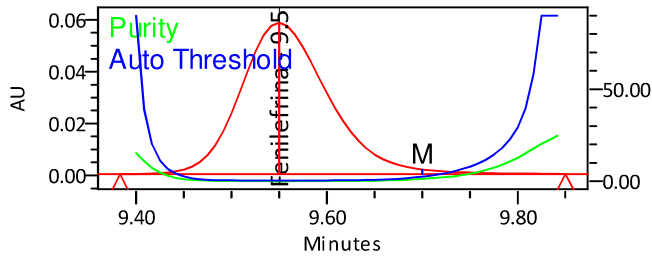


Nome da amostra: Fenilefrina + Cafeina Temp; Injeção: 1; Vial 2:D,1; Data de Aquisição: 11/8/2021 4:33:49 AM GMT+3; Id. Resultado: 70702; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

**Purity Plot Fraction**



### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Cafeina Temp Injection 1 Vial 2:D,1 Date Acquired 11/8/2021 4:33:49 AM GMT+3 Result Id 70702 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

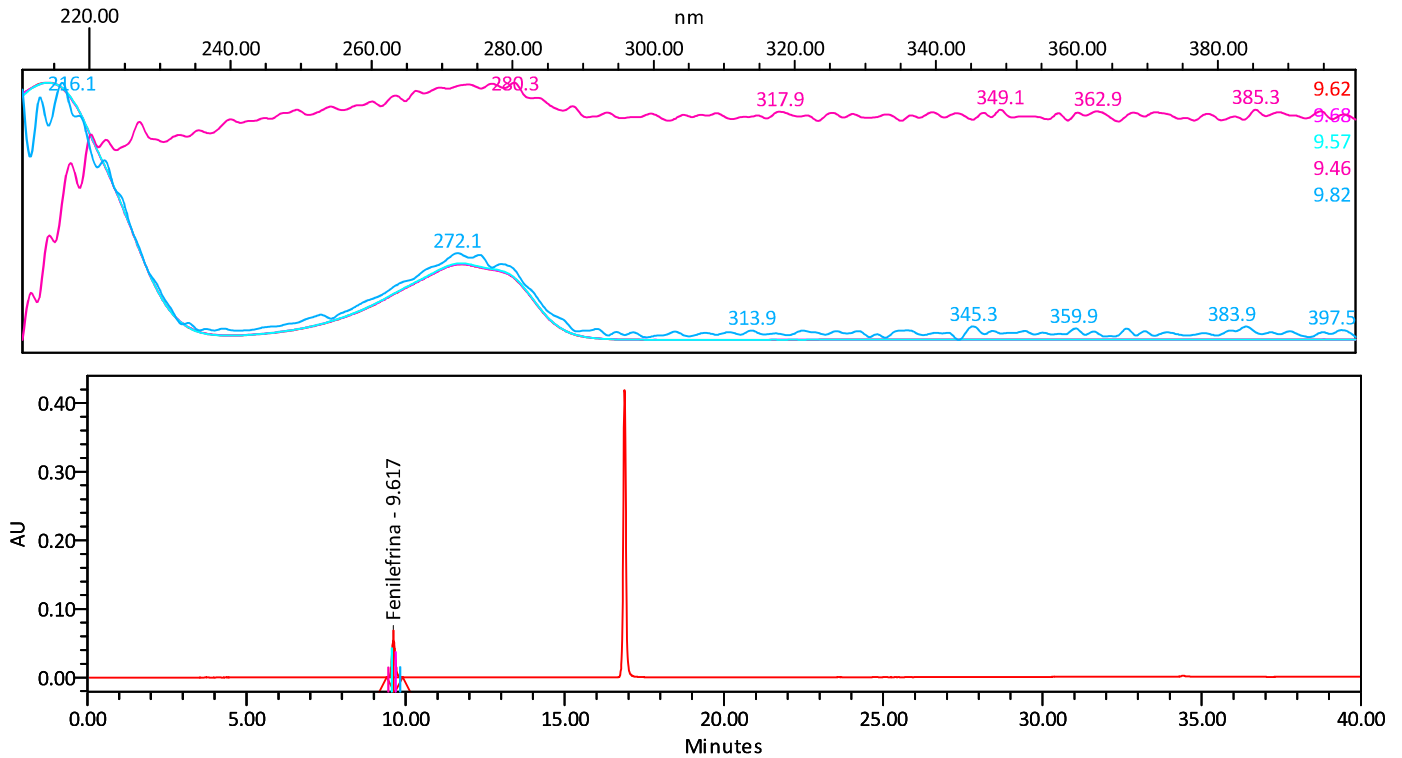
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Caf Umid

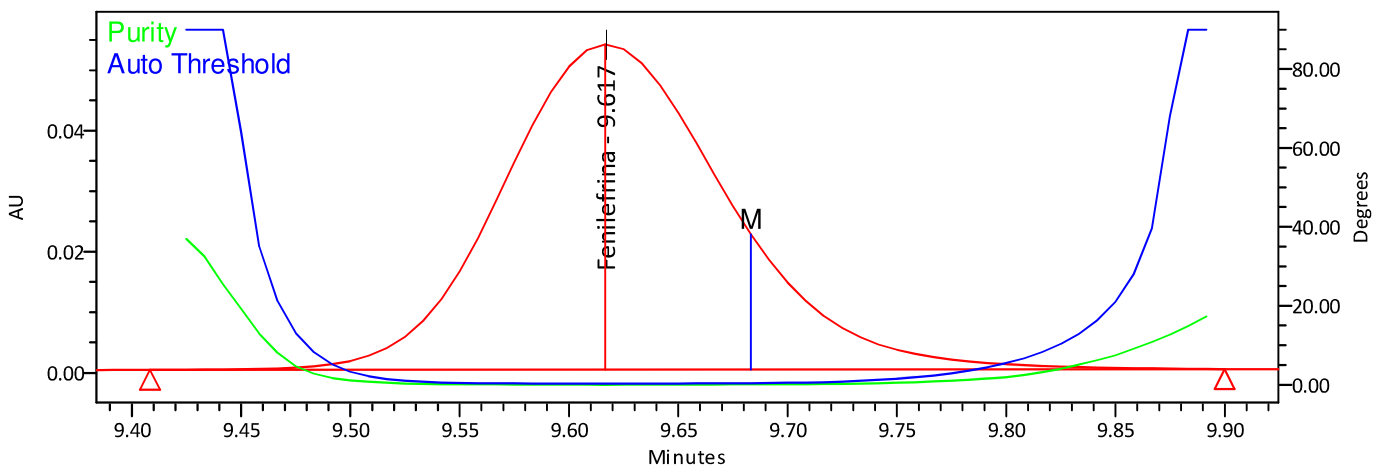
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.617



Nome da amostra: Fenilefrina + Caf Umid; Injeção: 1; Vial 2:B,3; Data de Aquisição: 11/7/2021 7:04:07 PM GMT+3; Id. Resultado: 70695; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

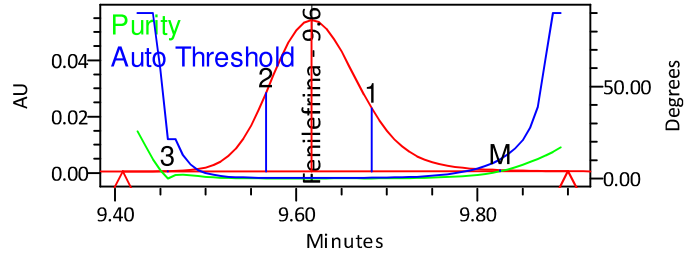
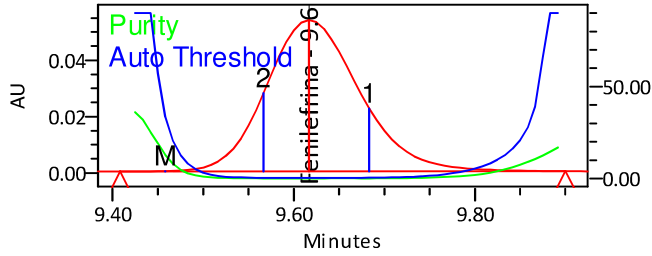
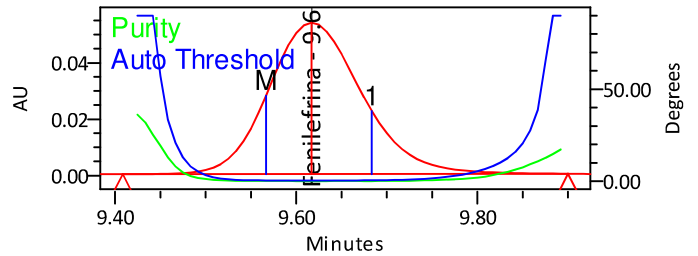
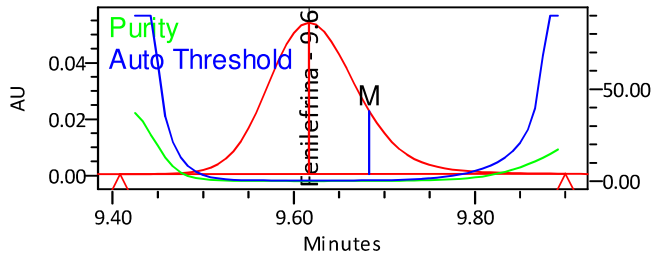
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.076 TH: 0.373

- SampleName Fenilefrina + Caf Umid Injection 1 Vial 2:B,3 Date Acquired 11/7/2021 7:04:07 PM GMT+3 Result Id 70695 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Caf Umid Injection 1 Vial 2:B,3 Date Acquired 11/7/2021 7:04:07 PM GMT+3 Result Id 70695 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

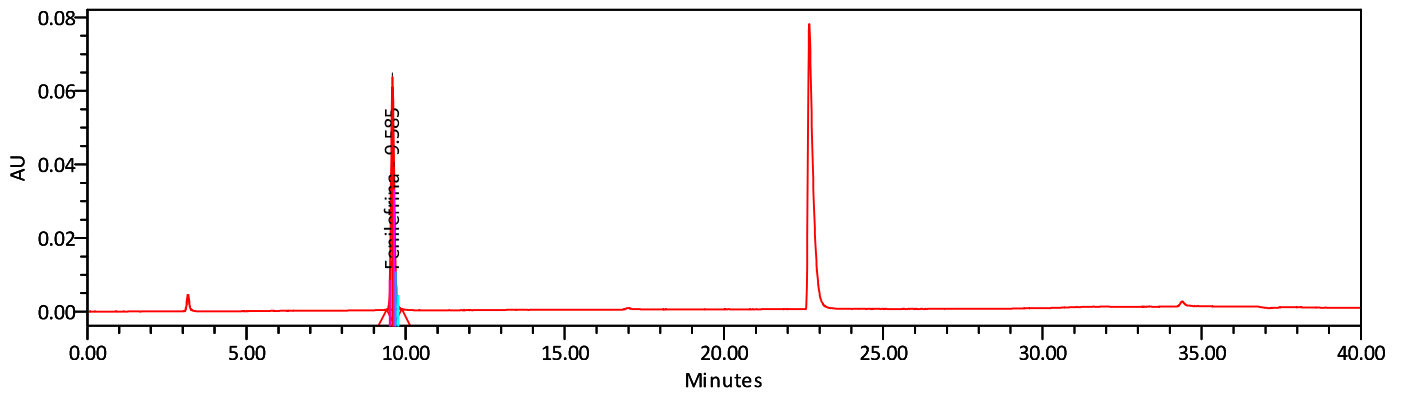
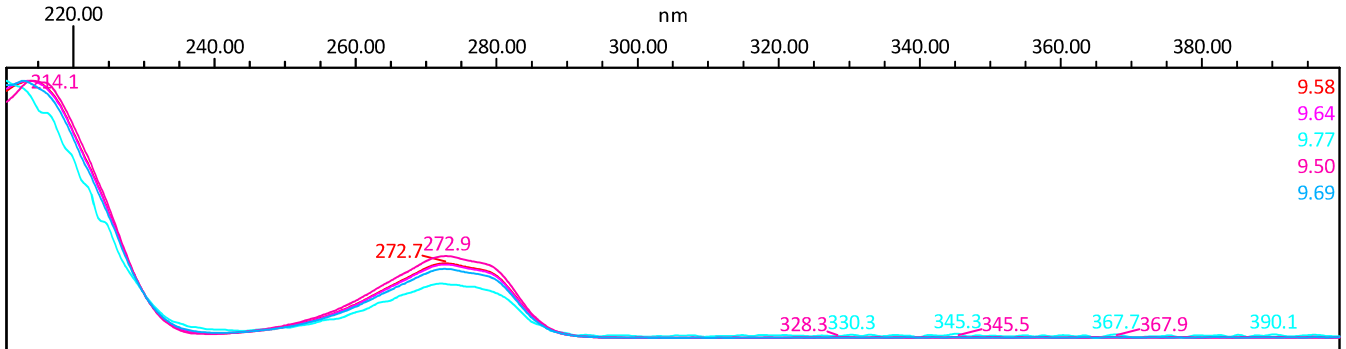
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Dexclor Inic

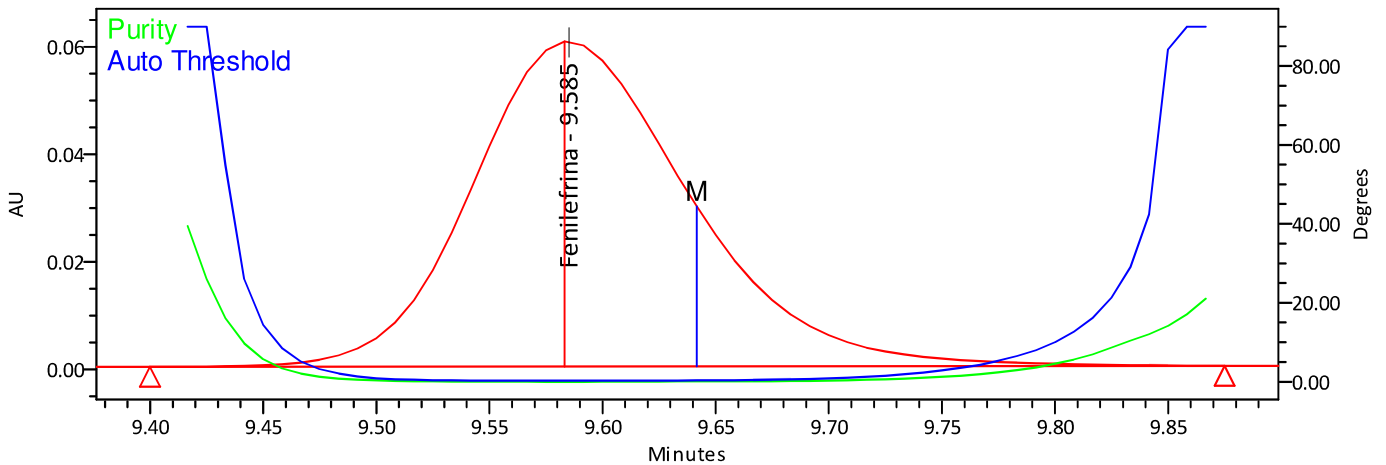
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.585



Nome da amostra: Fenilefrina + Dexclor Inic; Injeção: 1; Vial 2:C,5; Data de Aquisição: 11/8/2021 1:51:03 AM GMT+3; Id. Resultado: 70700; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

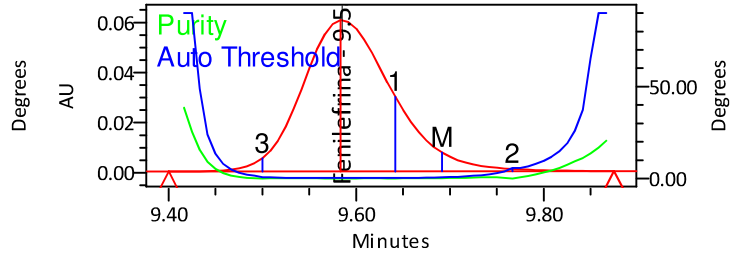
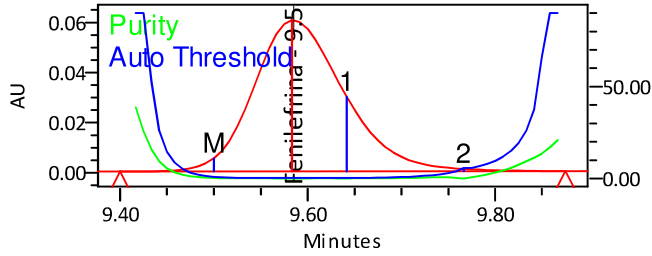
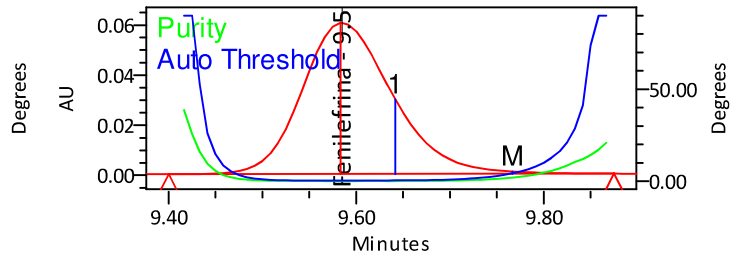
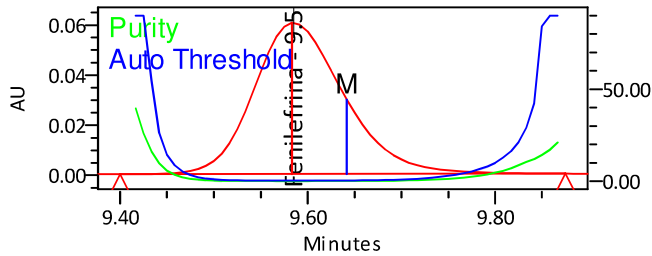
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.070 TH: 0.337

- SampleName Fenilefrina + Dexclor Inic Injection 1 Vial 2:C,5 Date Acquired 11/8/2021 1:51:03 AM GMT+3 Result Id 70700 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Dexclor Inic Injection 1 Vial 2:C,5 Date Acquired 11/8/2021 1:51:03 AM GMT+3 Result Id 70700 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

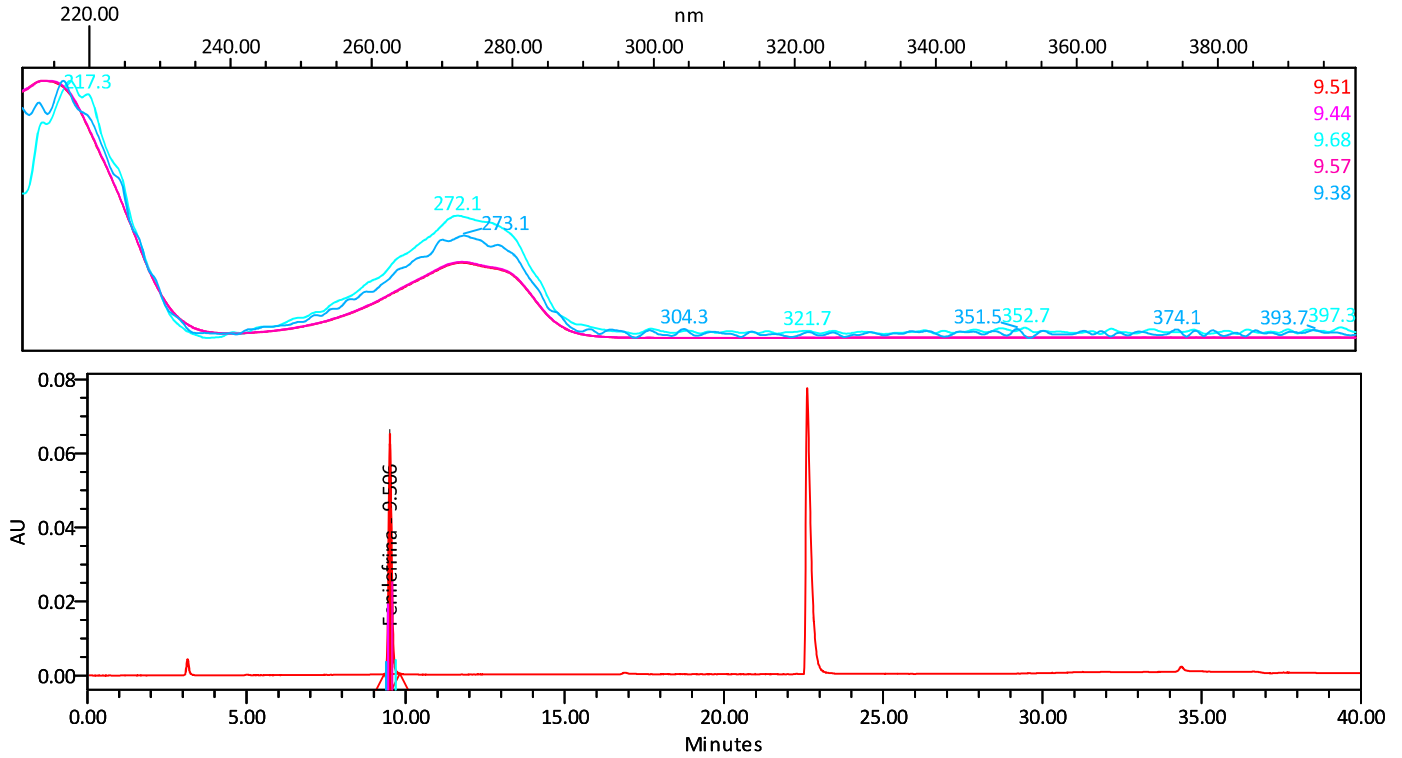
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto

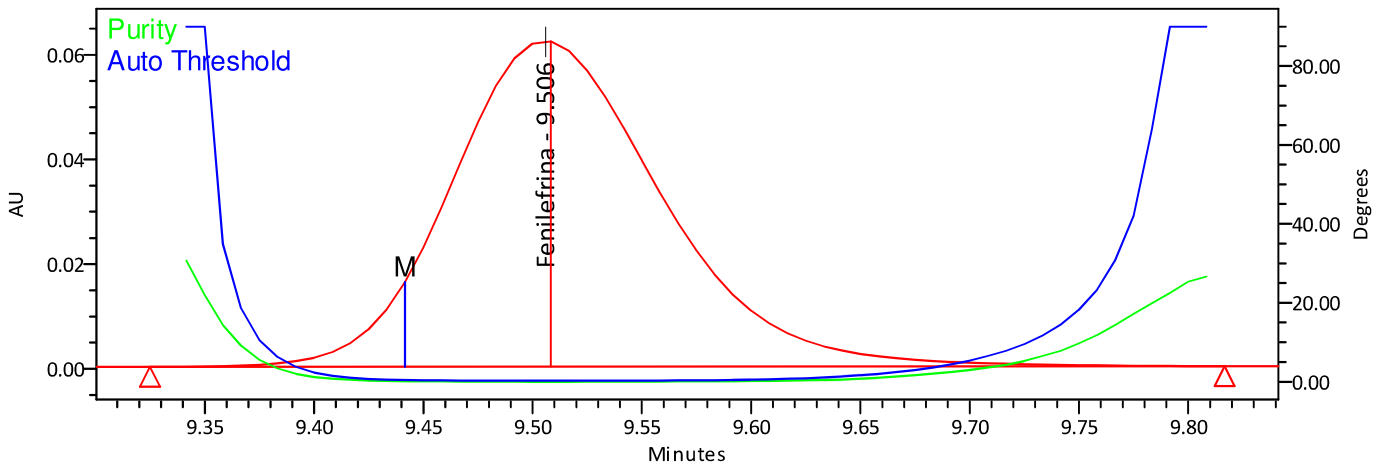
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.506



Nome da amostra: Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto; Injeção: 1; Vial 2:E,2; Data de Aquisição: 11/8/2021 12:01:20 PM GMT+3; Id. Resultado: 70706; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

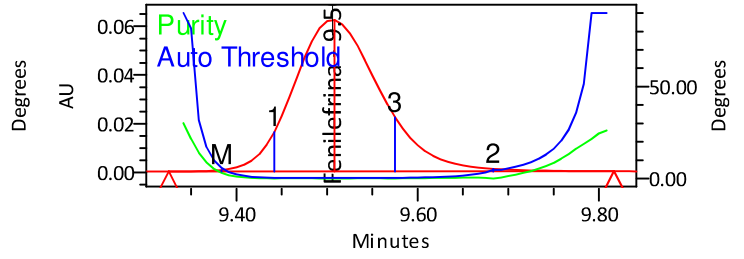
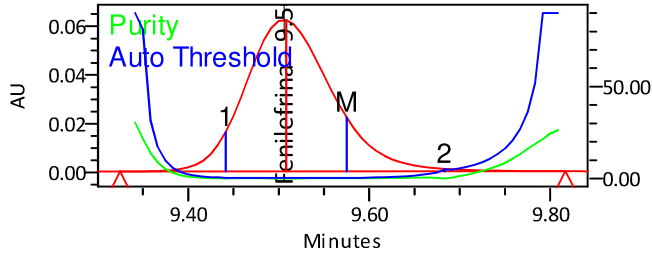
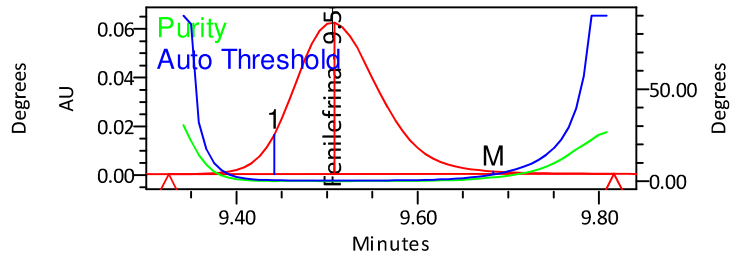
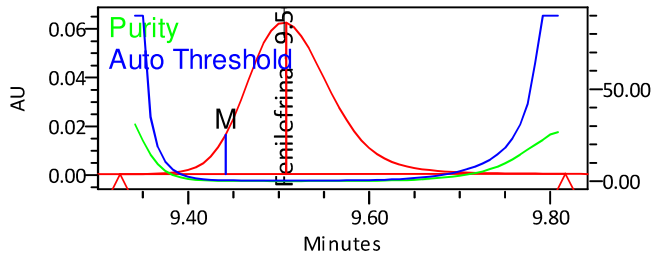
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.079 TH: 0.331

- SampleName Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto Injection 1 Vial 2:E,2 Date Acquired 11/8/2021 12:01:20 PM GMT+3 Result Id 70706
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Dexclorf Mal Foto Injection 1 Vial 2:E,2 Date Acquired 11/8/2021 12:01:20 PM GMT+3 Result Id 70706  
— Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

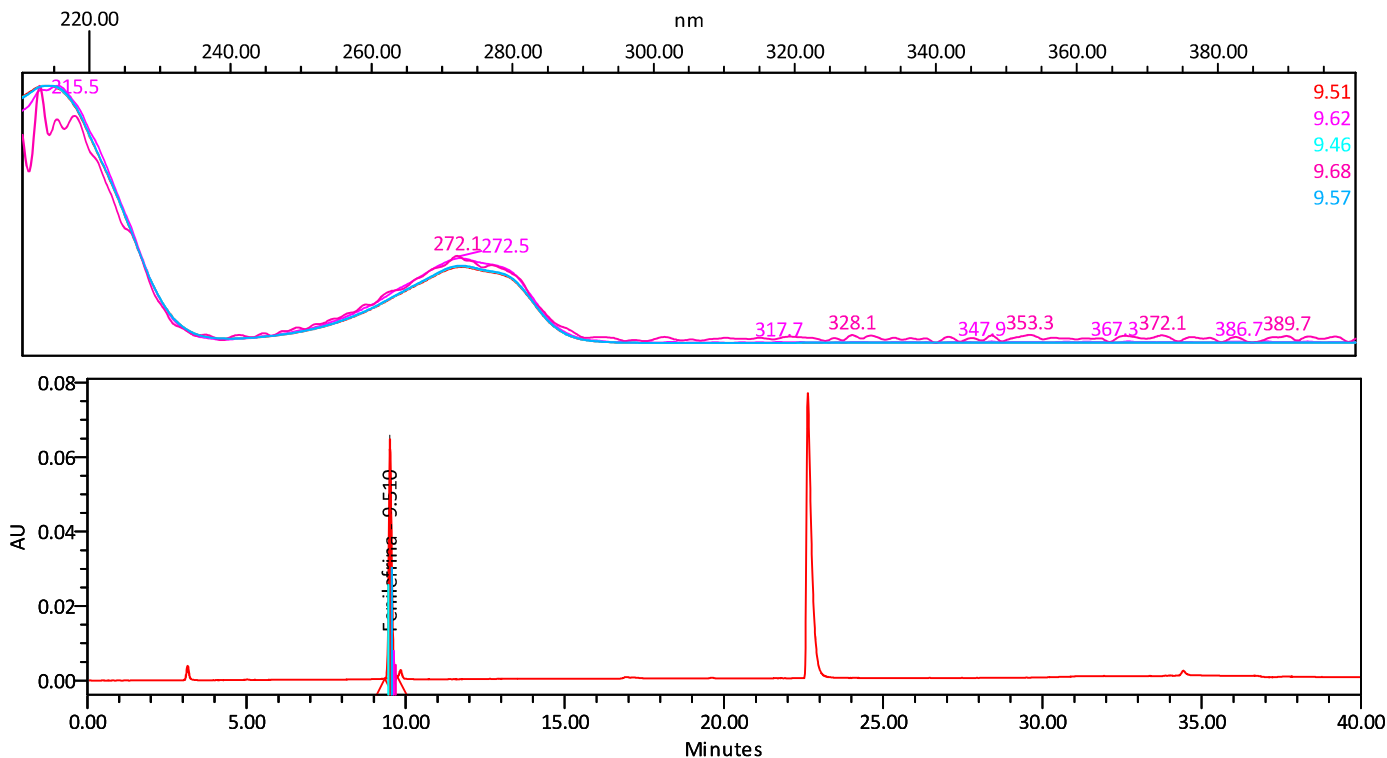
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Dexclorf Temp

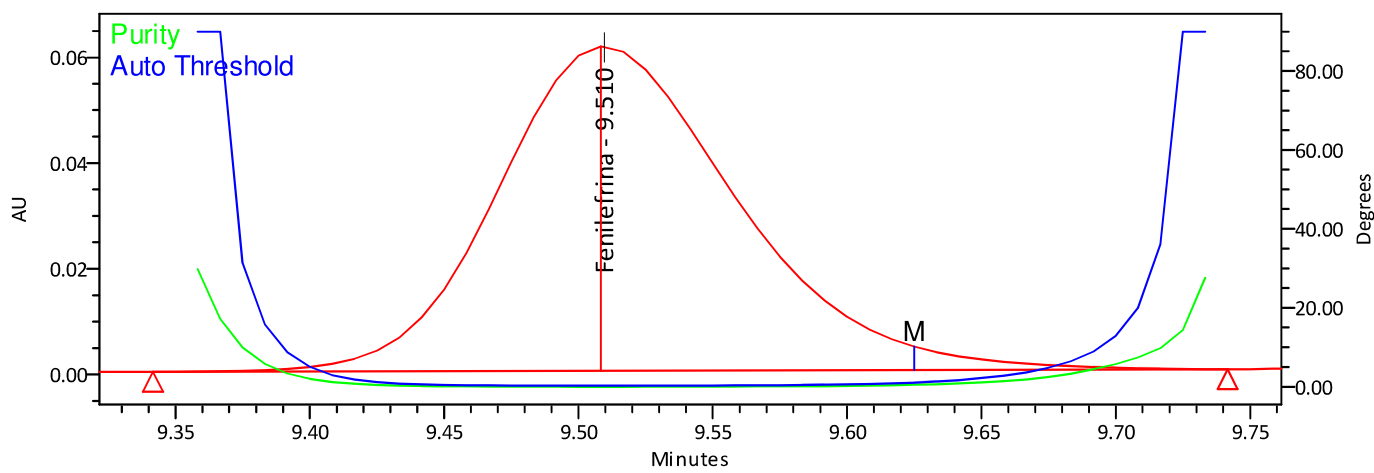
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.510



Nome da amostra: Fenilefrina + Dexclorf Temp; Injeção: 1; Vial 2:D,3; Data de Aquisição: 11/8/2021 5:55:10 AM GMT+3; Id. Resultado: 70705; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

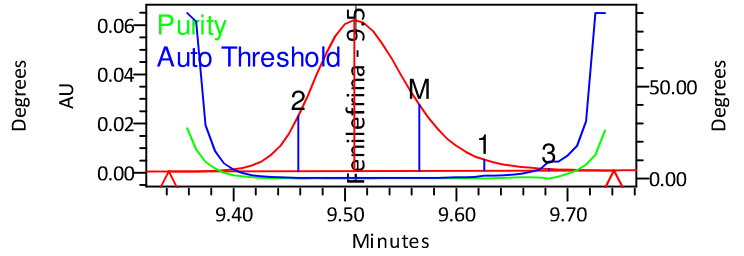
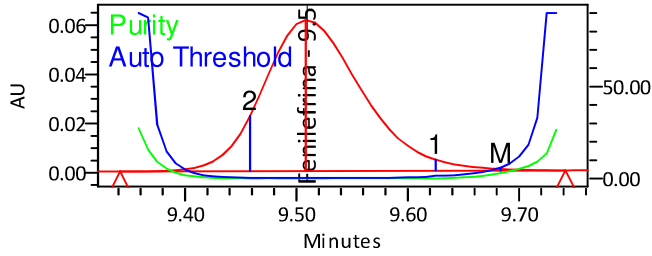
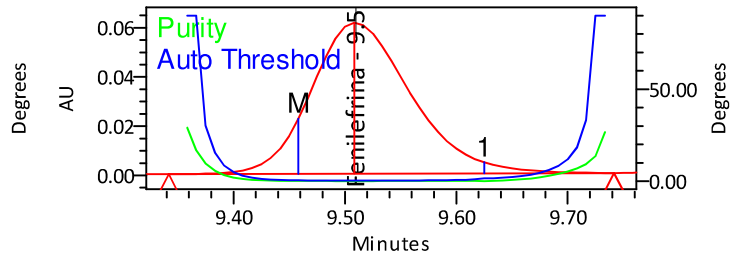
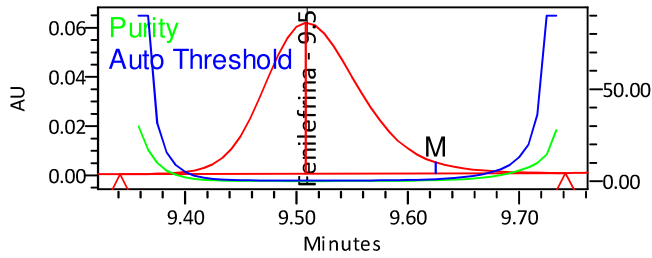
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.071 TH: 0.335

- SampleName Fenilefrina + Dexclorf Temp Injection 1 Vial 2:D,3 Date Acquired 11/8/2021 5:55:10 AM GMT+3 Result Id 70705 Processed
- Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Dexclorf Temp Injection 1 Vial 2:D,3 Date Acquired 11/8/2021 5:55:10 AM GMT+3 Result Id 70705 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

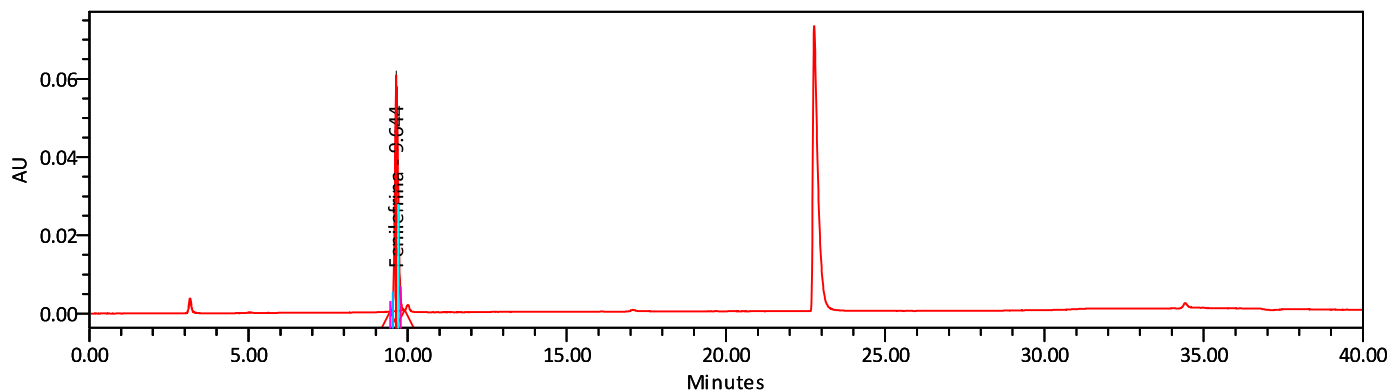
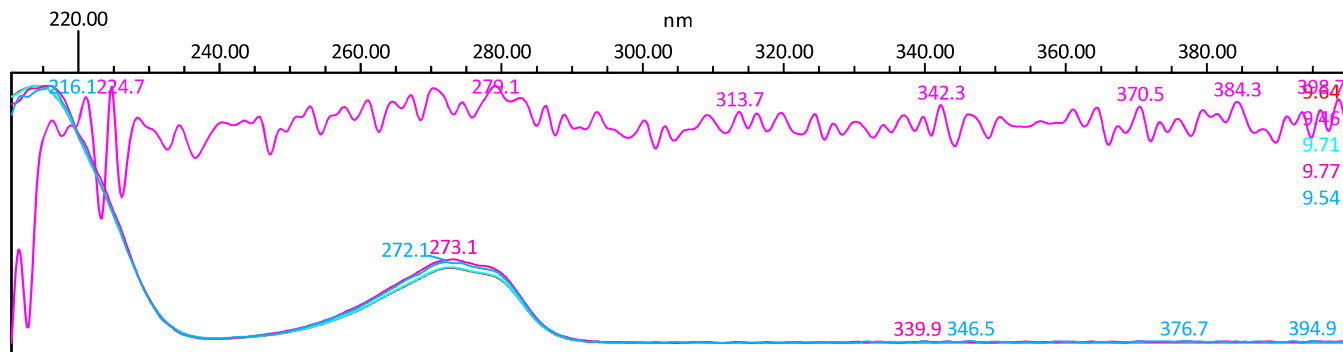
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Dexclor Umid

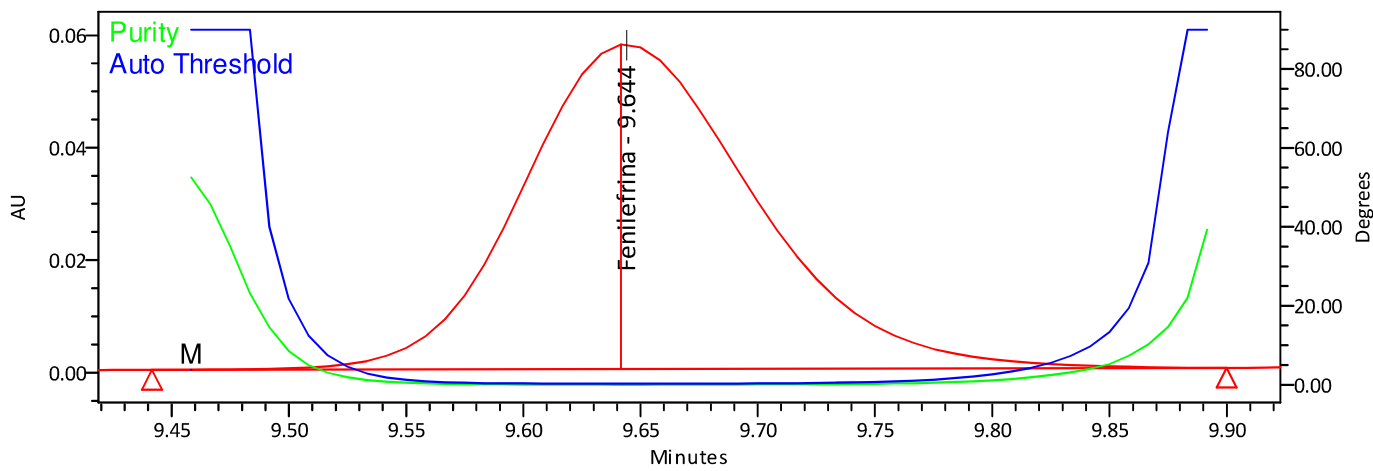
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.644



Nome da amostra: Fenilefrina + Dexclor Umid; Injeção: 1; Vial 2:B,5; Data de Aquisição: 11/7/2021 8:25:30 PM GMT+3; Id. Resultado: 70697; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

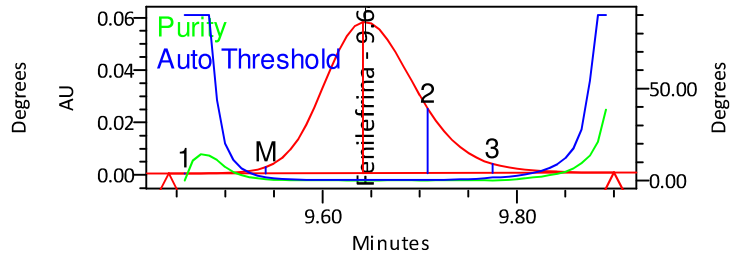
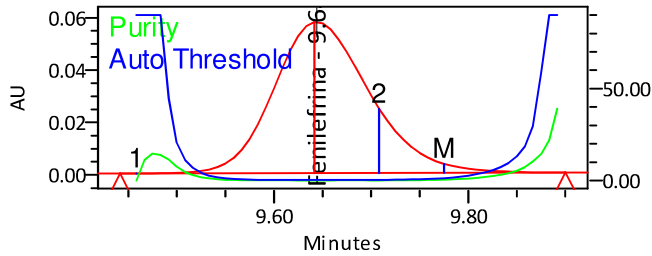
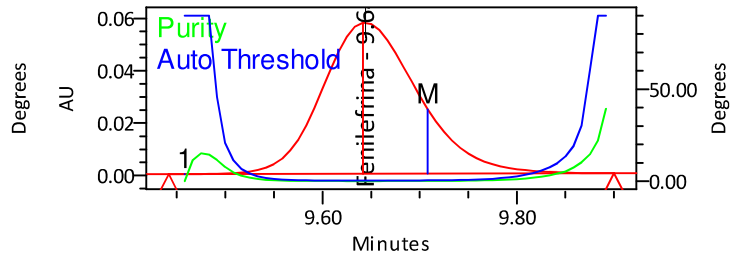
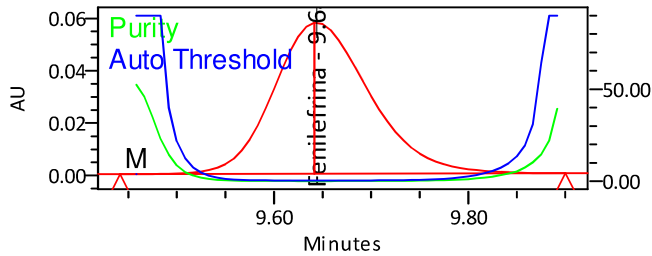
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.073 TH: 0.343

- SampleName Fenilefrina + Dexclor Umid Injection 1 Vial 2:B,5 Date Acquired 11/7/2021 8:25:30 PM GMT+3 Result Id 70697 Processed
- Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Dexclor Umid Injection 1 Vial 2:B,5 Date Acquired 11/7/2021 8:25:30 PM GMT+3 Result Id 70697 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

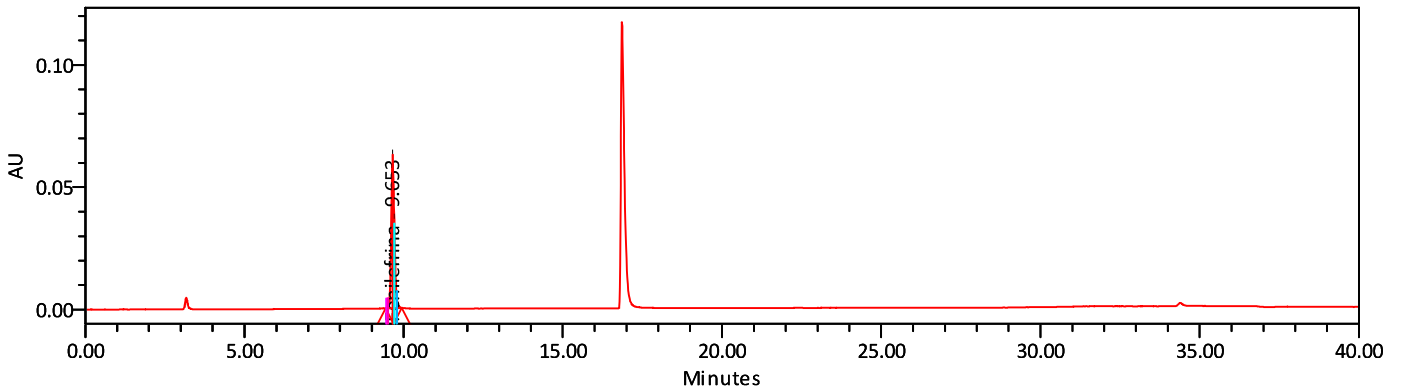
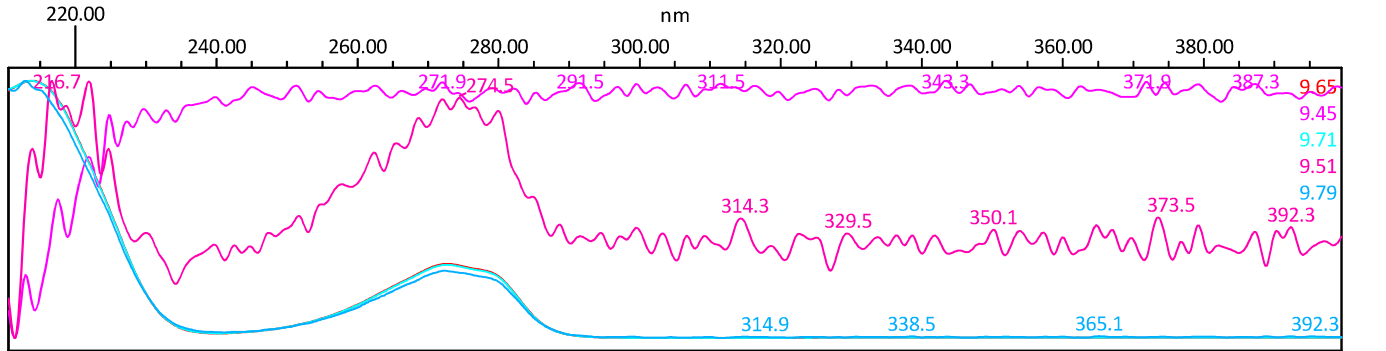
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Feniramina Inic

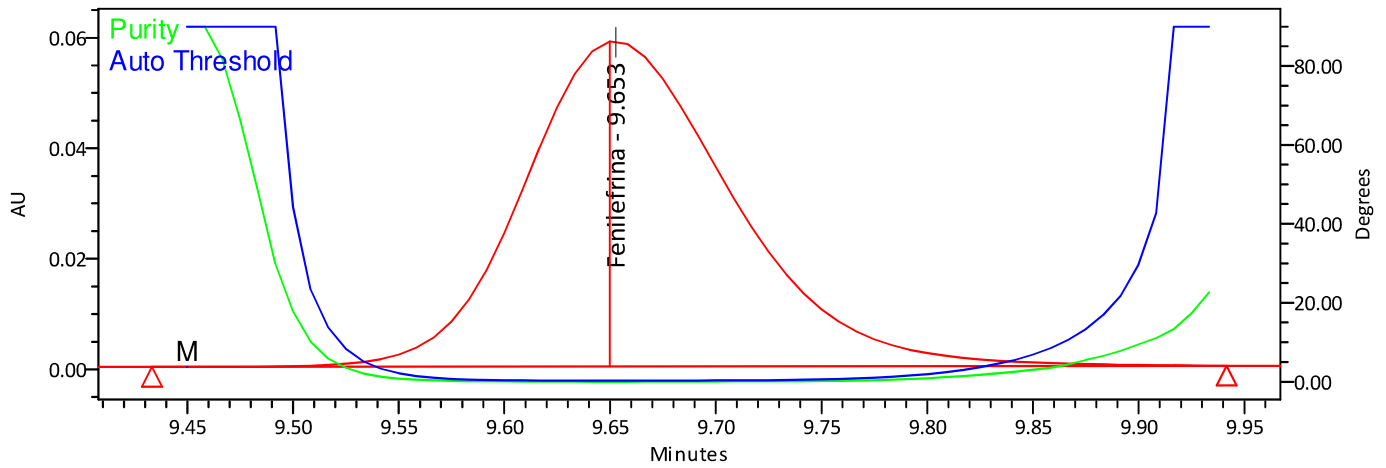
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.653



Nome da amostra: Fenilefrina + Feniramina Inic; Injeção: 1; Vial 2:C,3; Data de Aquisição: 11/8/2021 12:29:40 AM GMT+3; Id. Resultado: 70698; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

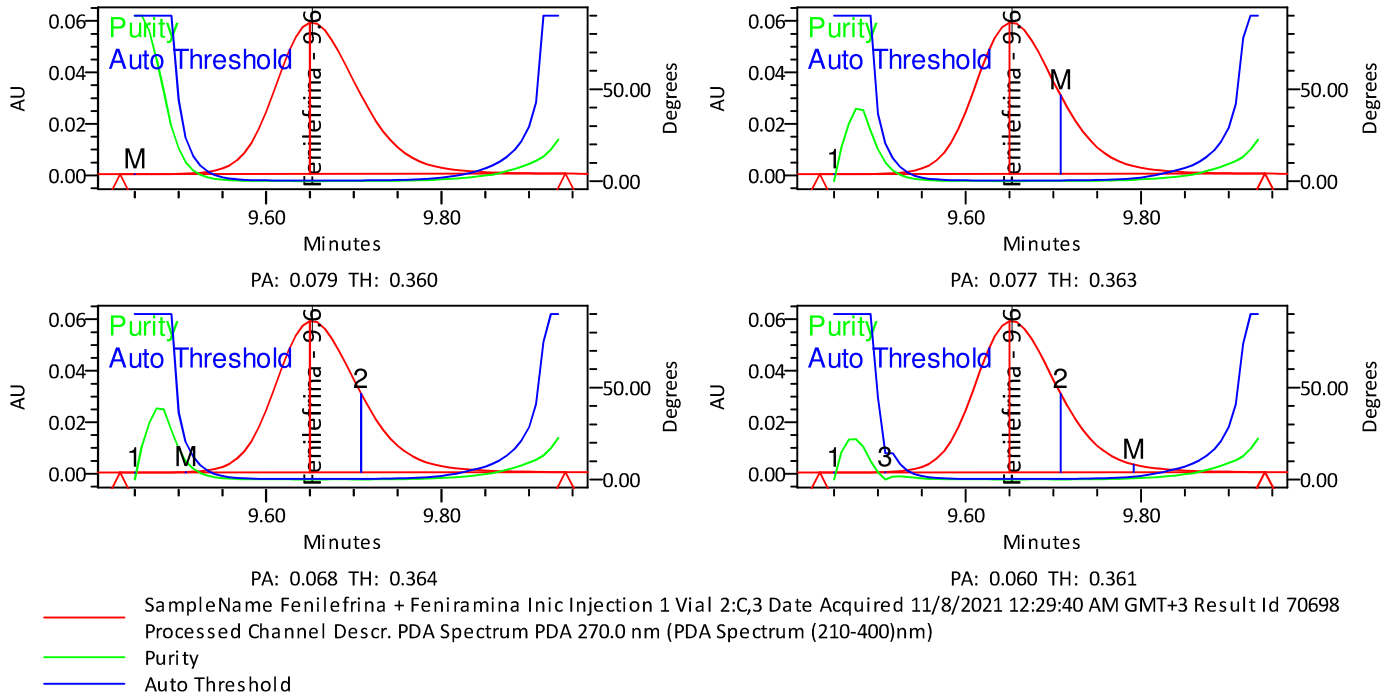
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.079 TH: 0.360

- SampleName Fenilefrina + Feniramina Inic Injection 1 Vial 2:C,3 Date Acquired 11/8/2021 12:29:40 AM GMT+3 Result Id 70698
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

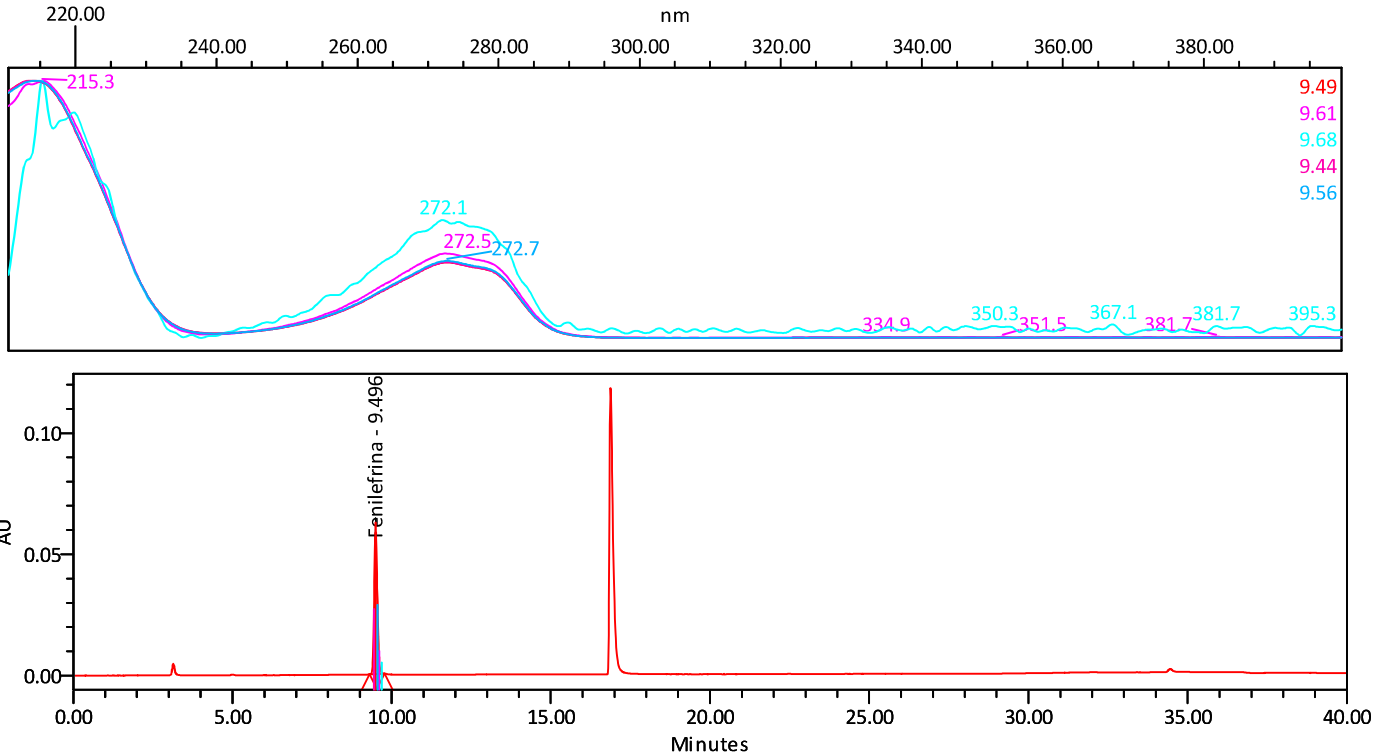
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Feniramina Foto

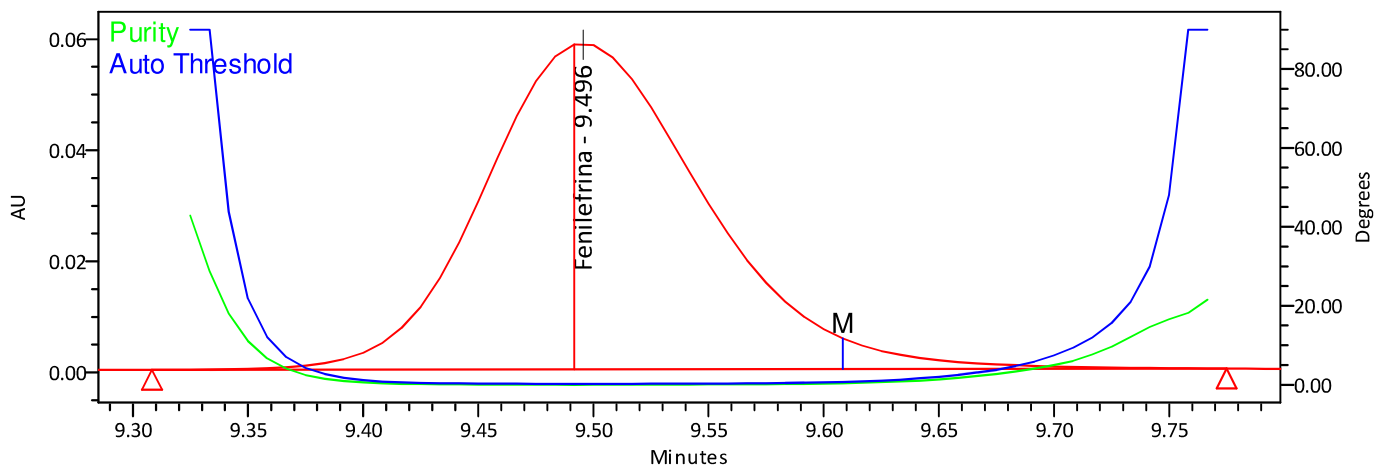
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.496



Nome da amostra: Fenilefrina + Feniramina Foto; Injeção: 1; Vial 2:A,4; Data de Aquisição: 11/7/2021 2:19:17 PM GMT+3; Id. Resultado: 70690; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

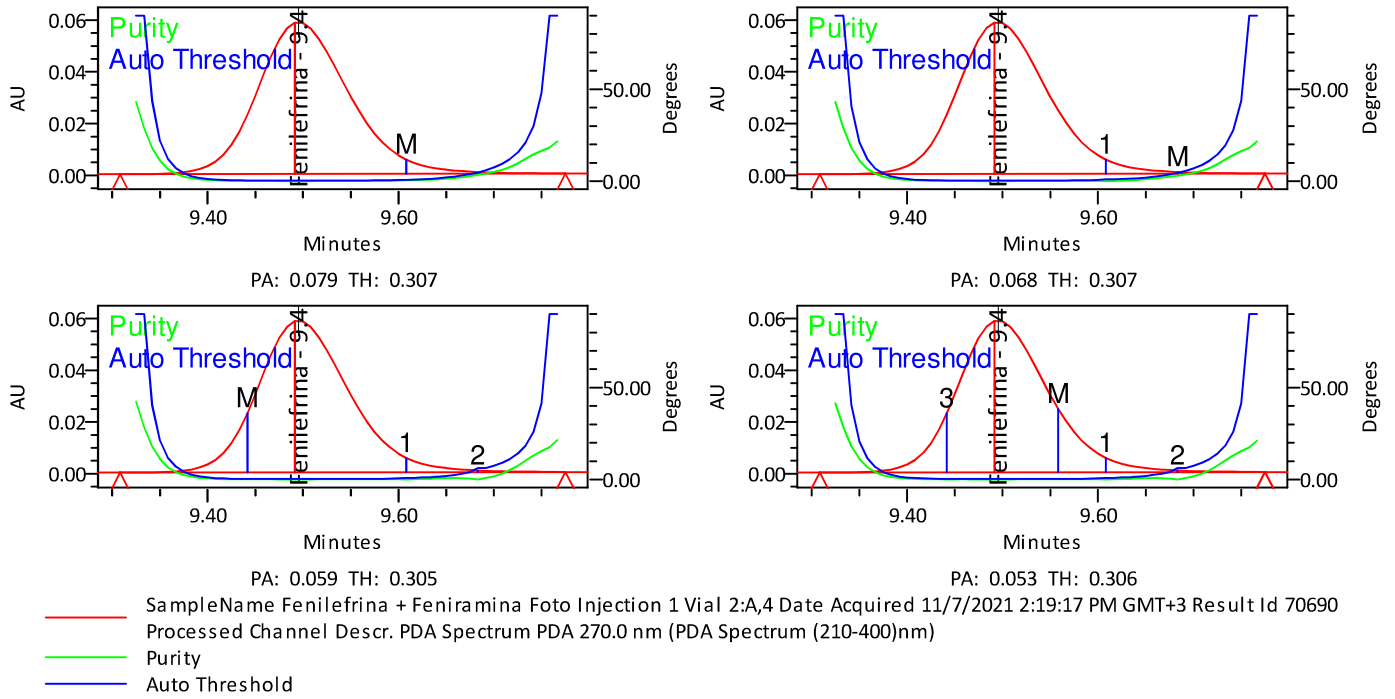
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.079 TH: 0.307

- SampleName Fenilefrina + Feniramina Foto Injection 1 Vial 2:A,4 Date Acquired 11/7/2021 2:19:17 PM GMT+3 Result Id 70690
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

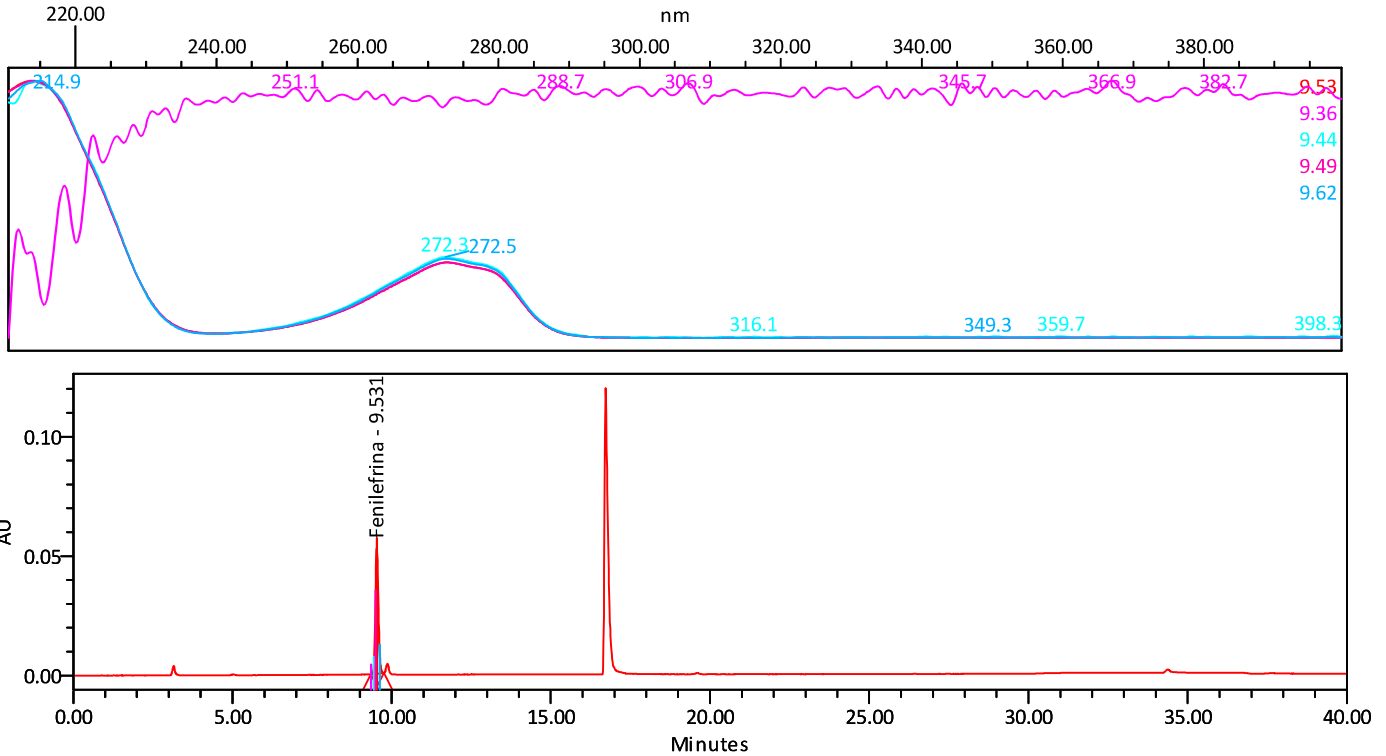
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Feniramina Mal Temp

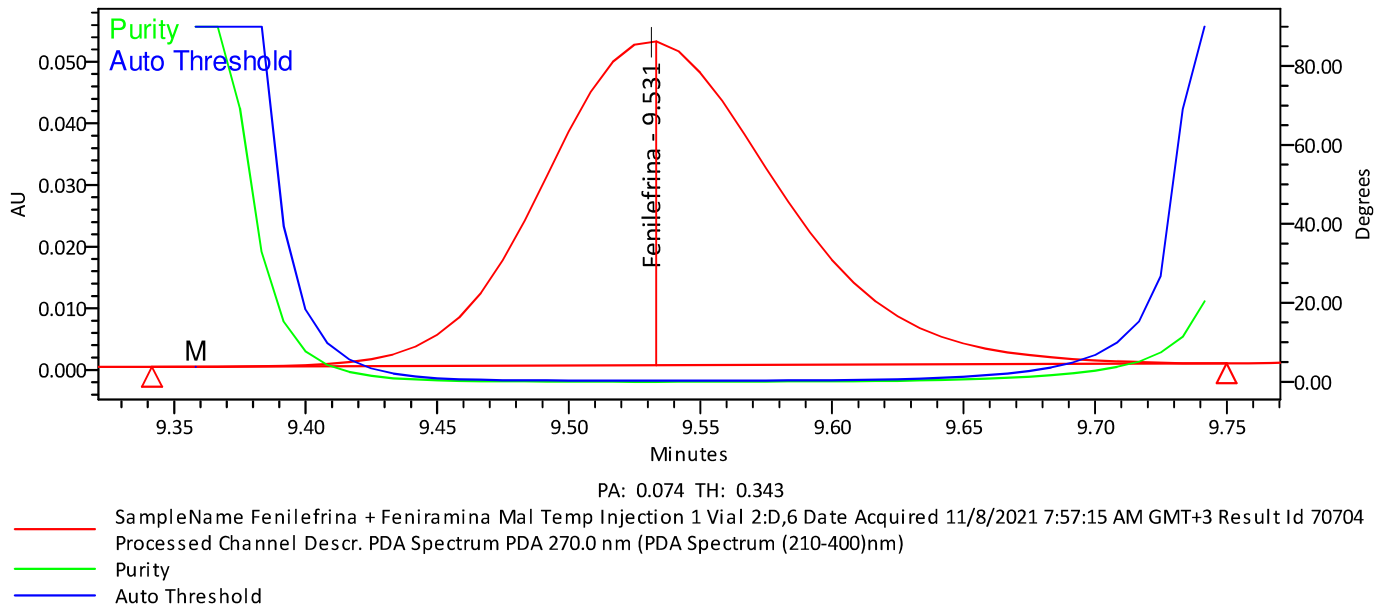
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.531

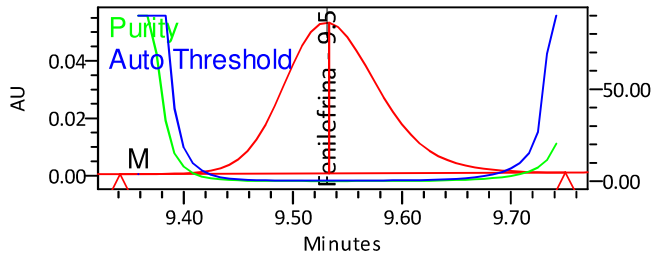


Nome da amostra: Fenilefrina + Feniramina Mal Temp; Injeção: 1; Vial 2:D,6; Data de Aquisição: 11/8/2021 7:57:15 AM GMT+3; Id. Resultado: 70704; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

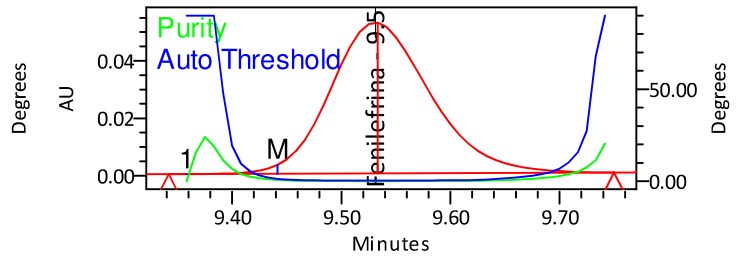
**Purity Plot Fraction**



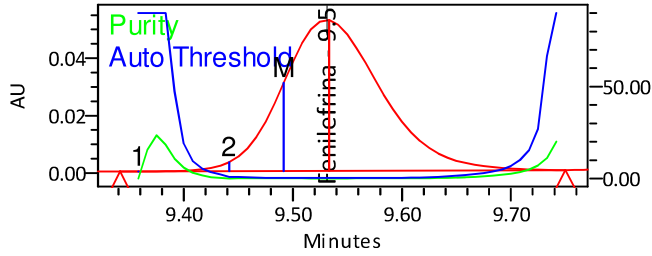
### Purity Plot



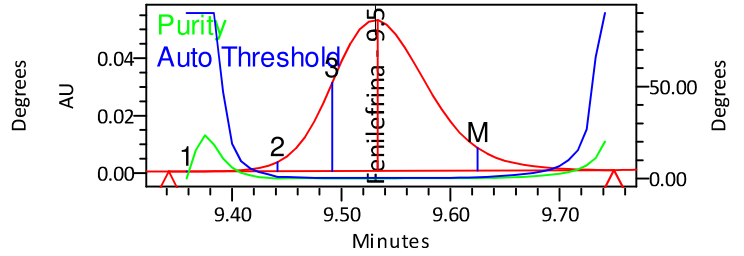
PA: 0.074 TH: 0.343



PA: 0.069 TH: 0.346



PA: 0.057 TH: 0.345



PA: 0.053 TH: 0.346

- SampleName Fenilefrina + Feniramina Mal Temp Injection 1 Vial 2:D,6 Date Acquired 11/8/2021 7:57:15 AM GMT+3 Result Id 70704
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

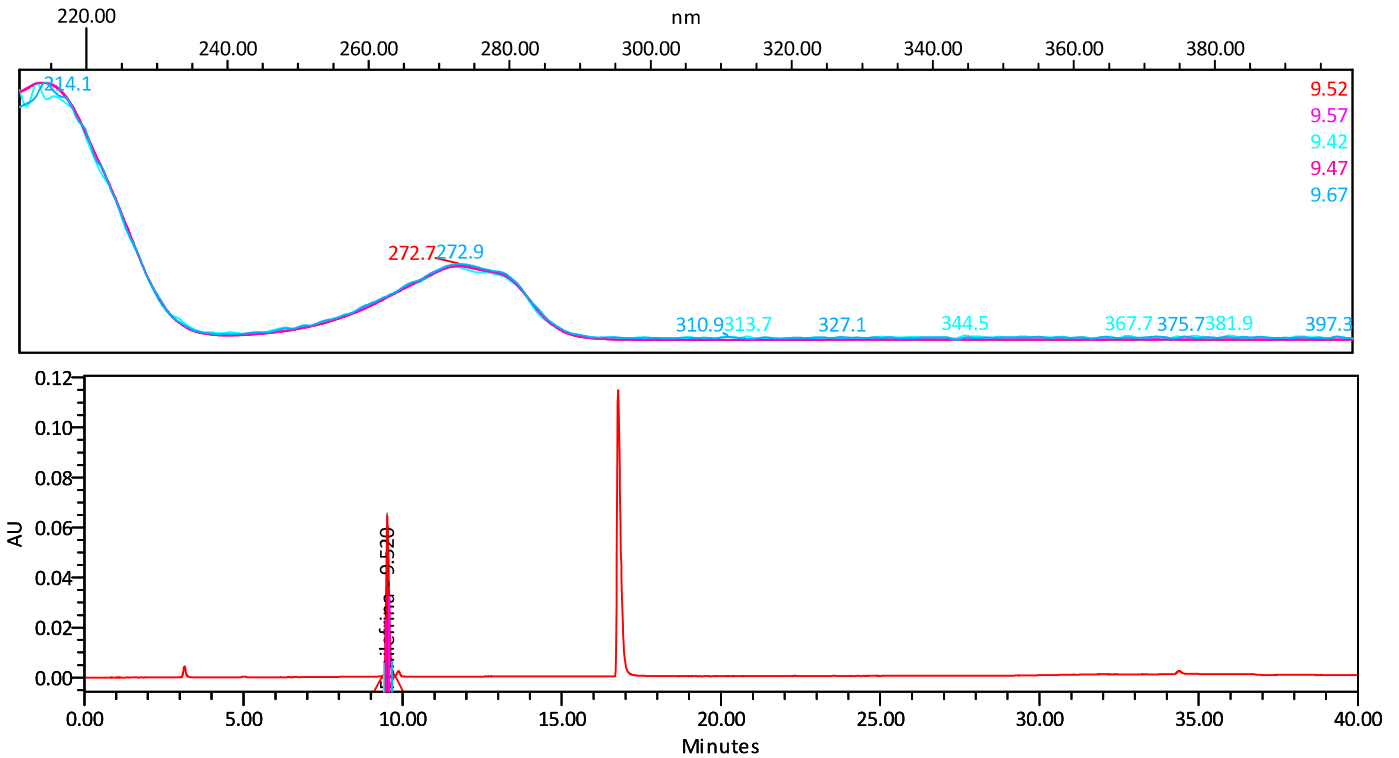
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Fenira Umidade

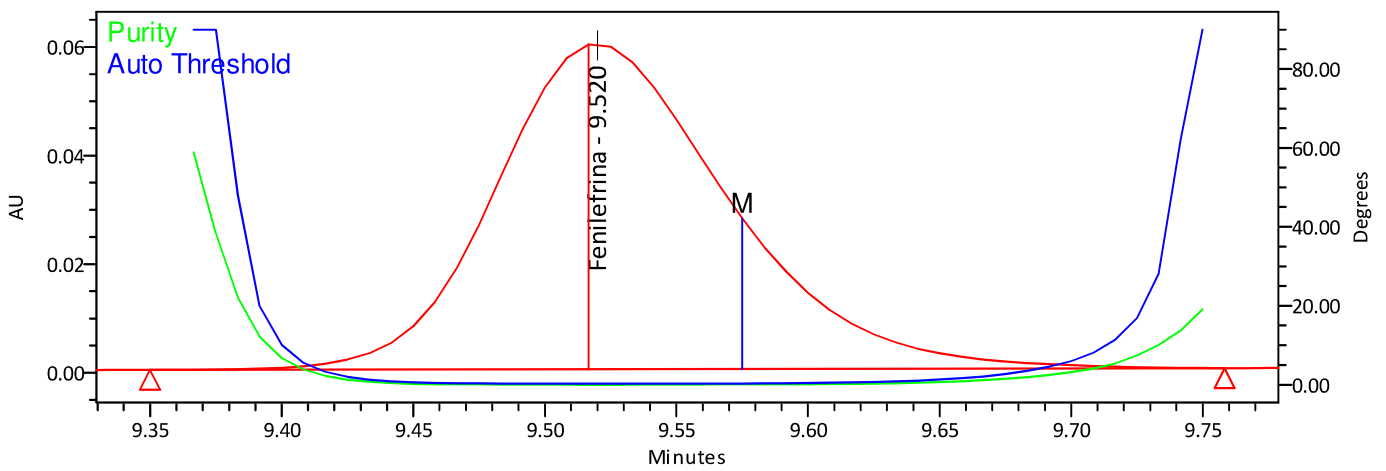
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.520



Nome da amostra: Fenilefrina + Fenira Umidade; Injeção: 1; Vial 2:A,7; Data de Aquisição: 11/7/2021 4:21:20 PM GMT+3; Id. Resultado: 70693; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

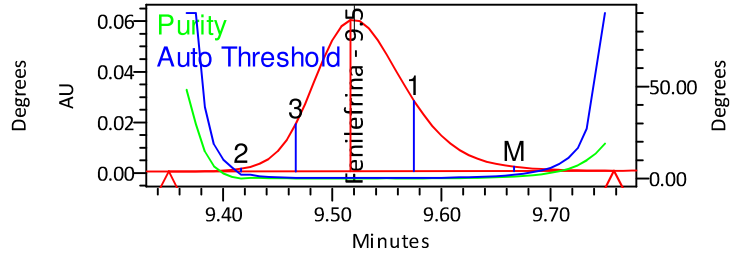
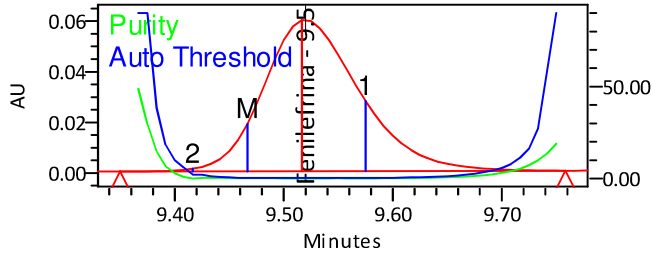
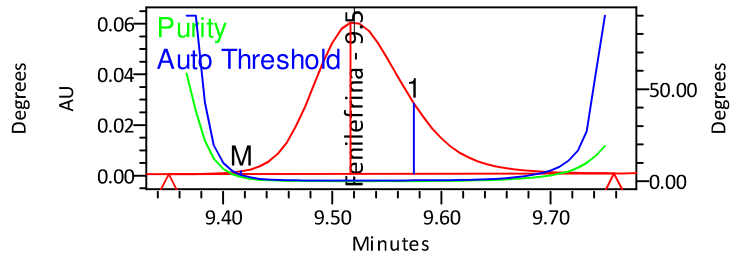
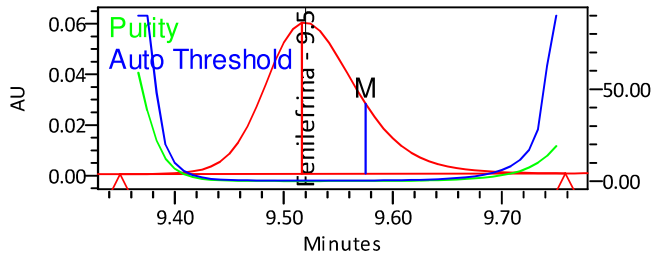
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.076 TH: 0.315

- SampleName Fenilefrina + Fenira Umidade Injection 1 Vial 2:A,7 Date Acquired 11/7/2021 4:21:20 PM GMT+3 Result Id 70693
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- SampleName Fenilefrina + Fenira Umidade Injection 1 Vial 2:A,7 Date Acquired 11/7/2021 4:21:20 PM GMT+3 Result Id 70693
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

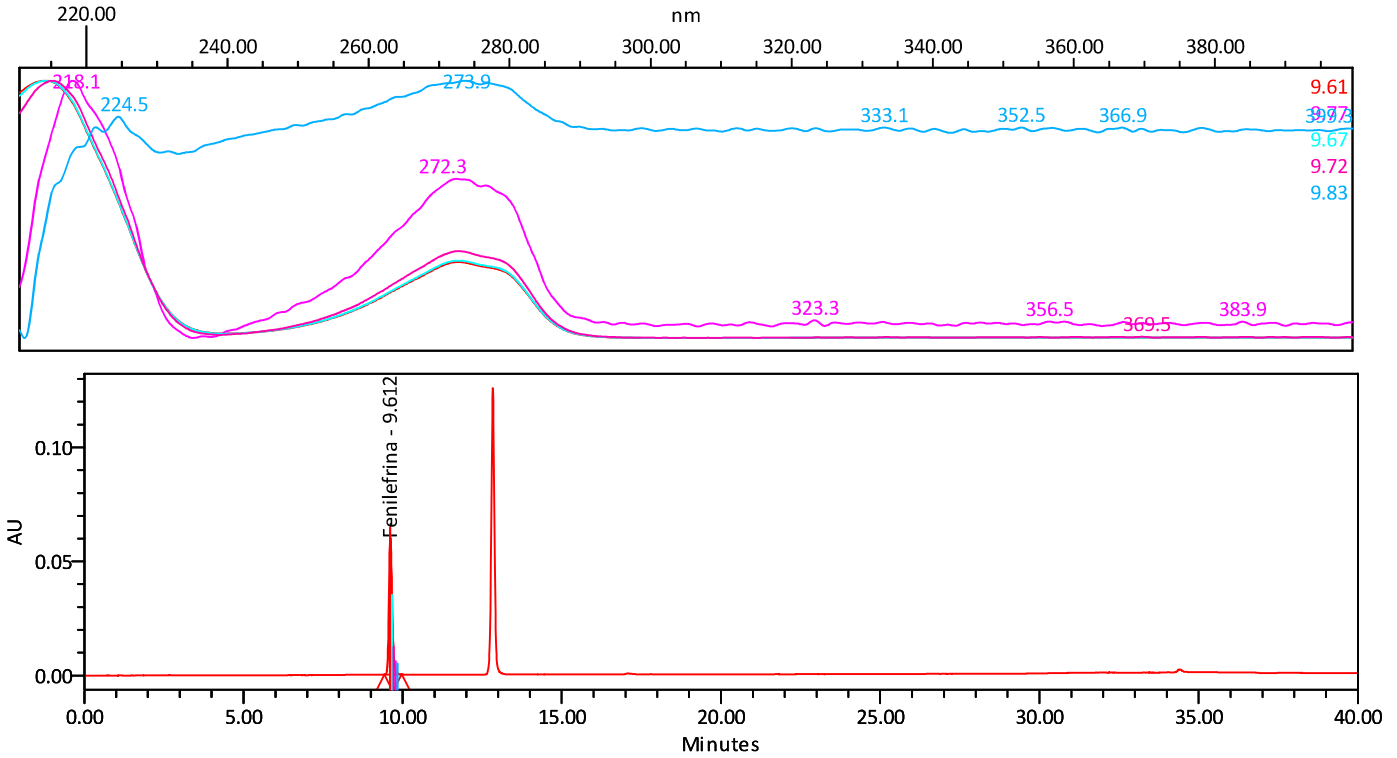
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Paracetamo Inic

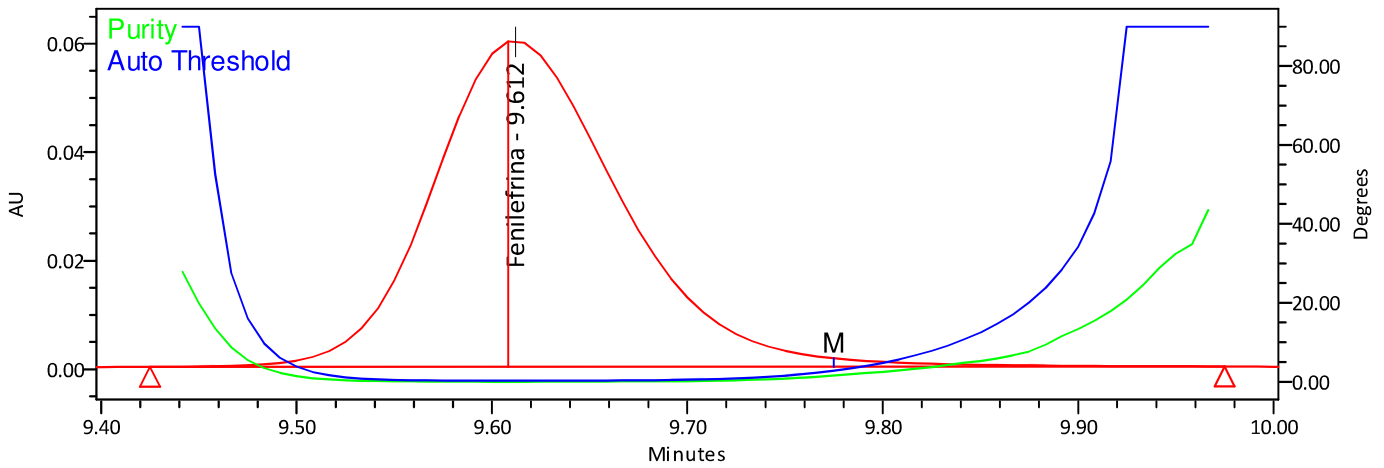
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.612



Nome da amostra: Fenilefrina + Paracetamo Inic; Injeção: 1; Vial 2:C,1; Data de Aquisição: 11/7/2021 11:08:13 PM GMT+3; Id. Resultado: 70696; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

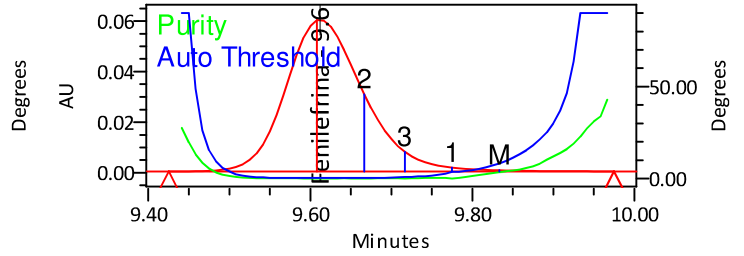
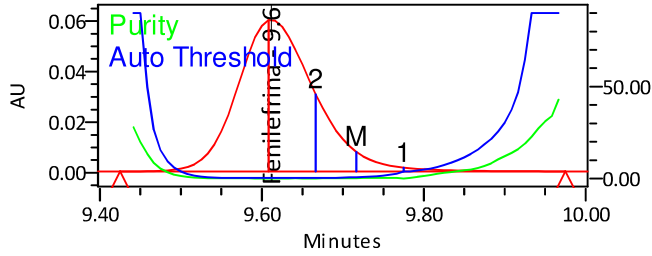
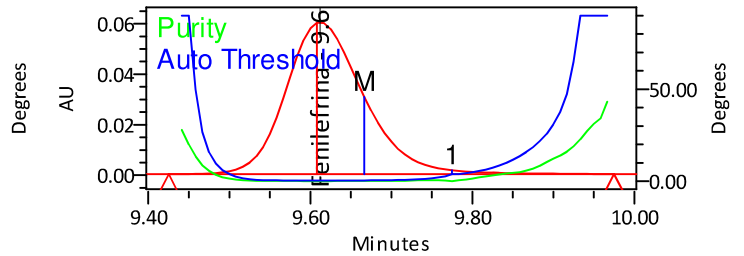
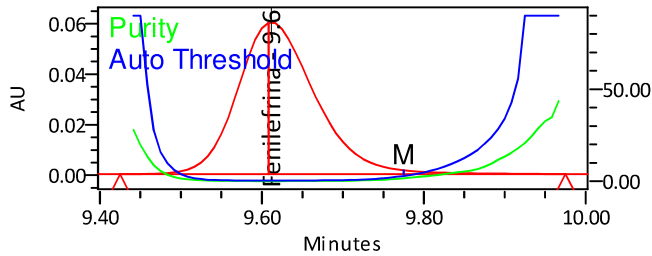
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.085 TH: 0.364

- SampleName Fenilefrina + Paracetamo Inic Injection 1 Vial 2:C,1 Date Acquired 11/7/2021 11:08:13 PM GMT+3 Result Id 70696
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Paracetamo Inic Injection 1 Vial 2:C,1 Date Acquired 11/7/2021 11:08:13 PM GMT+3 Result Id 70696  
— Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

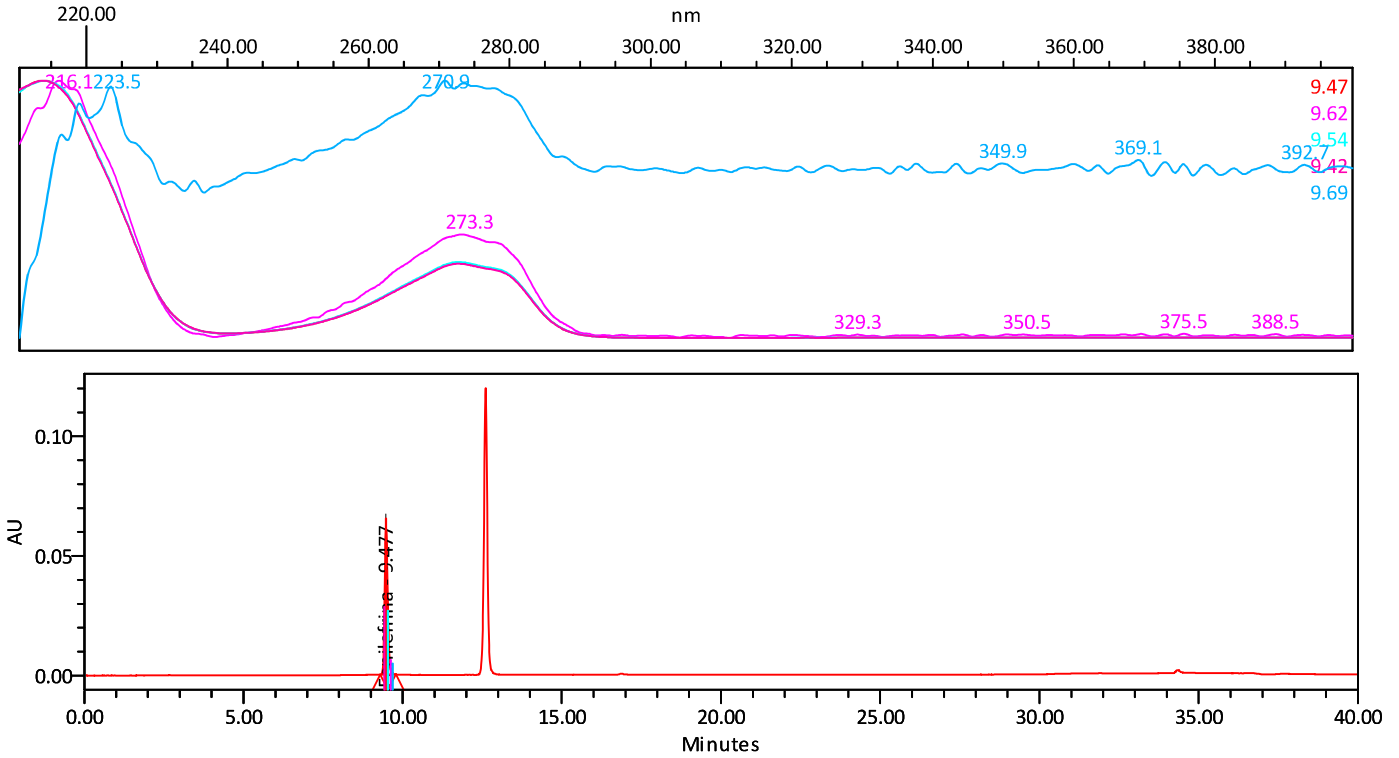
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Paracetamol Foto

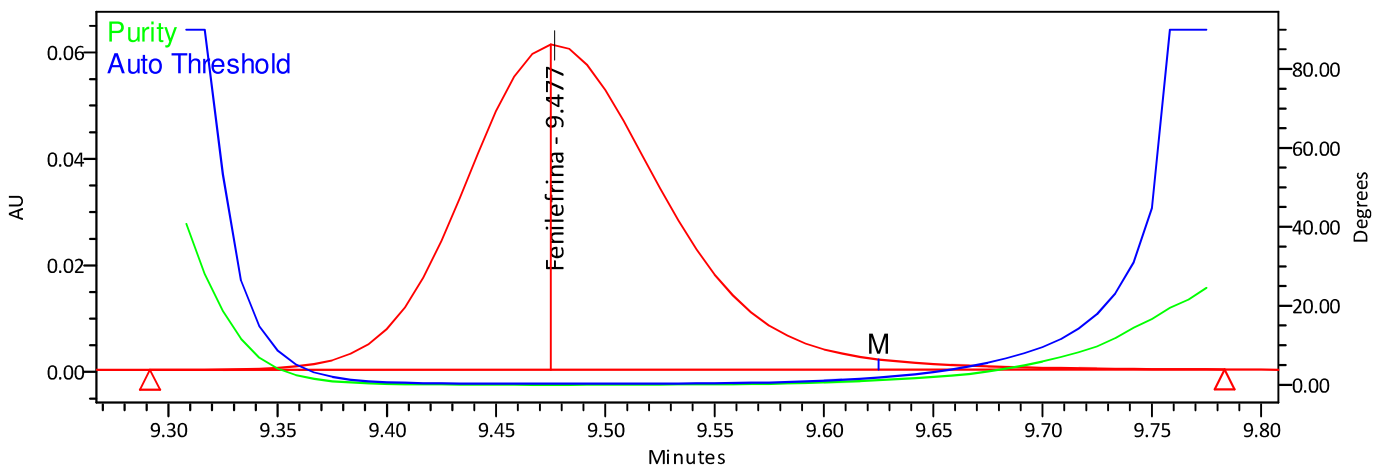
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.477



Nome da amostra: Fenilefrina + Paracetamol Foto; Injeção: 1; Vial 2:E,6; Data de Aquisição: 11/8/2021 2:44:03 PM GMT+3; Id. Resultado: 70709; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

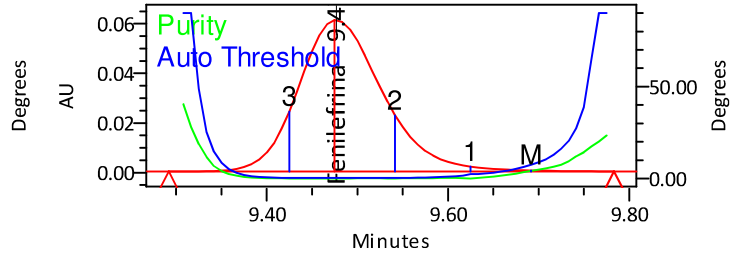
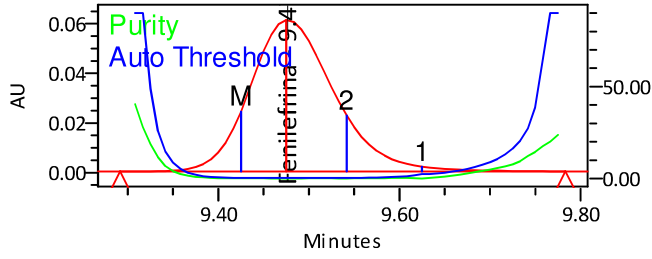
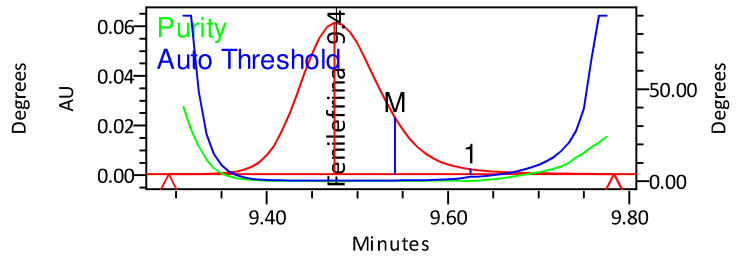
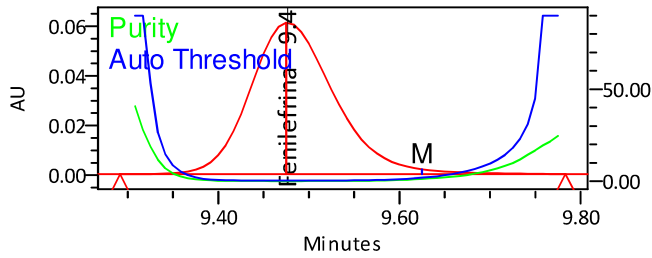
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.080 TH: 0.321

- SampleName Fenilefrina + Paracetamol Foto Injection 1 Vial 2:E,6 Date Acquired 11/8/2021 2:44:03 PM GMT+3 Result Id 70709
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Paracetamol Foto Injection 1 Vial 2:E,6 Date Acquired 11/8/2021 2:44:03 PM GMT+3 Result Id 70709  
— Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

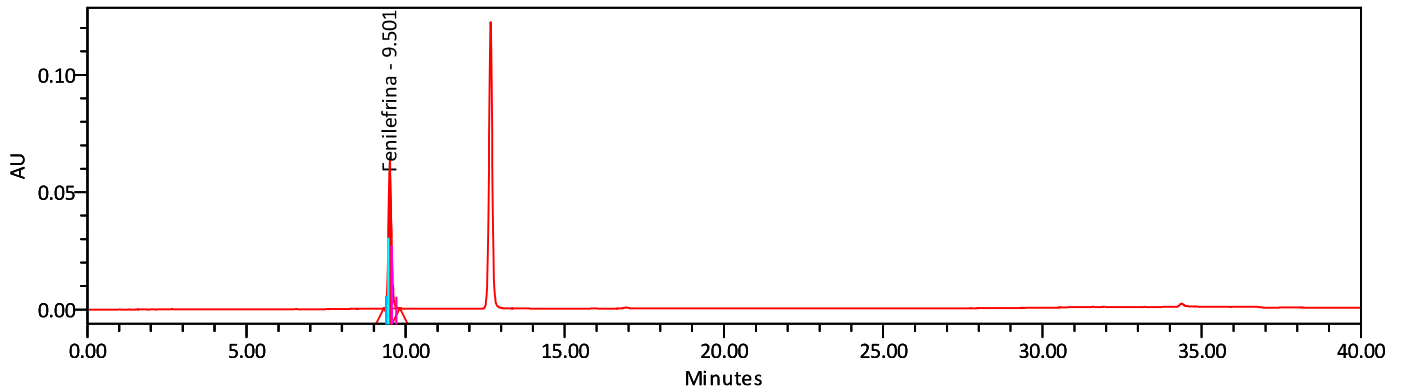
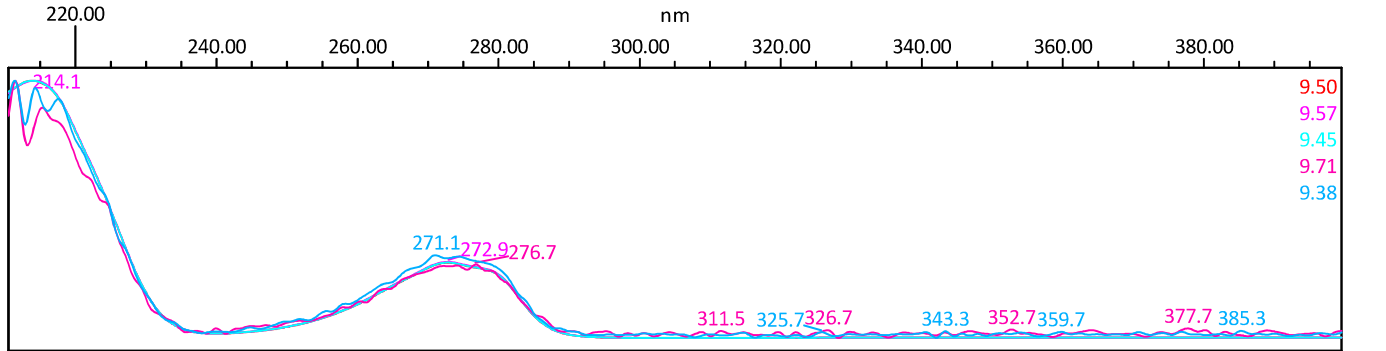
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Paracetamol Temp

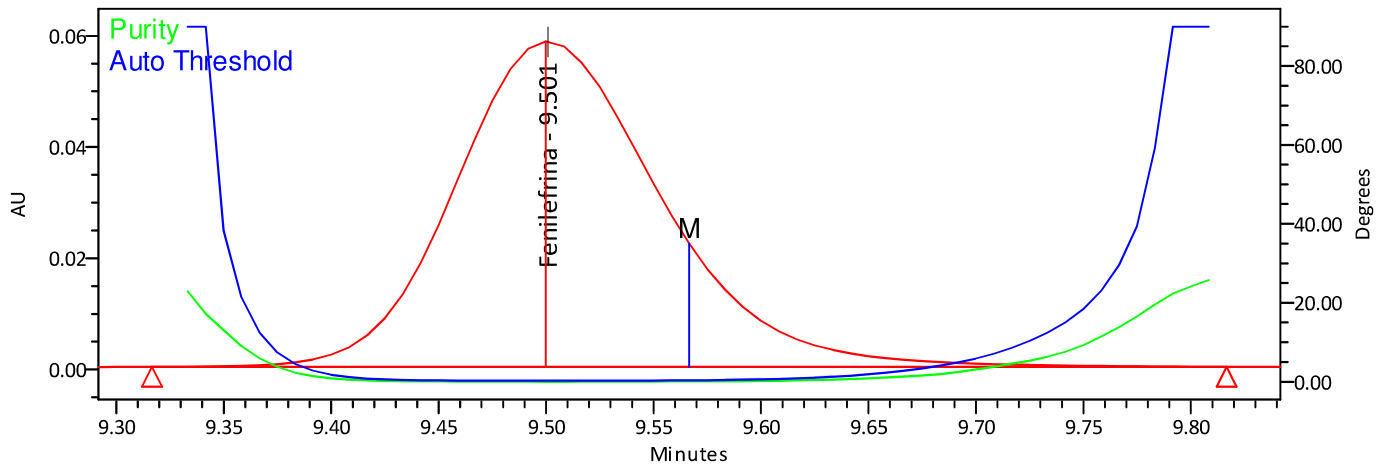
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.501



Nome da amostra: Fenilefrina + Paracetamol Temp; Injeção: 1; Vial 2:E,1; Data de Aquisição: 11/8/2021 11:20:40 AM GMT+3; Id. Resultado: 70707; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

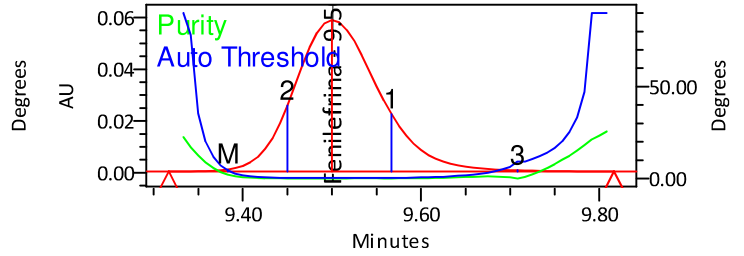
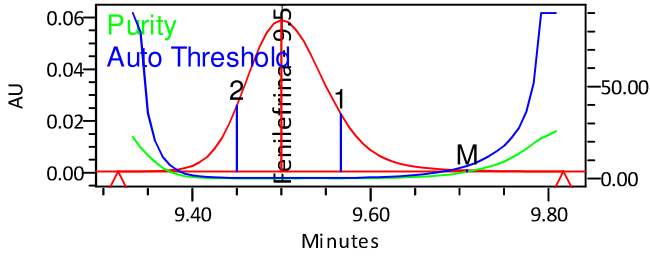
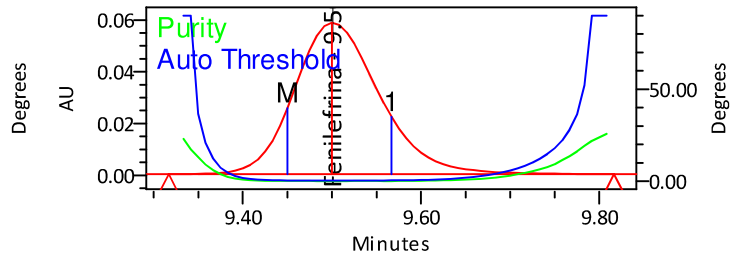
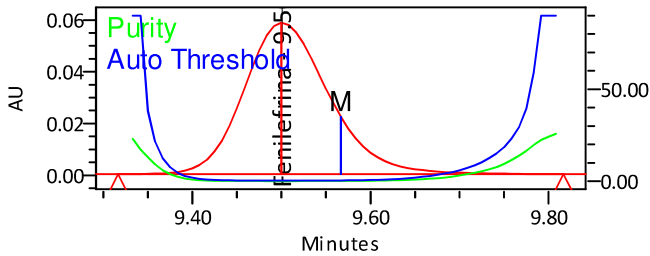
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.076 TH: 0.330

- SampleName Fenilefrina + Paracetamol Temp Injection 1 Vial 2:E,1 Date Acquired 11/8/2021 11:20:40 AM GMT+3 Result Id 70707
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- SampleName Fenilefrina + Paracetamol Temp Injection 1 Vial 2:E,1 Date Acquired 11/8/2021 11:20:40 AM GMT+3 Result Id 70707
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

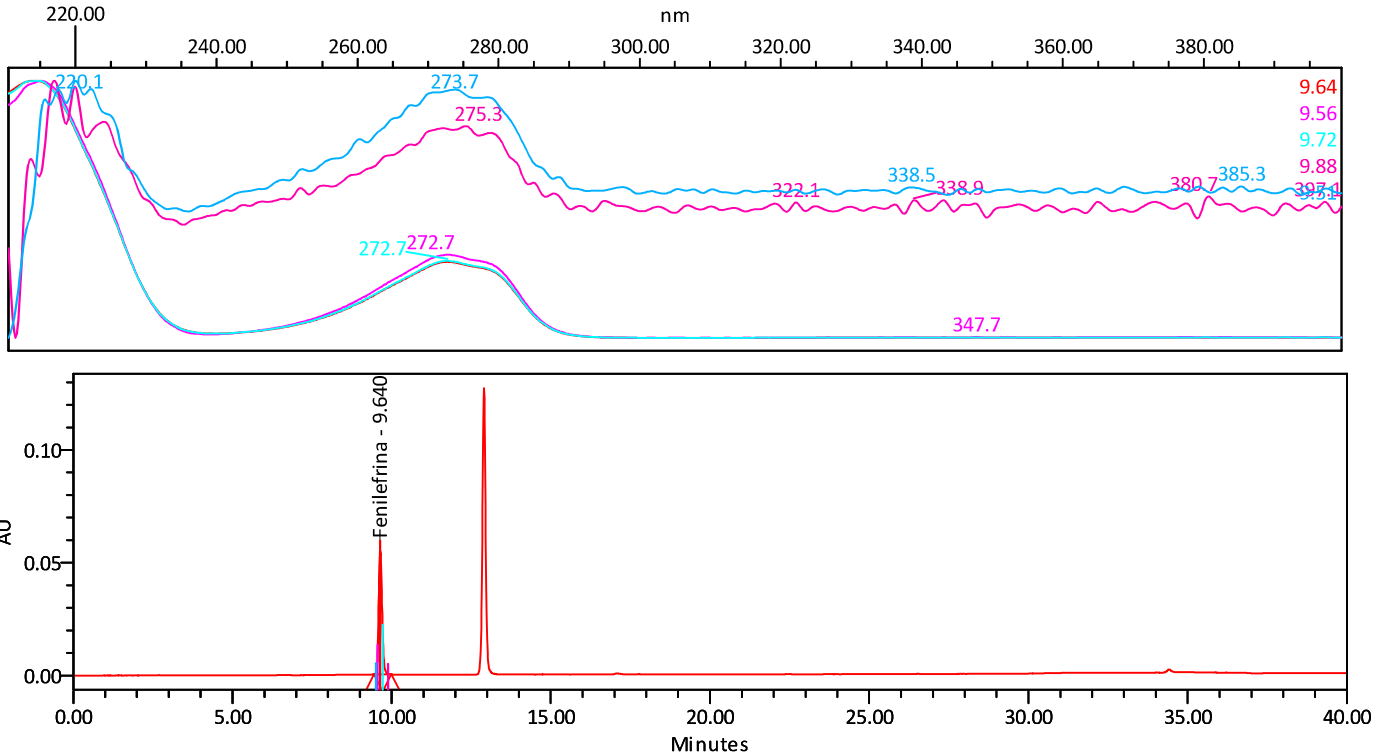
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + Paracetamol Umid

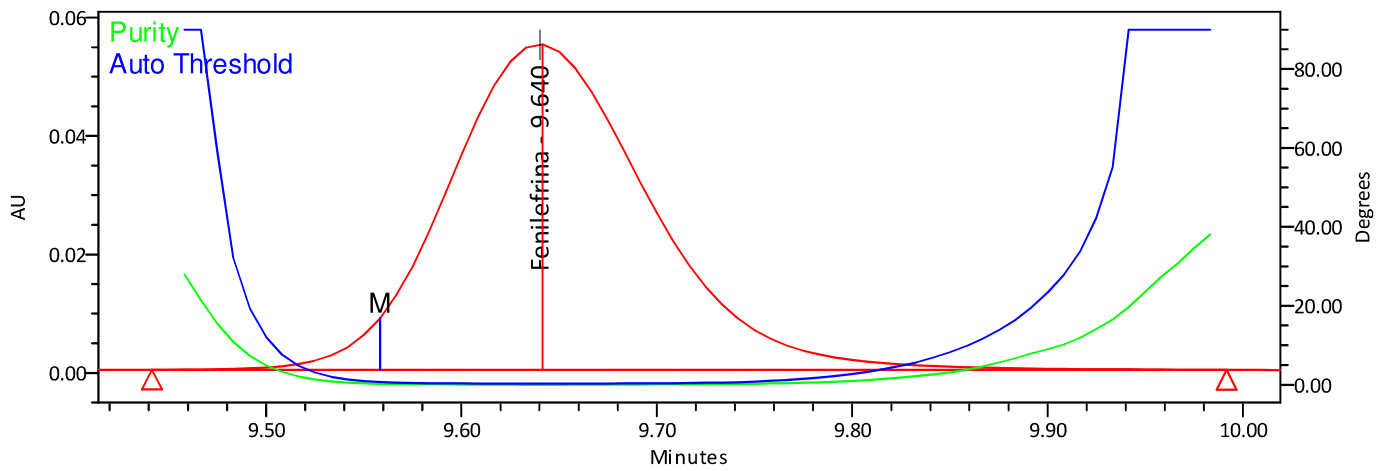
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.640



Nome da amostra: Fenilefrina + Paracetamol Umid; Injeção: 1; Vial 2:B,1; Data de Aquisição: 11/7/2021 5:42:44 PM GMT+3; Id. Resultado: 70692; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

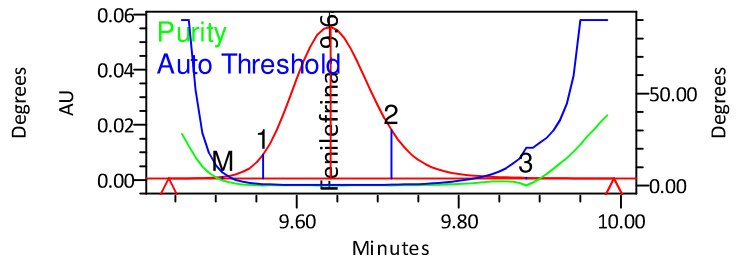
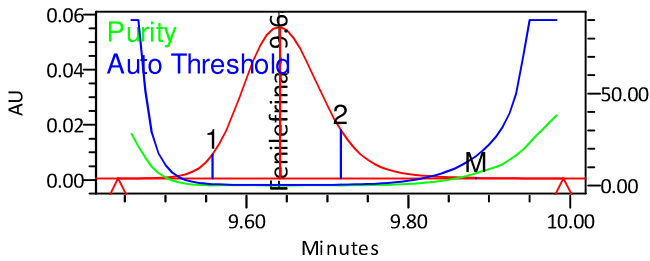
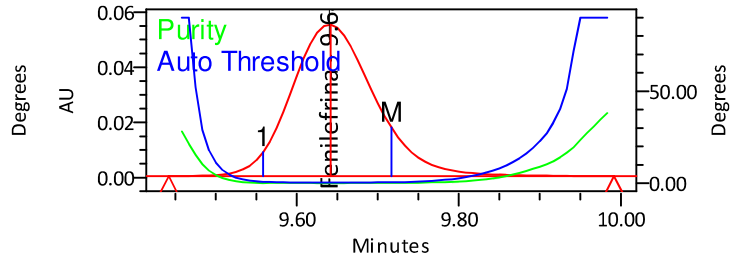
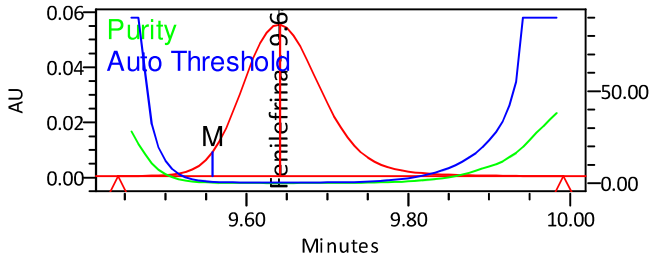
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.082 TH: 0.377

- SampleName Fenilefrina + Paracetamol Umid Injection 1 Vial 2:B,1 Date Acquired 11/7/2021 5:42:44 PM GMT+3 Result Id 70692
- Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + Paracetamol Umid Injection 1 Vial 2:B,1 Date Acquired 11/7/2021 5:42:44 PM GMT+3 Result Id 70692  
— Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

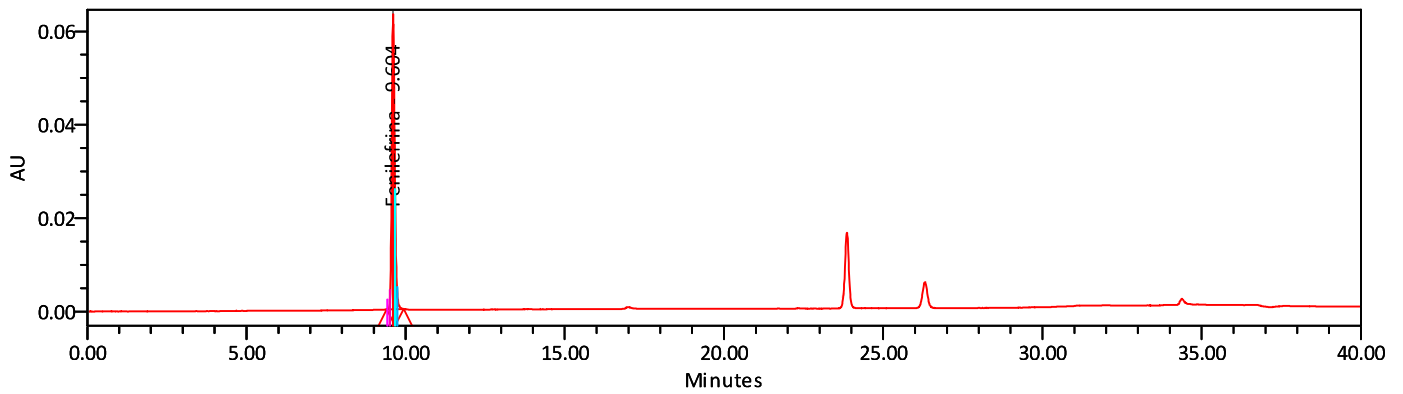
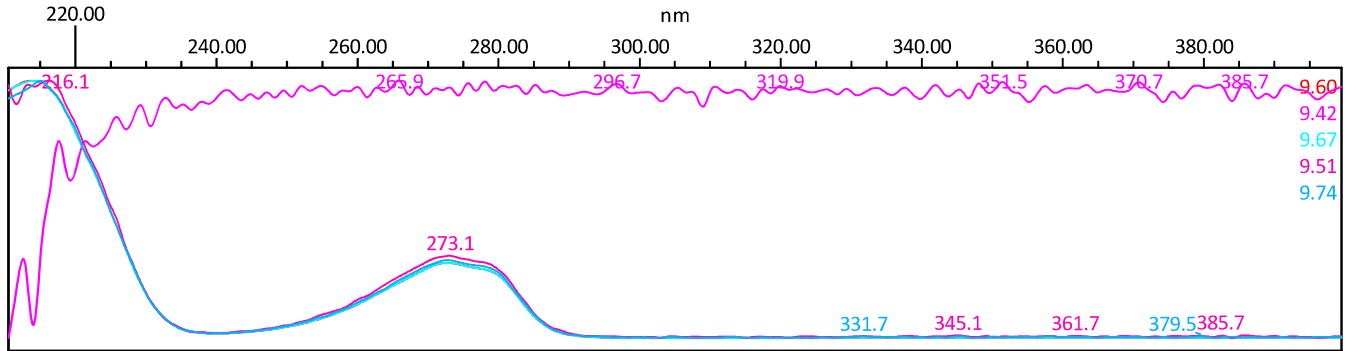
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + AAS Inic

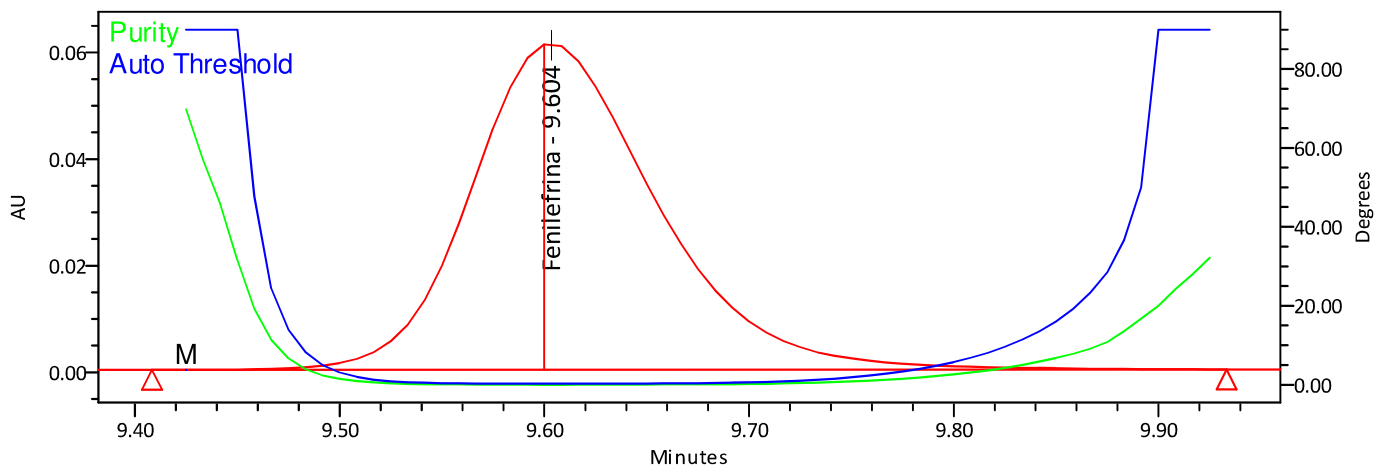
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.604



Nome da amostra: Fenilefrina + AAS Inic; Injeção: 1; Vial 2:C,4; Data de Aquisição: 11/8/2021 1:10:22 AM GMT+3; Id. Resultado: 70701; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

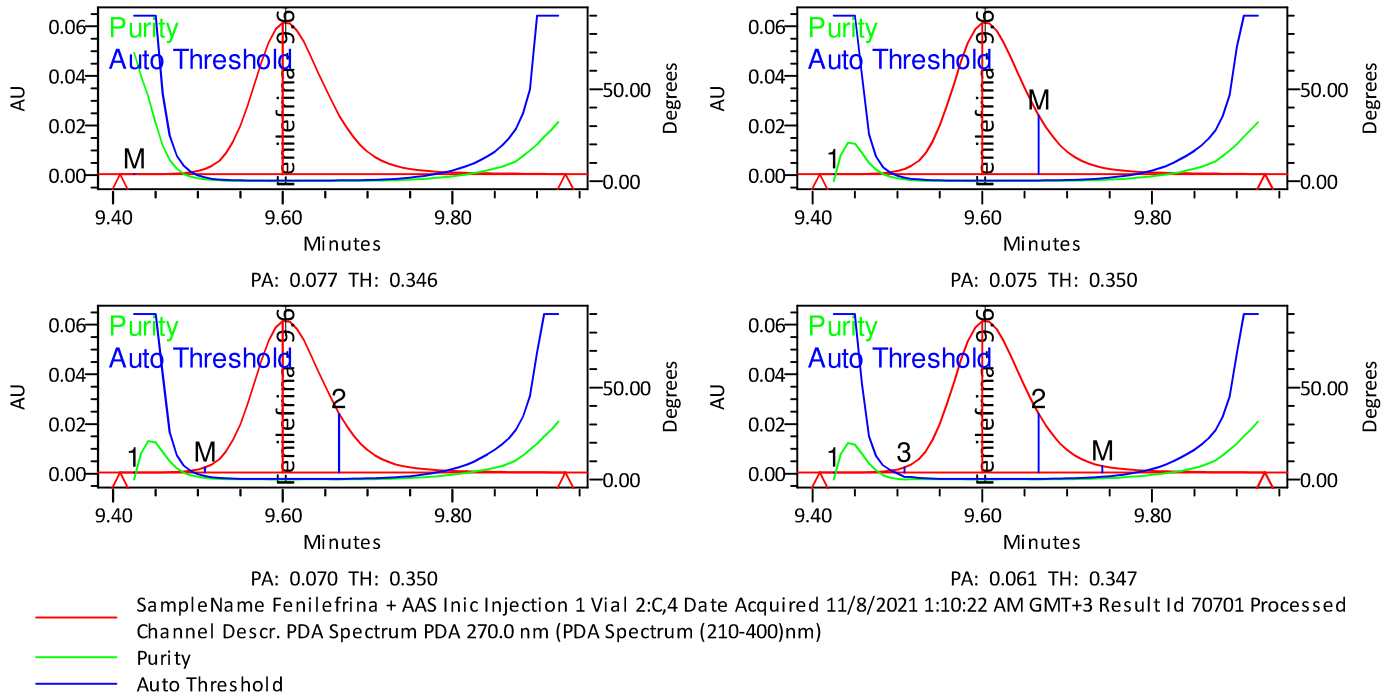
**Purity Plot Fraction**



PA: 0.077 TH: 0.346

- SampleName Fenilefrina + AAS Inic Injection 1 Vial 2:C,4 Date Acquired 11/8/2021 1:10:22 AM GMT+3 Result Id 70701 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

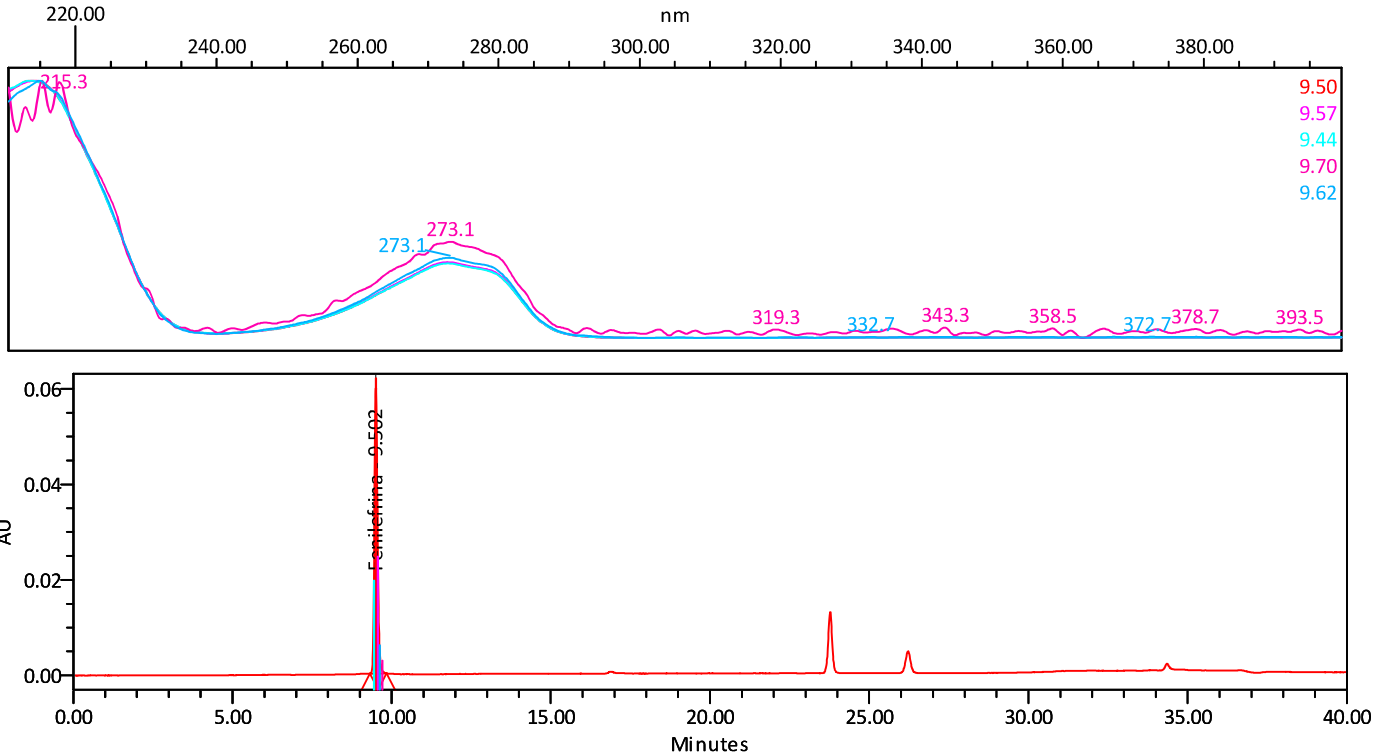
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + AAS Foto

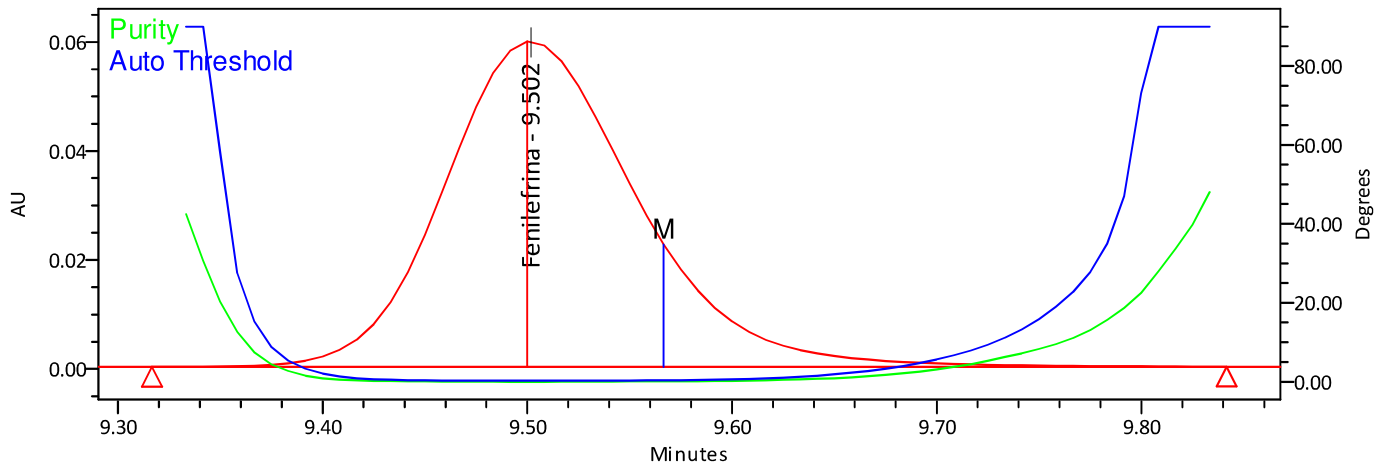
### Spectrum Index Plot

Fenilefrina - 9.502



Nome da amostra: Fenilefrina + AAS Foto; Injeção: 1; Vial 2:E,7; Data de Aquisição: 11/8/2021 3:24:43 PM GMT+3; Id. Resultado: 70708; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

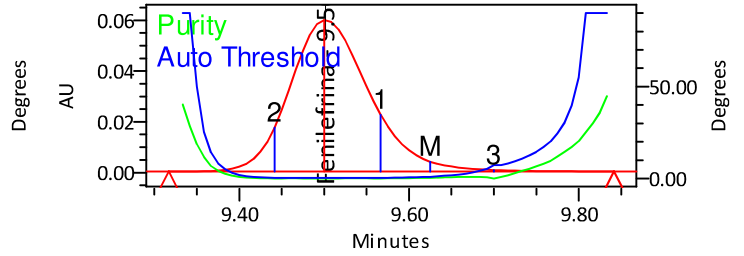
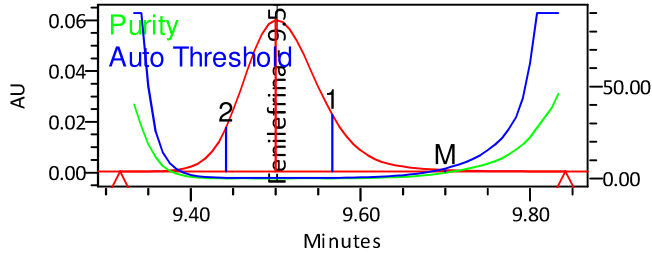
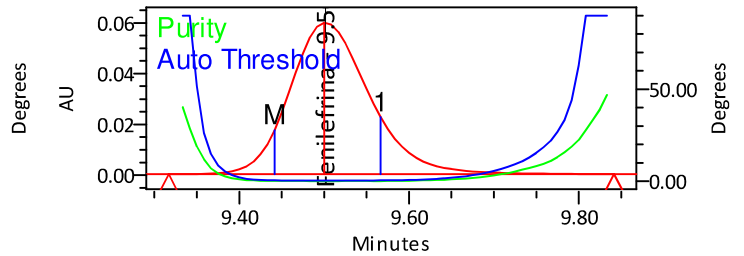
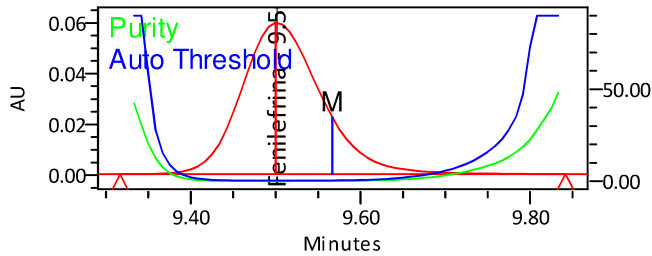
### Purity Plot Fraction



PA: 0.083 TH: 0.336

- SampleName Fenilefrina + AAS Foto Injection 1 Vial 2:E,7 Date Acquired 11/8/2021 3:24:43 PM GMT+3 Result Id 70708 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

### Purity Plot



— SampleName Fenilefrina + AAS Foto Injection 1 Vial 2:E,7 Date Acquired 11/8/2021 3:24:43 PM GMT+3 Result Id 70708 Processed  
Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

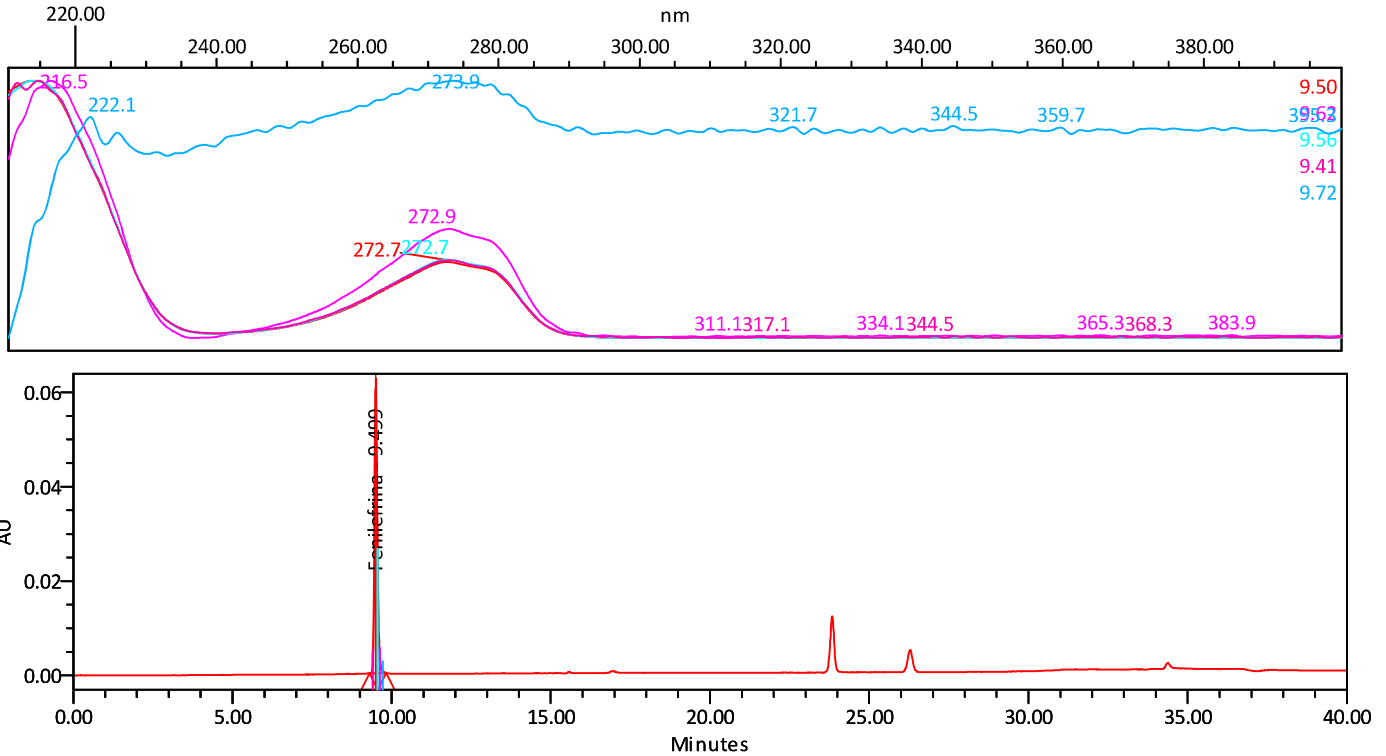
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + AAS Temp

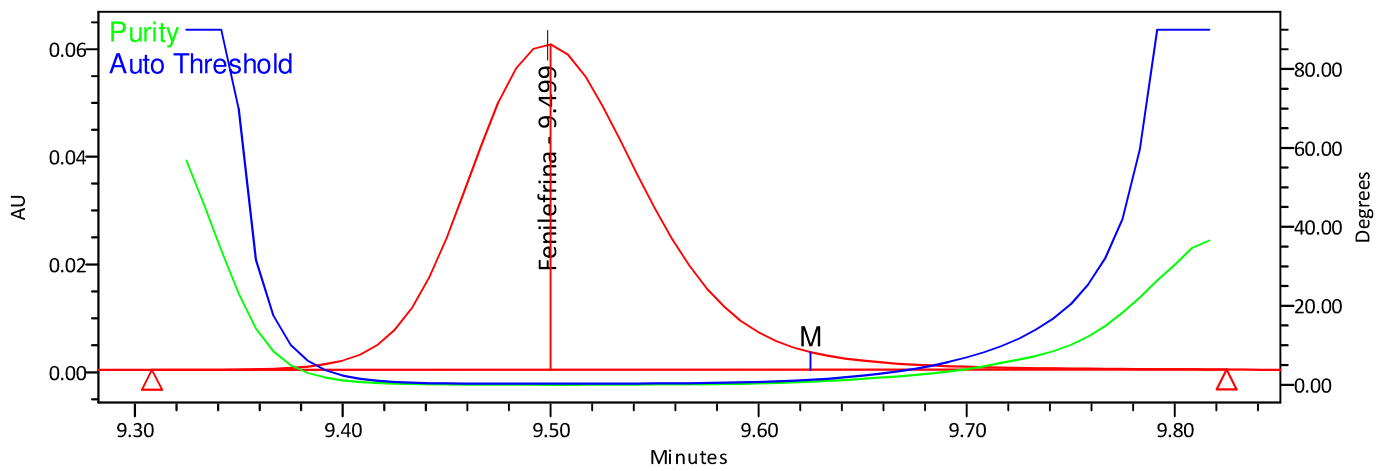
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.499



Nome da amostra: Fenilefrina + AAS Temp; Injeção: 1; Vial 2:C,7; Data de Aquisição: 11/8/2021 3:12:25 AM GMT+3; Id. Resultado: 70703; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

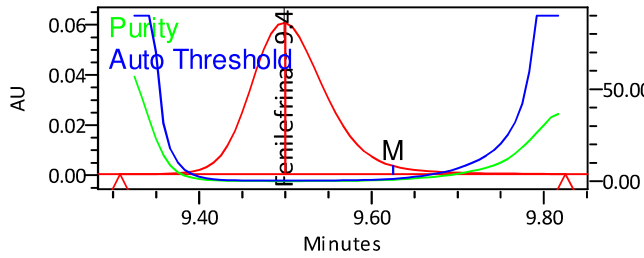
**Purity Plot Fraction**



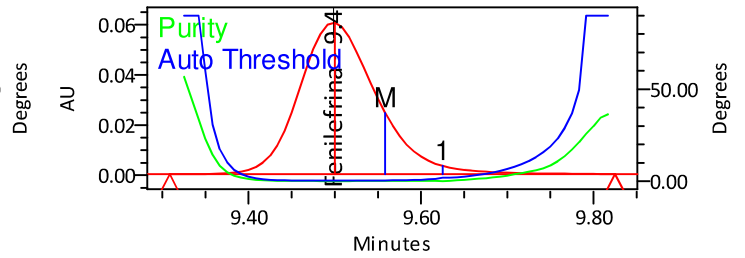
PA: 0.093 TH: 0.345

- SampleName Fenilefrina + AAS Temp Injection 1 Vial 2:C,7 Date Acquired 11/8/2021 3:12:25 AM GMT+3 Result Id 70703 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

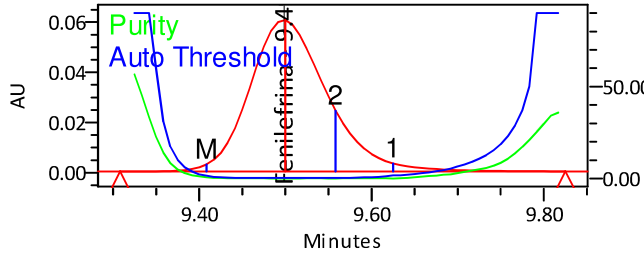
### Purity Plot



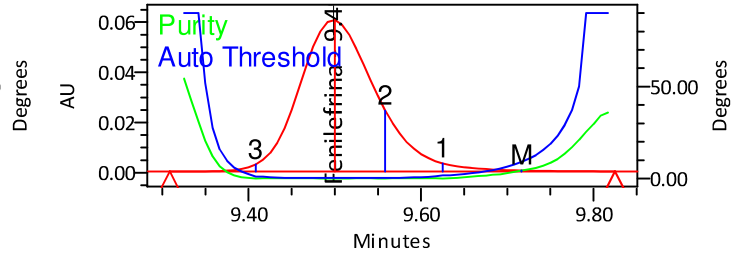
PA: 0.093 TH: 0.345



PA: 0.074 TH: 0.346



PA: 0.068 TH: 0.347



PA: 0.060 TH: 0.344

— SampleName Fenilefrina + AAS Temp Injection 1 Vial 2:C:7 Date Acquired 11/8/2021 3:12:25 AM GMT+3 Result Id 70703 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

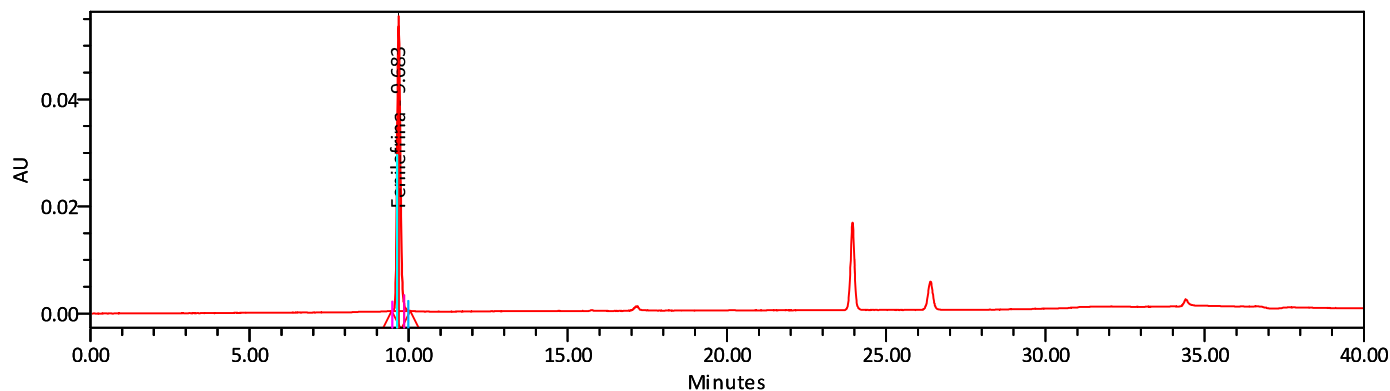
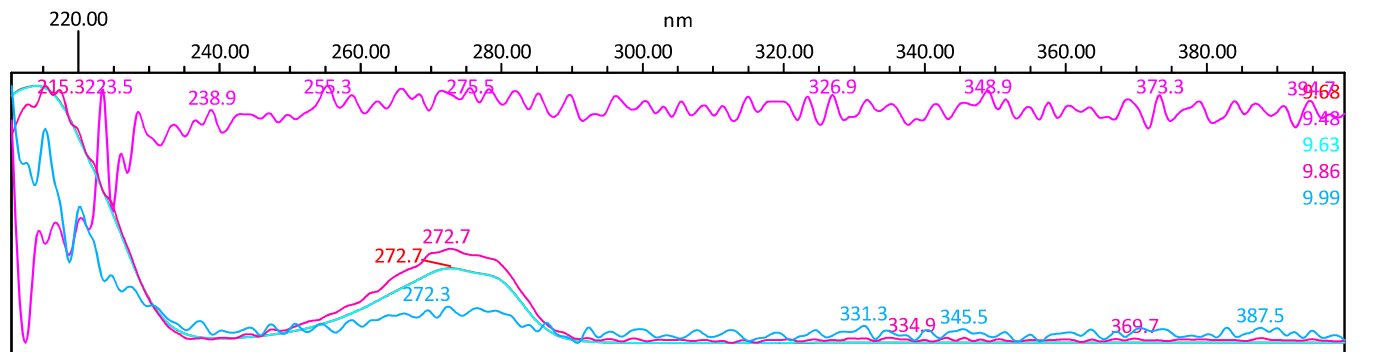
# Avaliação de Estresse em Metodologia Analítica

## Análise de Varredura

Solução Analisada: Fenilefrina + AAS Umid

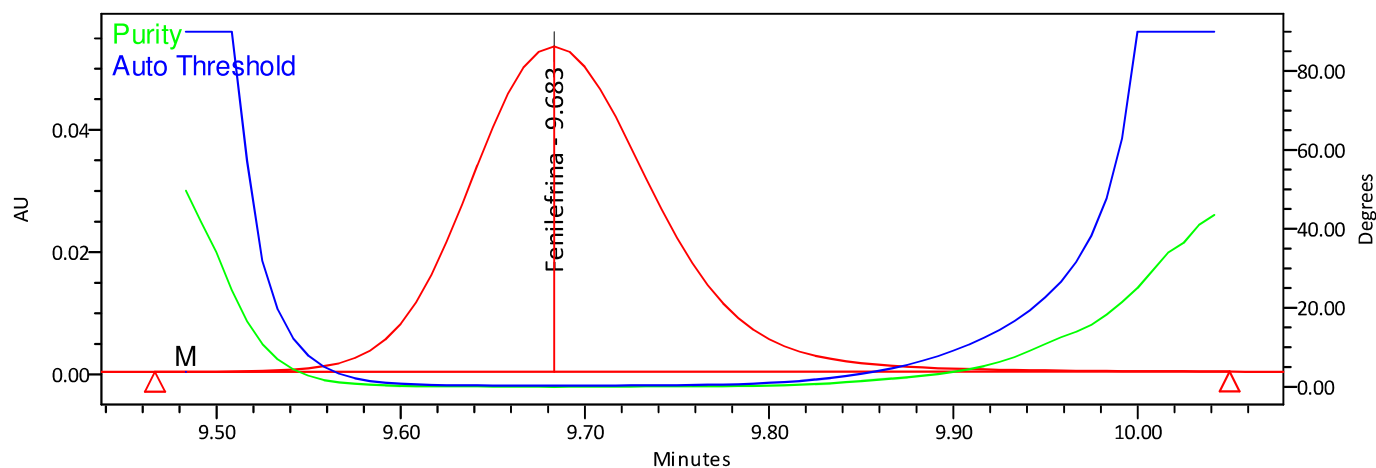
**Spectrum Index Plot**

Fenilefrina - 9.683



Nome da amostra: Fenilefrina + AAS Umid; Injeção: 1; Vial 2:B,2; Data de Aquisição: 11/7/2021 6:23:26 PM GMT+3; Id. Resultado: 70694; Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)

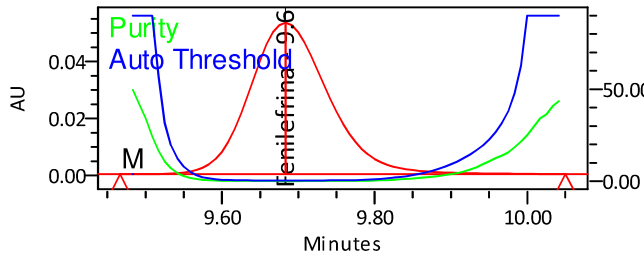
**Purity Plot Fraction**



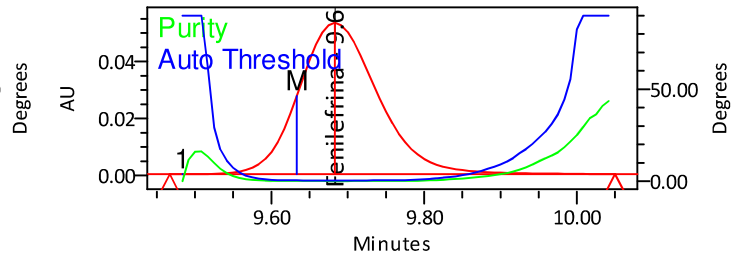
PA: 0.092 TH: 0.391

- SampleName Fenilefrina + AAS Umid Injection 1 Vial 2:B,2 Date Acquired 11/7/2021 6:23:26 PM GMT+3 Result Id 70694 Processed Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)
- Purity
- Auto Threshold

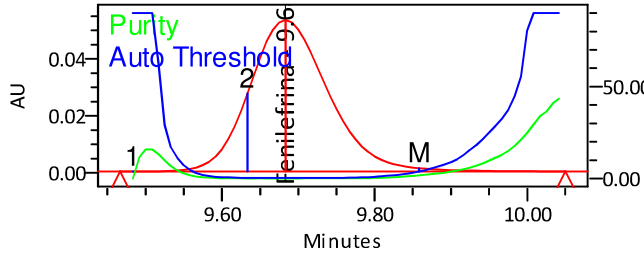
### Purity Plot



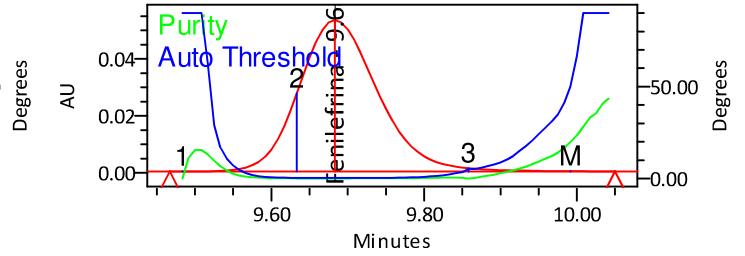
PA: 0.092 TH: 0.391



PA: 0.092 TH: 0.400



PA: 0.086 TH: 0.402



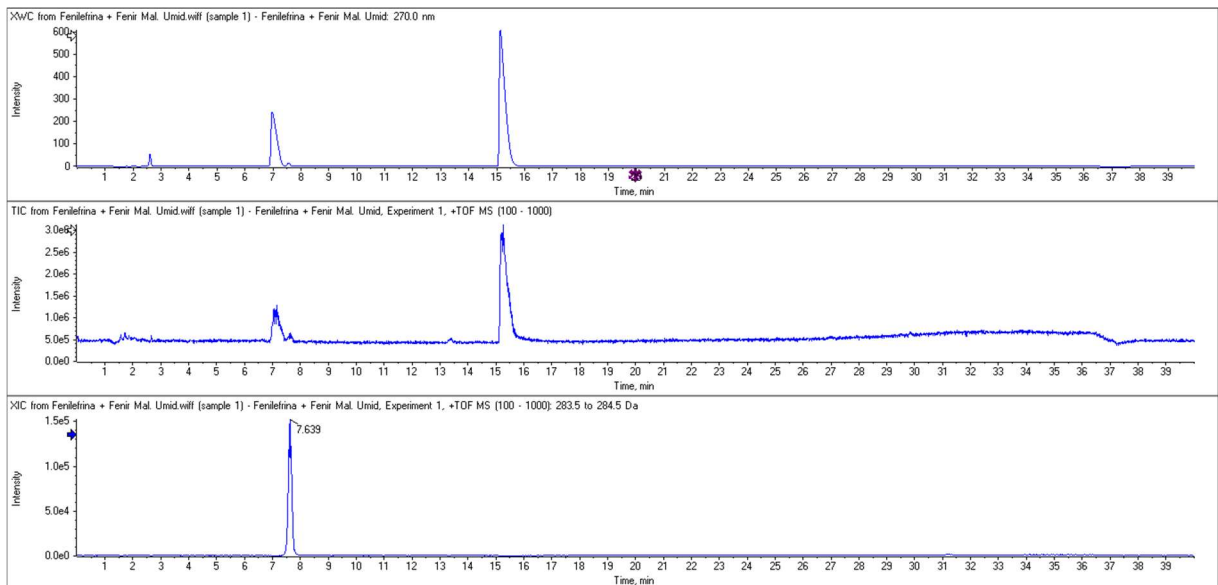
PA: 0.076 TH: 0.399

— SampleName Fenilefrina + AAS Umid Injection 1 Vial 2:B,2 Date Acquired 11/7/2021 6:23:26 PM GMT+3 Result Id 70694 Processed  
— Channel Descr. PDA Spectrum PDA 270.0 nm (PDA Spectrum (210-400)nm)  
— Purity  
— Auto Threshold

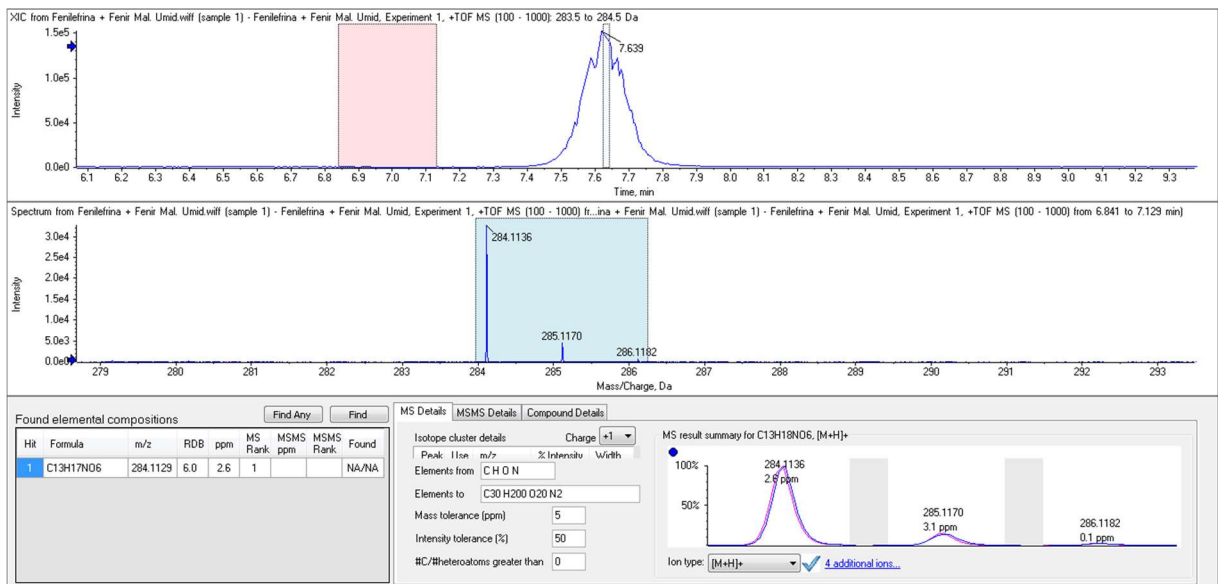
- A partir dos dados de Purity Plot e do Intervalo de Noise verificamos que não ocorre coeluição.
- Fatiando o pico em quatro passos definidos automaticamente pelo software, onde há maior absorvância de impurezas, notamos que há uma homogeneidade espectral do pico, garantindo que o mesmo é atribuído a um único componente.

**ANEXO III**

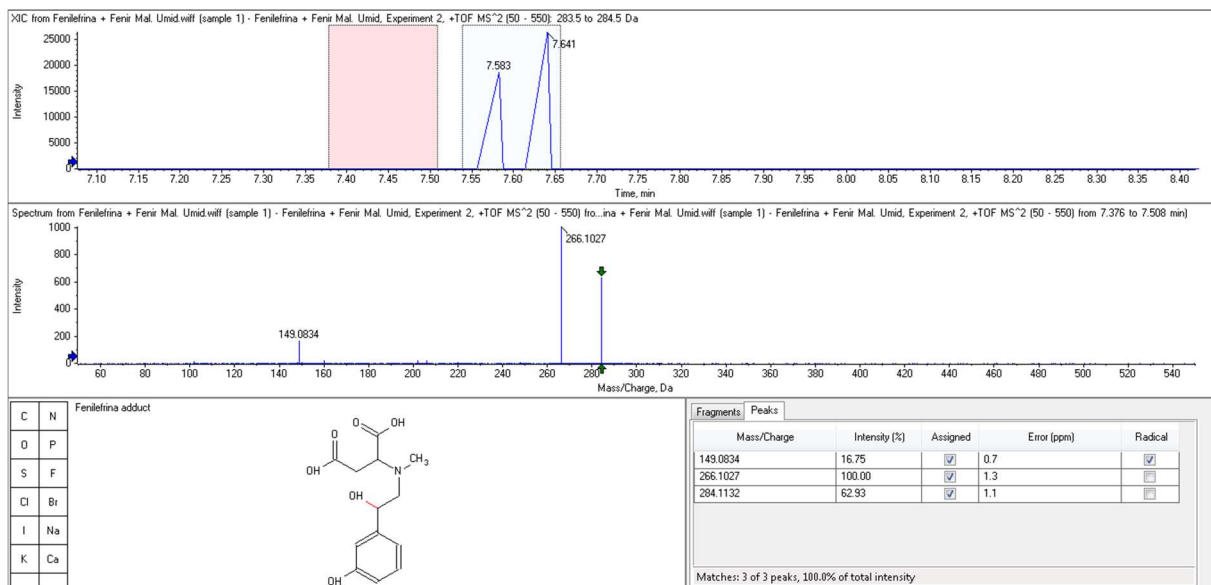
**AVALIAÇÃO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DOS PRODUTOS DE  
DEGRADAÇÃO FORMADOS POR CLAE/EMAR**



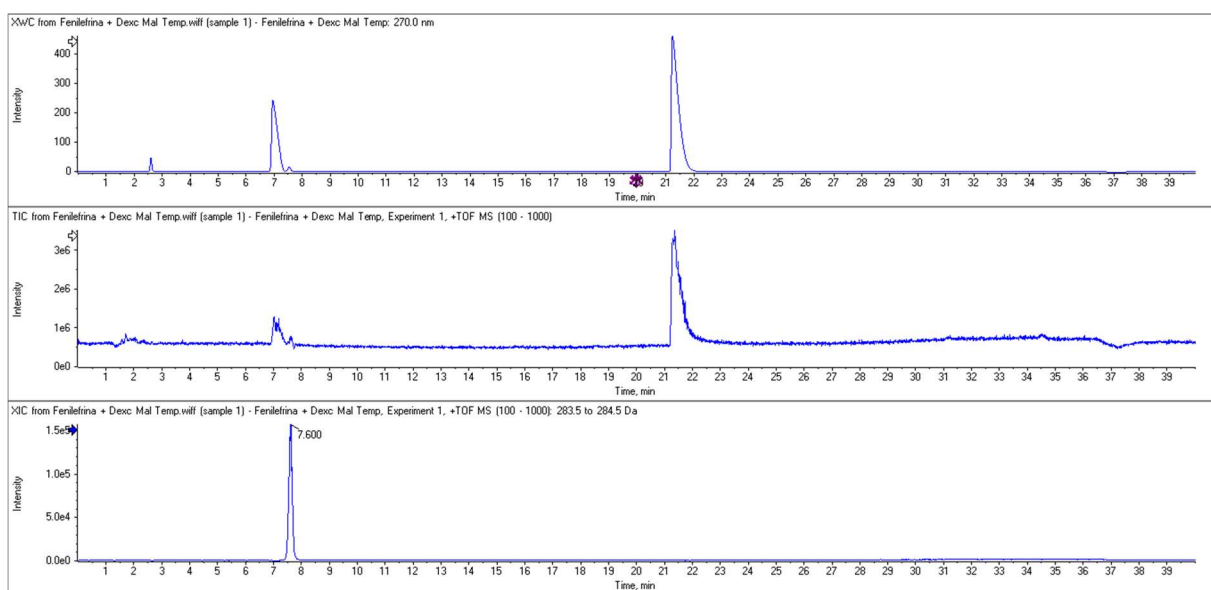
Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por umidade. Em (a) cromatograma UV-VIS/DAD, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com  $m/z$  284,0  $\pm$  0,5 indicando o pico do produto de degradação em investigação.



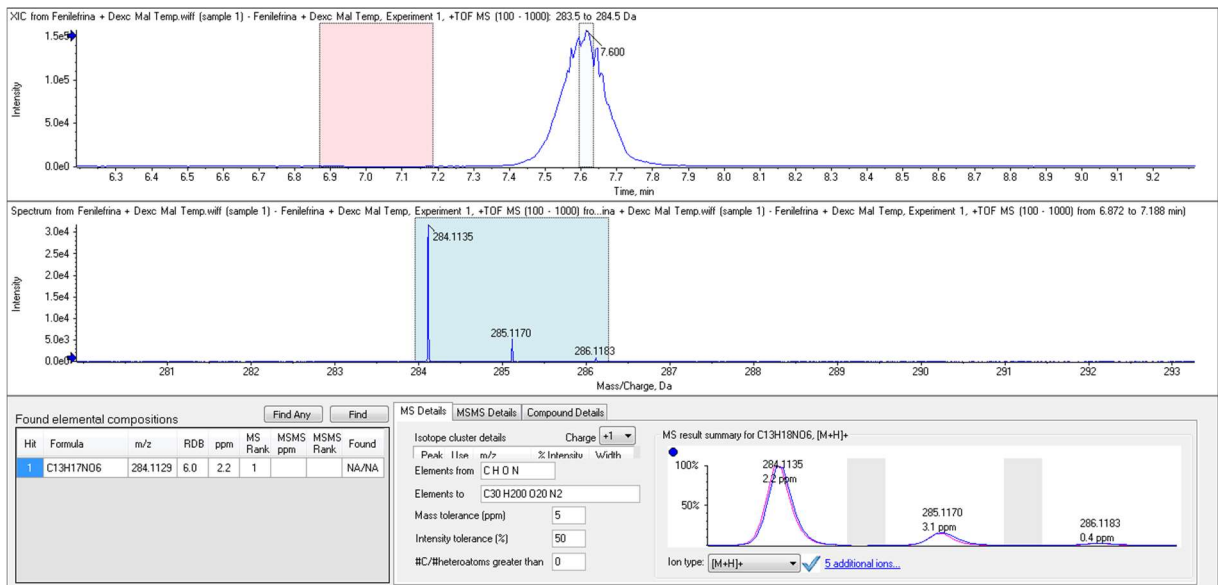
Avaliação do padrão isotopológico do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por umidade.



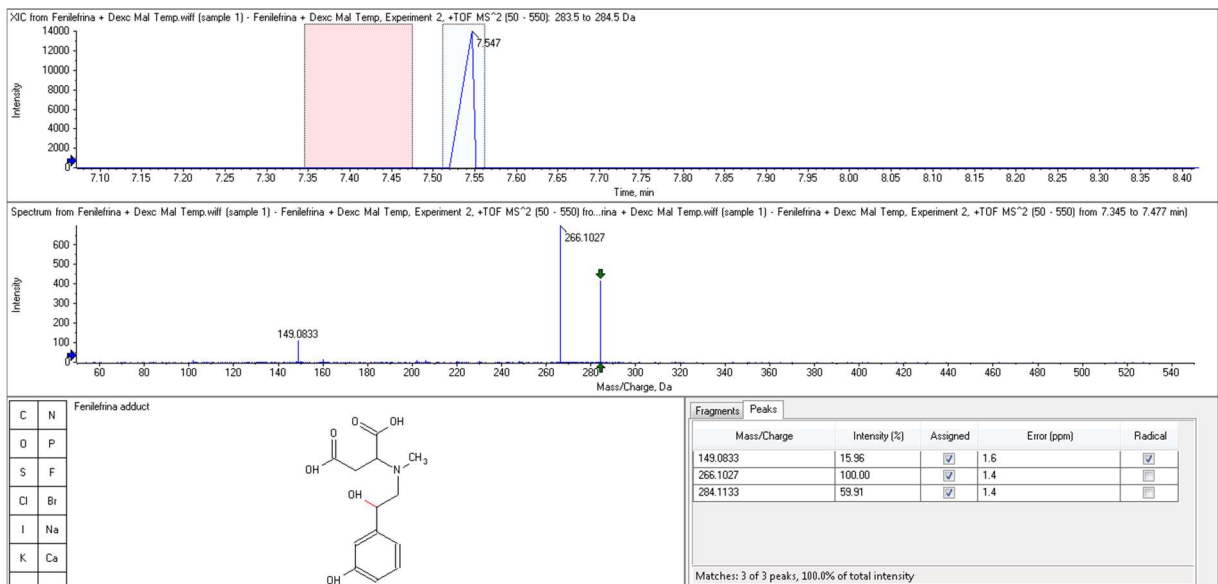
Avaliação do perfil de fragmentação do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de feniramina estressada por umidade.



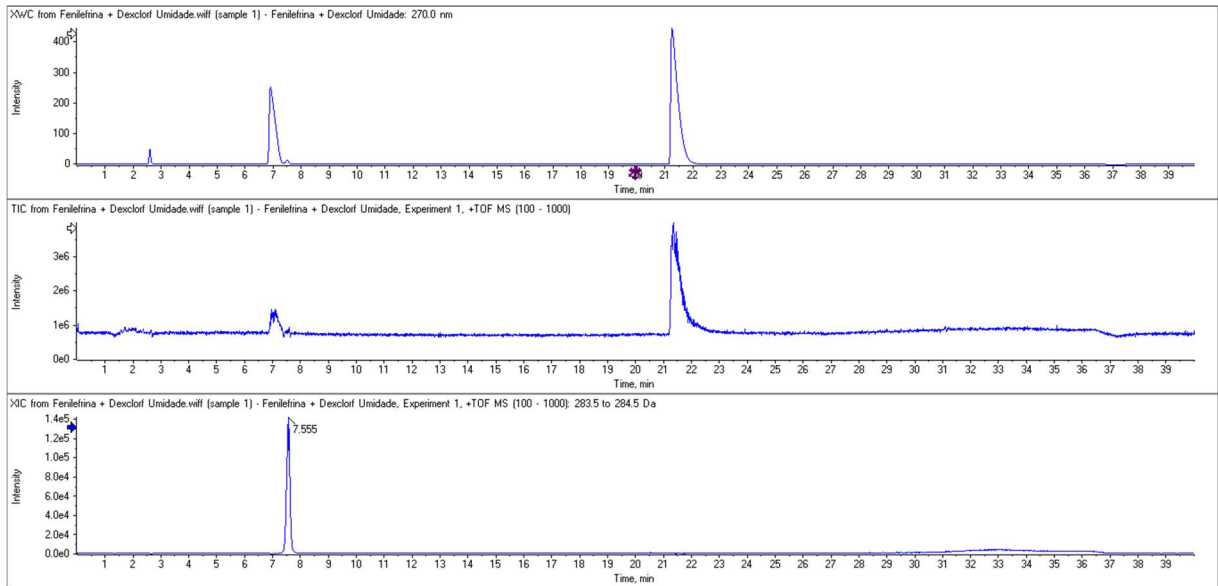
Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por calor. Em (a) cromatograma UV-VIS/DAD, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com  $m/z\ 284,0 \pm 0,5$  indicando o pico do produto de degradação em investigação.



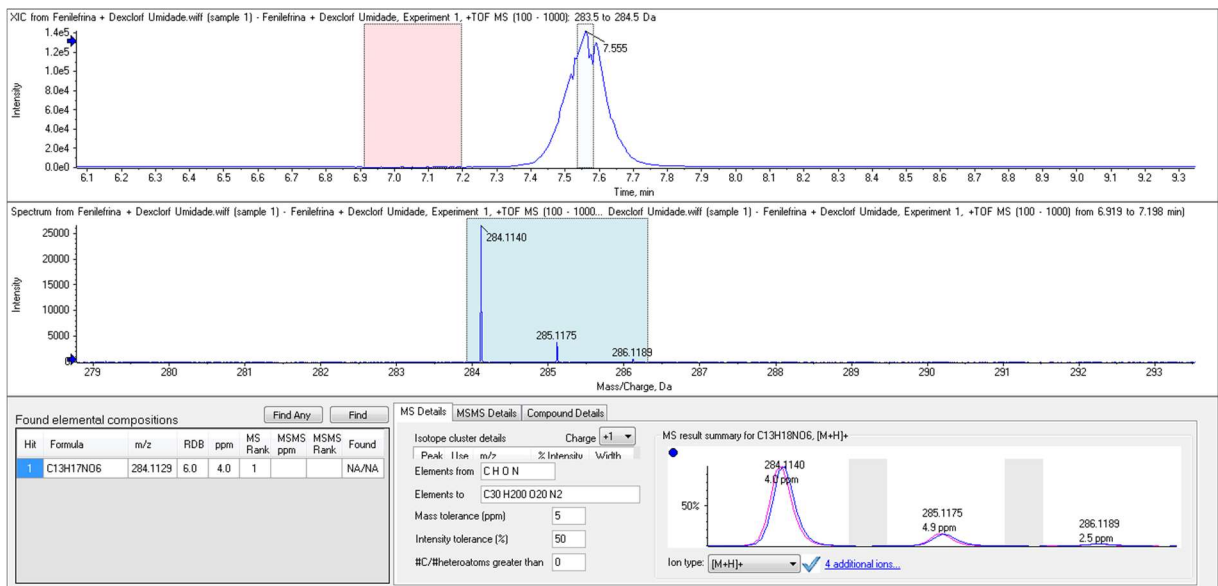
Avaliação do padrão isotopológico do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por calor.



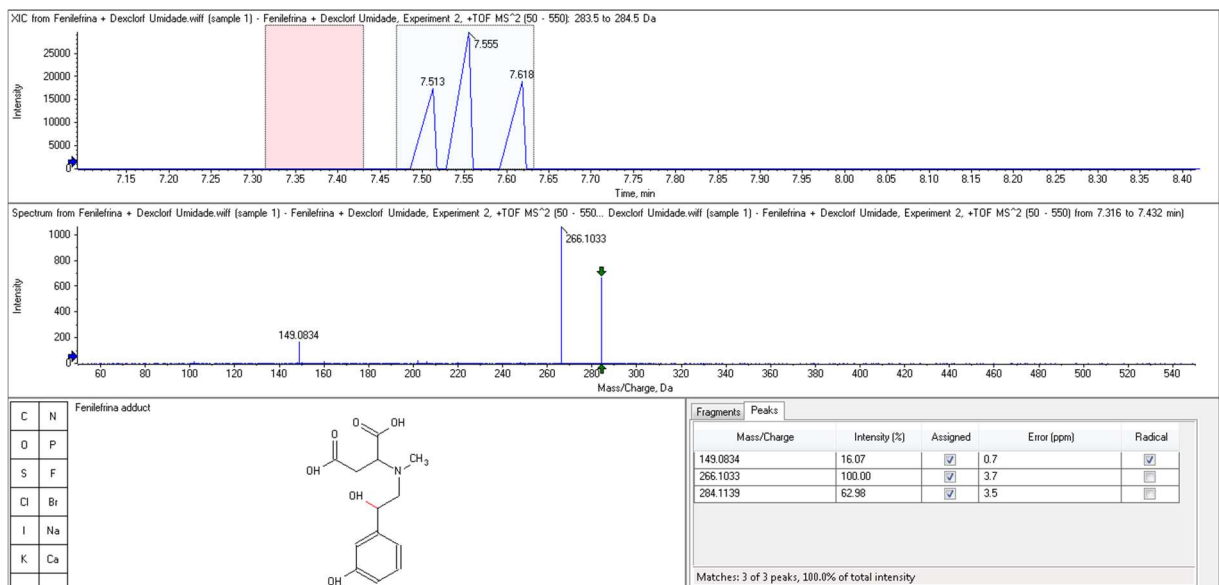
Avaliação do perfil de fragmentação do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por calor.



Cromatogramas da mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por umidade. Em (a) cromatograma UV-VIS/DAD, em (b) TIC da amostra analisada e em (c) o XIC da amostra com  $m/z\ 284,0 \pm 0,5$  indicando o pico do produto de degradação em investigação.



Avaliação do padrão isotopológico do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por umidade.



Avaliação do perfil de fragmentação do produto de degradação em investigação na mistura binária entre cloridrato de fenilefrina x maleato de dexclorfeniramina estressada por umidade.

**ANEXO IV**

***REPORTS* COMPLETOS DE QUALIFICAÇÃO DO IFA E DOS PRODUTOS DE  
DEGRADAÇÃO ELUCIDADOS**



## Report

**Client:**

Universidade Federal de Goiás

**Username:**

Alisson Moraes e Silva

**Study Number:**

UniversidaFenilefrinaGenotox220105001303905

**Date:**

2022/01/04 - 22:13:04

**Program Version:** 3.0

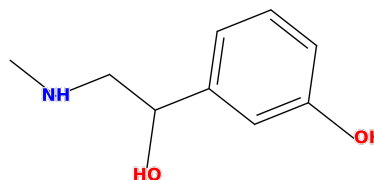
## Molecular Query

**Name:**

Fenilefrina

**CAS:**

59-42-7

**SMILES:**CNCC(O)c1cccc(O)c1

## Model Summary

Genotox-iS<sup>TM</sup> is a computational tool for prediction of mutagenicity by rule and statistical-based models, which were validated based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Principles for the Validation for Regulatory Purposes of (Q)SAR Models. These OECD principles are discussed in each section of this report.

Model 1 (Alert analysis) is a rule-based model with 102 Structural Alerts (included in 46 categories) for in vitro mutagenicity. Model 2 is a statistical battery with three algorithms trained by an in vitro mutagenicity dataset containing 6,931 rigorously curated structures (defined endpoint - OECD principle 1).

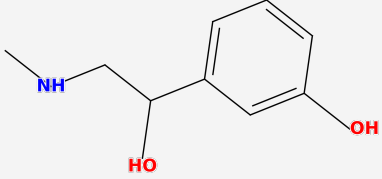
The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. Results of this statistical battery can be positive (mutagen), negative (non-mutagen), or equivocal (low confidence and out-of-domain predictions).

## Model 1 (Alert analysis) – Rule-based model

The result below is based on an analysis of fragments assigned to be mutagenic (*in vitro* mutagenicity alerts). When possible, the alerts can provide mechanistic basis of the predicted mutagenicity of the molecule or insights for interpretation of the mechanism based on theories and knowledge of toxicity mechanisms (OECD Principle 5).

Result: (-) Negative

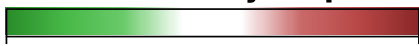
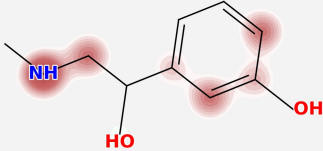
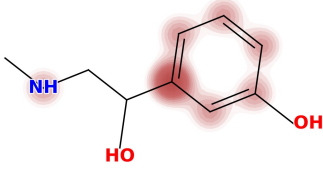
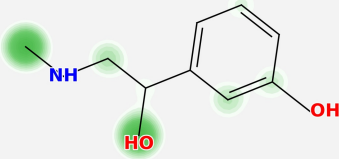
No alerts were found.

Molecule	Result
 <chem>CC(N)C(O)c1ccc(O)cc1</chem>	No alerts found

## Model 2 - Statistical battery

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of the three following algorithms, exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) predictions and low confidence predictions (<54%) are generally not considered valid by default at the consensus decision. Expert reviews can be applied to assess the acceptability of OOD or low confidence rates, considering good practice recommendations.

To ensure some transparency in the description of the model algorithms (an unambiguous algorithm - OECD Principle 2), more detailed information about each model is presented below. The Probability Map indicates the fragments more related to the absence (green) or presence (red) of toxicity, useful for hypotheses for mechanistic interpretations (OECD Principle 5).

Probability Map		
		
Algorithm	Prediction (Confidence)	Probability Mapping (SAR)
<b>Random Forest</b>  Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	Non-Mutagen (-) (84.8%)	
<b>kNN</b>  k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (71.4%)	
<b>Deep Learning</b>  Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Non-Mutagen (-) (99.8%)	

Detailed data about the dataset of chemicals; the end-point and descriptor values; the derivation of the descriptors; the test and training sets; the outliers removed; the statistical parameters and others are in the QMRF (QSAR Model Reporting Format) report, available to queries under a confidentiality agreement. Alttox Ltda assures scientific integrity of the data.

### Random forest

Our random forest model (RF) was built with 750 individual decision trees models, and the final prediction is based on the ensemble (average) of each individual decision tree model prediction. Also, we employed the MACCS fingerprint bit vector as the independent variable for the RF model. The MACCS fingerprint is considered a global fingerprint based on the 166 SMARTS patterns commonly found in a broad range of molecules.

### k-NN model

The k-nearest neighbors algorithm (k-NN) is a type of instance-based learning, or lazy learning, very similar to the "read-across" method. Our k-NN model assigns a prediction for a compound based on majority vote of its seven neighbors, in conjunction with ECFP4 circular fingerprints with 2048 bits and an atom radius of 2 (Morgan2). The Extended-Connectivity Fingerprints (ECFPs) are circular topological fingerprints designed for molecular characterization, similarity searching, and structure-activity modeling.

### Deep Learning 3D

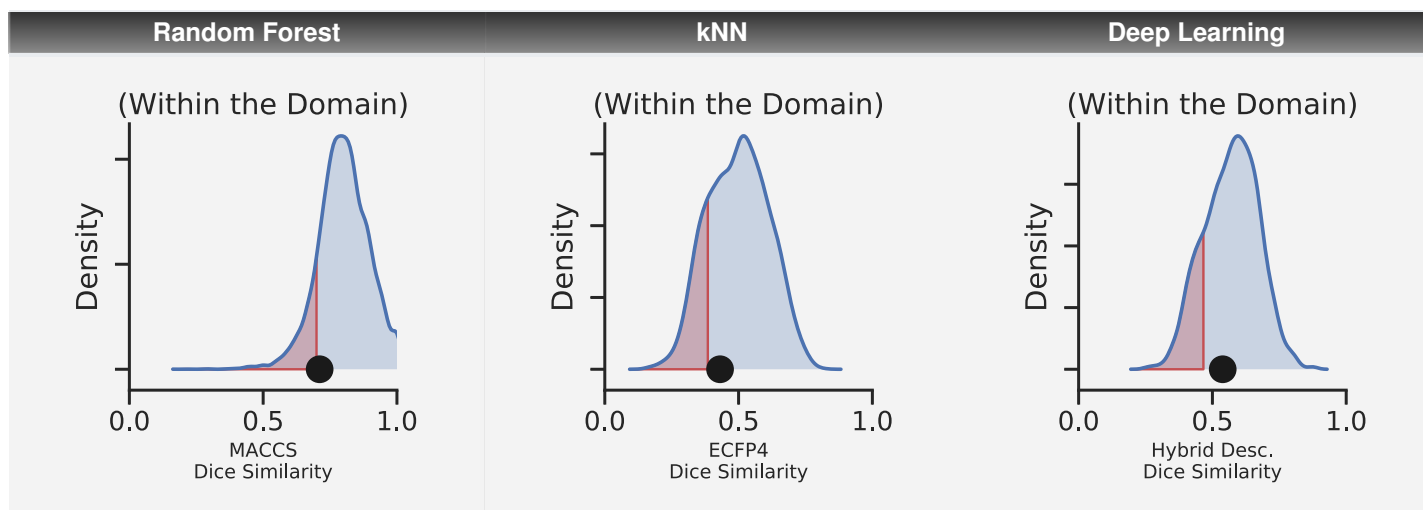
The Deep learning model is a machine learning algorithm based on neural networks or artificial intelligence components with multiple hidden layers that can learn increasingly abstract representations of the chemical fingerprint. In this model, the first hidden layers might only learn local edge patterns. Then, every 14 subsequent layers learn more complex representations. Finally, the last layer can evaluate the mutagenicity of the given compound. Also, the 3D toxicophoric fingerprint was employed. The "E3FP" is an algorithm to calculate 3D conformer fingerprint-like Feature Connectivity Fingerprint (FCFP).

## Visual AD Inspection®

The applicability domain (AD) is defined by the chemical structure space and the toxicological response encoded by the developed model, to make new predictions with a given reliability (a defined domain of applicability - OECD Principle 3). Our visual AS Inspection® is used to establish the scope and limitations of the models. Basically, new chemicals must be reasonably similar to training set compounds or a valid prediction cannot be accepted.

Our visual AD inspection is represented by a density plot of the average fingerprint-dice similarity for the k-nearest neighbors of each compound during the 5-Fold external model's validation. The chemical structure is represented by three different types of fingerprints: MACCS, ECFP4 and 3D toxicophoric. At the visual AD inspection, the black circle represents the evaluated compound, the highlighted red area means the forbidden similarity region, and the blue region is the allowed similarity chemical space to predict new compounds.

Even though a well-designed AD helps the user to assess the reliability of predictions made by the model, it should not automatically be assumed that all predictions within the defined AD are necessarily reliable.



## Final Result

The results are presented below; positive (red) and/or negative (green) predictions are presented with applicability domain (AD) and confidence level (robustness, OECD principle 4) for the rule and statistical-based models.

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus, based on a statistical battery of the following three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) and/or low confidence results (confidence <54%) predictions are not considered valid by default at the consensus decision.

For the conclusion, two (Q)SAR prediction methodologies that complement each other should be applied. One methodology is an expert rule-based and the second methodology is composed of statistical-based models. The absence of structural alerts from two complementary (Q)SAR methodologies (expert rule-based and statistical) is sufficient to conclude that the impurity is of no mutagenic concern, and no further testing is recommended (ICH M7).

Algorithm	Prediction (Confidence)	Applicability Domain
<b>Model 1 – Rule-based model</b>		
<b>Structural Alerts</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-
<b>Model 2 - Statistical battery</b>		
<b>Random Forest</b>		
Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (84.8%)	Within 
<b>kNN</b>		
k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (71.4%)	Within 
<b>Deep Learning</b>		
Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	<b>Non-Mutagen (-)</b> (99.8%)	Within 
<b>Statistical consensus (rigorous)</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-

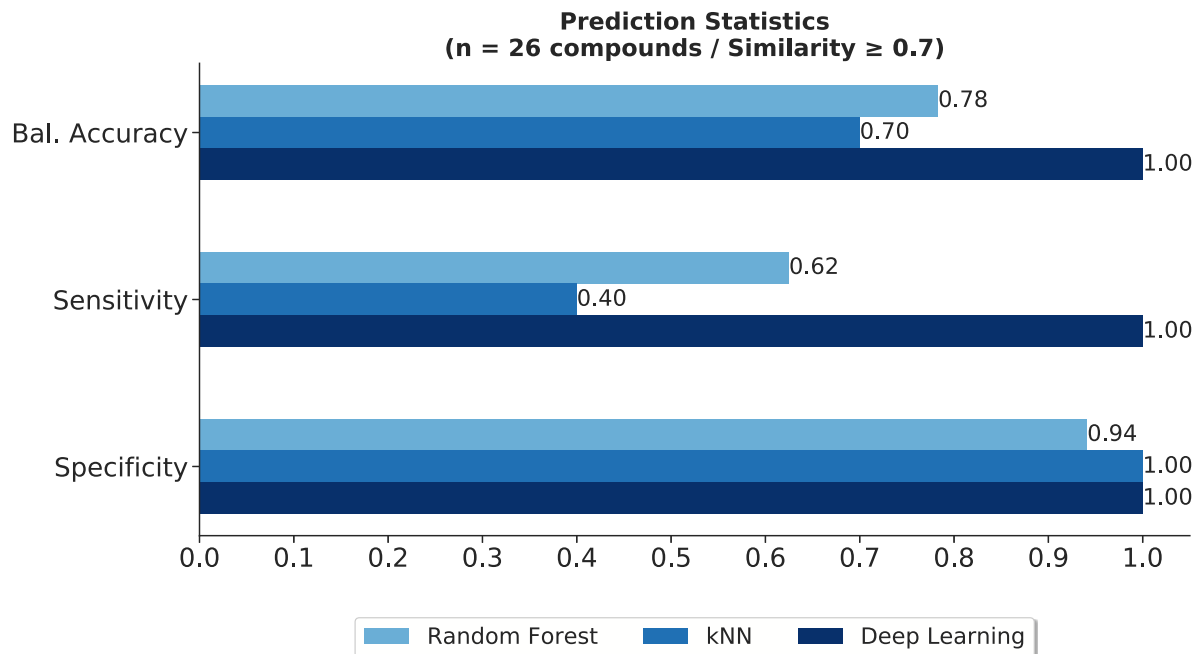
## Additional Information

### Prediction Confidence

Based on the most similar molecules

With appropriate measures of goodness-of-fit, robustness, and predictivity (OECD Principle 4), our model used different strategies to establish the performance of the model, which consisted of internal model performance (goodness-of-fit and robustness) and external model performance (predictivity).

To assess the confidence of the Genotox-iS™ predictions, after of to take into account the applicability domain of the model (Visual applicability domain (AD) Inspection®), additionally, the statistics of the ability to detect known mutagenic compounds (sensitivity), non-mutagenic compounds (specificity), and all molecules in general (concordance) based in the most similar substances are provided below. A map with similarity level for the 10 most similar molecules is provided with the confidence level for each statistical and artificial intelligence model.



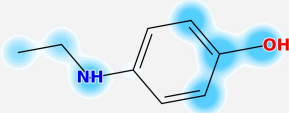
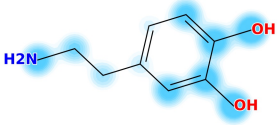
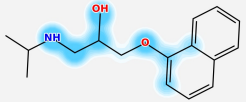
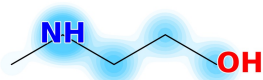
Sorensen-Dice MACCS similarity was used to improve the deep learning confidence by interpolating the confidence equalized by the compound similarity criteria obtained from the dataset chemical space. This helps to improve the *in silico* toxicological model to reduce the false positive and negative error.

### Performance for the 10-most similar molecules

#### Similarity Map



Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (1.0)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (77.3%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (75.7%)
 (0.82)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (87.0%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (83.6%)
 (0.81)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (73.5%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (62.6%)
 (0.79)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (79.5%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (87.9%)
 (0.78)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (74.4%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (78.7%)
 (0.76)	Non-Mutagen	Mutagen (61.9%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (84.2%)

Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.76)	Mutagen	Mutagen (74.6%)	Non-Mutagen (71.4%)	Mutagen (75.2%)
 (0.75)	Mutagen	Mutagen (63.8%)	Mutagen (85.7%)	Mutagen (91.8%)
 (0.74)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (69.6%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (90.3%)
 (0.73)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (90.4%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (79.5%)





## Report

**Client:**

Universidade Federal de Goiás

**Username:**

Alisson Moraes e Silva

**Study Number:**

UniversidaCompostolGenotox220105002006309

**Date:**

2022/01/04 - 22:20:06

**Program Version:** 3.0

## Molecular Query

**Name:**

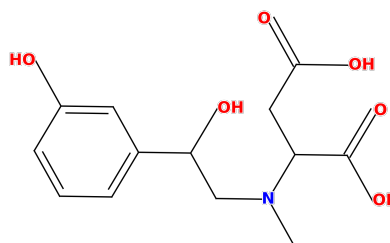
Composto I

**CAS:**

915278-80-7

**SMILES:**

CN(CC(O)c1cccc(O)c1)C(CC(=O)O)C(=O)O



## Model Summary

Genotox-iS™ is a computational tool for prediction of mutagenicity by rule and statistical-based models, which were validated based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Principles for the Validation for Regulatory Purposes of (Q)SAR Models. These OECD principles are discussed in each section of this report.

Model 1 (Alert analysis) is a rule-based model with 102 Structural Alerts (included in 46 categories) for in vitro mutagenicity. Model 2 is a statistical battery with three algorithms trained by an in vitro mutagenicity dataset containing 6,931 rigorously curated structures (defined endpoint - OECD principle 1).

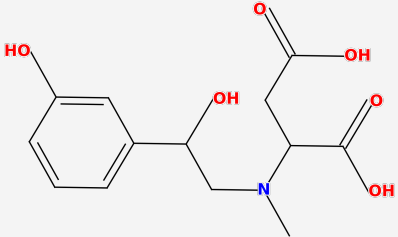
The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. Results of this statistical battery can be positive (mutagen), negative (non-mutagen), or equivocal (low confidence and out-of-domain predictions).

## Model 1 (Alert analysis) – Rule-based model

The result below is based on an analysis of fragments assigned to be mutagenic (*in vitro* mutagenicity alerts). When possible, the alerts can provide mechanistic basis of the predicted mutagenicity of the molecule or insights for interpretation of the mechanism based on theories and knowledge of toxicity mechanisms (OECD Principle 5).

Result: (-) Negative

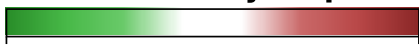
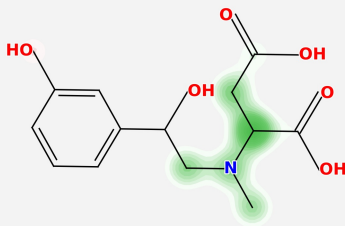
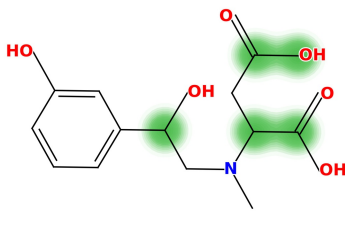
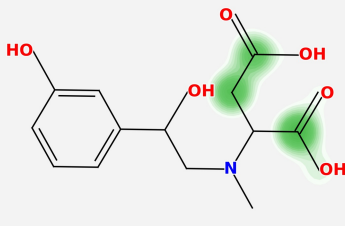
No alerts were found.

Molecule	Result
 <chem>CC(O)CN(C)C(=O)C(=O)C1=CC=C(O)C=C1</chem>	No alerts found

## Model 2 - Statistical battery

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of the three following algorithms, exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) predictions and low confidence predictions (<54%) are generally not considered valid by default at the consensus decision. Expert reviews can be applied to assess the acceptability of OOD or low confidence rates, considering good practice recommendations.

To ensure some transparency in the description of the model algorithms (an unambiguous algorithm - OECD Principle 2), more detailed information about each model is presented below. The Probability Map indicates the fragments more related to the absence (green) or presence (red) of toxicity, useful for hypotheses for mechanistic interpretations (OECD Principle 5).

Probability Map		
		
Algorithm	Prediction (Confidence)	Probability Mapping (SAR)
<b>Random Forest</b>  Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	Non-Mutagen (-) (78.4%)	
<b>kNN</b>  k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (85.7%)	
<b>Deep Learning</b>  Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Non-Mutagen (-) (99.5%)	

Detailed data about the dataset of chemicals; the end-point and descriptor values; the derivation of the descriptors; the test and training sets; the outliers removed; the statistical parameters and others are in the QMRF (QSAR Model Reporting Format) report, available to queries under a confidentiality agreement. Alttox Ltda assures scientific integrity of the data.

#### Random forest

Our random forest model (RF) was built with 750 individual decision trees models, and the final prediction is based on the ensemble (average) of each individual decision tree model prediction. Also, we employed the MACCS fingerprint bit vector as the independent variable for the RF model. The MACCS fingerprint is considered a global fingerprint based on the 166 SMARTS patterns commonly found in a broad range of molecules.

#### k-NN model

The k-nearest neighbors algorithm (k-NN) is a type of instance-based learning, or lazy learning, very similar to the "read-across" method. Our k-NN model assigns a prediction for a compound based on majority vote of its seven neighbors, in conjunction with ECFP4 circular fingerprints with 2048 bits and an atom radius of 2 (Morgan2). The Extended-Connectivity Fingerprints (ECFPs) are circular topological fingerprints designed for molecular characterization, similarity searching, and structure-activity modeling.

#### Deep Learning 3D

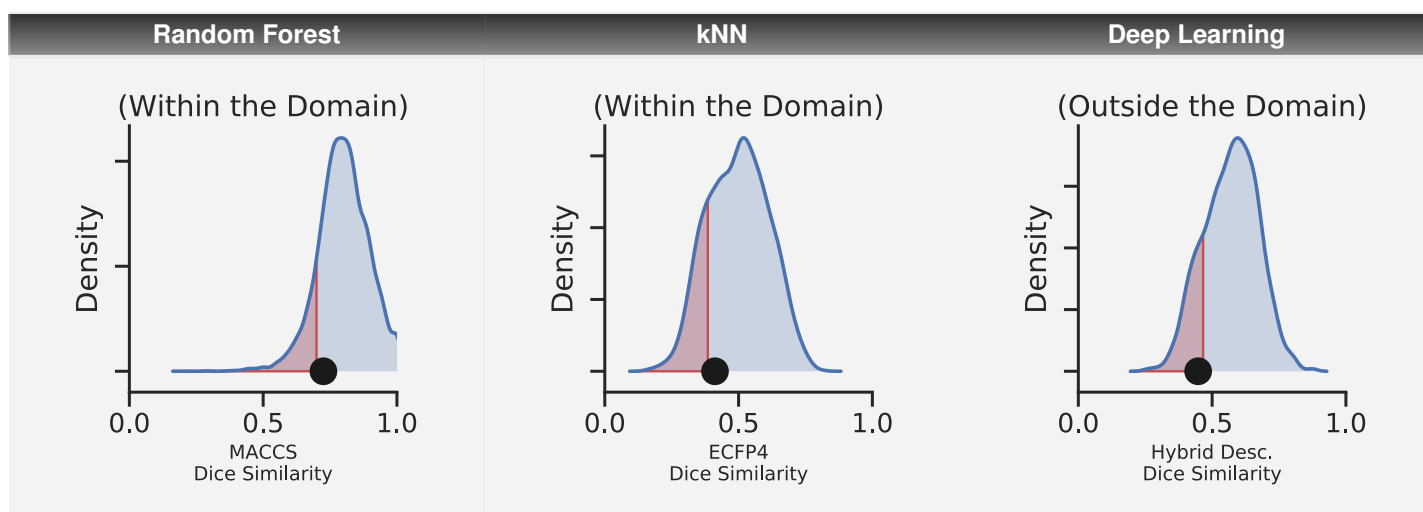
The Deep learning model is a machine learning algorithm based on neural networks or artificial intelligence components with multiple hidden layers that can learn increasingly abstract representations of the chemical fingerprint. In this model, the first hidden layers might only learn local edge patterns. Then, every 14 subsequent layers learn more complex representations. Finally, the last layer can evaluate the mutagenicity of the given compound. Also, the 3D toxicophoric fingerprint was employed. The "E3FP" is an algorithm to calculate 3D conformer fingerprint-like Feature Connectivity Fingerprint (FCFP).

## Visual AD Inspection®

The applicability domain (AD) is defined by the chemical structure space and the toxicological response encoded by the developed model, to make new predictions with a given reliability (a defined domain of applicability - OECD Principle 3). Our visual AS Inspection® is used to establish the scope and limitations of the models. Basically, new chemicals must be reasonably similar to training set compounds or a valid prediction cannot be accepted.

Our visual AD inspection is represented by a density plot of the average fingerprint-dice similarity for the k-nearest neighbors of each compound during the 5-Fold external model's validation. The chemical structure is represented by three different types of fingerprints: MACCS, ECFP4 and 3D toxicophoric. At the visual AD inspection, the black circle represents the evaluated compound, the highlighted red area means the forbidden similarity region, and the blue region is the allowed similarity chemical space to predict new compounds.

Even though a well-designed AD helps the user to assess the reliability of predictions made by the model, it should not automatically be assumed that all predictions within the defined AD are necessarily reliable.






## Final Result

The results are presented below; positive (red) and/or negative (green) predictions are presented with applicability domain (AD) and confidence level (robustness, OECD principle 4) for the rule and statistical-based models.

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus, based on a statistical battery of the following three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) and/or low confidence results (confidence <54%) predictions are not considered valid by default at the consensus decision.

For the conclusion, two (Q)SAR prediction methodologies that complement each other should be applied. One methodology is an expert rule-based and the second methodology is composed of statistical-based models. The absence of structural alerts from two complementary (Q)SAR methodologies (expert rule-based and statistical) is sufficient to conclude that the impurity is of no mutagenic concern, and no further testing is recommended (ICH M7).

Algorithm	Prediction (Confidence)	Applicability Domain
<b>Model 1 – Rule-based model</b>		
<b>Structural Alerts</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-
<b>Model 2 - Statistical battery</b>		
<b>Random Forest</b>		
Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (78.4%)	Within 
<b>kNN</b>		
k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (85.7%)	Within 
<b>Deep Learning</b>		
Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	<b>No call</b>	Outside 
<b>Statistical consensus (rigorous)</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-

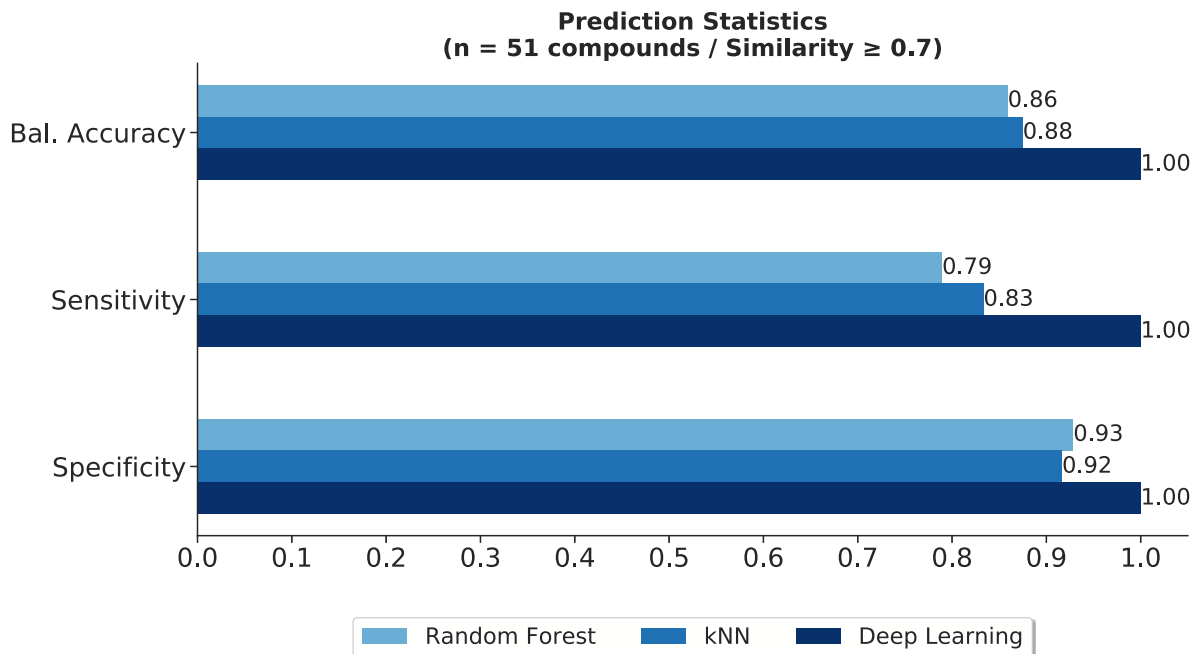
## Additional Information

### Prediction Confidence

Based on the most similar molecules

With appropriate measures of goodness-of-fit, robustness, and predictivity (OECD Principle 4), our model used different strategies to establish the performance of the model, which consisted of internal model performance (goodness-of-fit and robustness) and external model performance (predictivity).

To assess the confidence of the Genotox-iS™ predictions, after of to take into account the applicability domain of the model (Visual applicability domain (AD) Inspection®), additionally, the statistics of the ability to detect known mutagenic compounds (sensitivity), non-mutagenic compounds (specificity), and all molecules in general (concordance) based in the most similar substances are provided below. A map with similarity level for the 10 most similar molecules is provided with the confidence level for each statistical and artificial intelligence model.

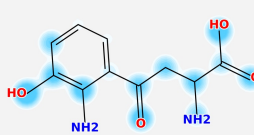
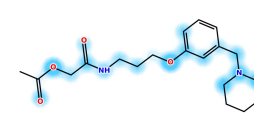
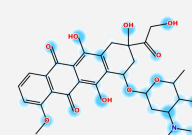
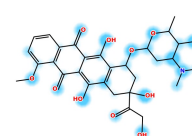
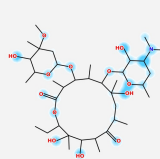
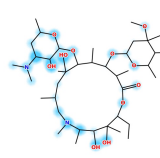


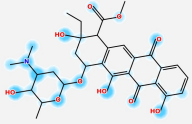
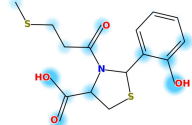
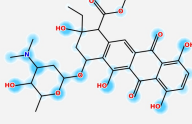
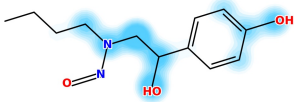
Sorensen-Dice MACCS similarity was used to improve the deep learning confidence by interpolating the confidence equalized by the compound similarity criteria obtained from the dataset chemical space. This helps to improve the *in silico* toxicological model to reduce the false positive and negative error.

### Performance for the 10-most similar molecules

#### Similarity Map



Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (83.4%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (90.4%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (79.6%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (93.2%)
 (0.75)	Mutagen	Mutagen (96.1%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (89.3%)
 (0.75)	Mutagen	Mutagen (96.8%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (89.3%)
 (0.74)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (73.3%)	Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (92.4%)
 (0.74)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (89.1%)	Non-Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (92.6%)

Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 <p>(0.74)</p>	Mutagen	Mutagen (100.0%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (96.8%)
 <p>(0.74)</p>	Non-Mutagen	Non-Mutagen (82.6%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (91.4%)
 <p>(0.74)</p>	Mutagen	Mutagen (100.0%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (95.7%)
 <p>(0.74)</p>	Non-Mutagen	Mutagen (88.5%)	Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (86.8%)





## Report

**Client:**

Universidade Federal de Goiás

**Username:**

Alisson Moraes e Silva

**Study Number:**

UniversidaCompostoIIGenotox220105002446714

**Date:**

2022/01/04 - 22:24:46

**Program Version:** 3.0

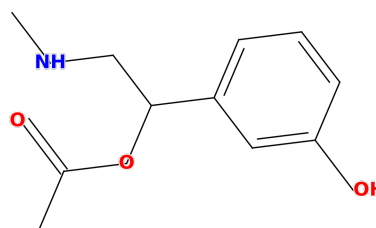
## Molecular Query

**Name:**

Composto II

**CAS:**

2165916-61-8

**SMILES:**CNCC(OC(C)=O)c1cccc(O)c1

## Model Summary

Genotox-iS<sup>TM</sup> is a computational tool for prediction of mutagenicity by rule and statistical-based models, which were validated based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Principles for the Validation for Regulatory Purposes of (Q)SAR Models. These OECD principles are discussed in each section of this report.

Model 1 (Alert analysis) is a rule-based model with 102 Structural Alerts (included in 46 categories) for in vitro mutagenicity. Model 2 is a statistical battery with three algorithms trained by an in vitro mutagenicity dataset containing 6,931 rigorously curated structures (defined endpoint - OECD principle 1).

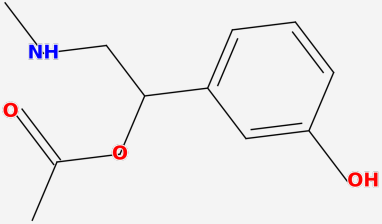
The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. Results of this statistical battery can be positive (mutagen), negative (non-mutagen), or equivocal (low confidence and out-of-domain predictions).

## Model 1 (Alert analysis) – Rule-based model

The result below is based on an analysis of fragments assigned to be mutagenic (*in vitro* mutagenicity alerts). When possible, the alerts can provide mechanistic basis of the predicted mutagenicity of the molecule or insights for interpretation of the mechanism based on theories and knowledge of toxicity mechanisms (OECD Principle 5).

Result: (-) Negative

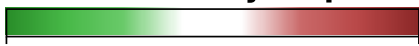
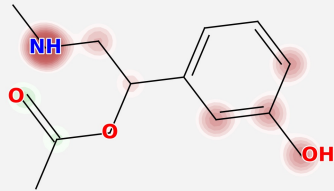
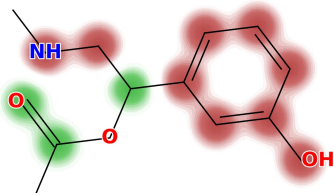
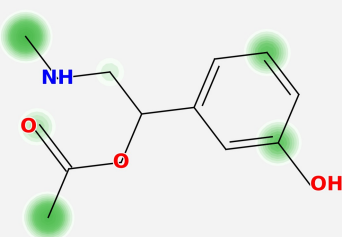
No alerts were found.

Molecule	Result
 <chem>CC(N)CC(O)C1=CC=C(O)C=C1</chem>	No alerts found

## Model 2 - Statistical battery

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of the three following algorithms, exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) predictions and low confidence predictions (<54%) are generally not considered valid by default at the consensus decision. Expert reviews can be applied to assess the acceptability of OOD or low confidence rates, considering good practice recommendations.

To ensure some transparency in the description of the model algorithms (an unambiguous algorithm - OECD Principle 2), more detailed information about each model is presented below. The Probability Map indicates the fragments more related to the absence (green) or presence (red) of toxicity, useful for hypotheses for mechanistic interpretations (OECD Principle 5).

Probability Map		
		
Algorithm	Prediction (Confidence)	Probability Mapping (SAR)
<b>Random Forest</b>  Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	Non-Mutagen (-) (81.7%)	
<b>kNN</b>  k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (85.7%)	
<b>Deep Learning</b>  Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Non-Mutagen (-) (94.5%)	

Detailed data about the dataset of chemicals; the end-point and descriptor values; the derivation of the descriptors; the test and training sets; the outliers removed; the statistical parameters and others are in the QMRF (QSAR Model Reporting Format) report, available to queries under a confidentiality agreement. Alttox Ltda assures scientific integrity of the data.

#### Random forest

Our random forest model (RF) was built with 750 individual decision trees models, and the final prediction is based on the ensemble (average) of each individual decision tree model prediction. Also, we employed the MACCS fingerprint bit vector as the independent variable for the RF model. The MACCS fingerprint is considered a global fingerprint based on the 166 SMARTS patterns commonly found in a broad range of molecules.

#### k-NN model

The k-nearest neighbors algorithm (k-NN) is a type of instance-based learning, or lazy learning, very similar to the "read-across" method. Our k-NN model assigns a prediction for a compound based on majority vote of its seven neighbors, in conjunction with ECFP4 circular fingerprints with 2048 bits and an atom radius of 2 (Morgan2). The Extended-Connectivity Fingerprints (ECFPs) are circular topological fingerprints designed for molecular characterization, similarity searching, and structure-activity modeling.

#### Deep Learning 3D

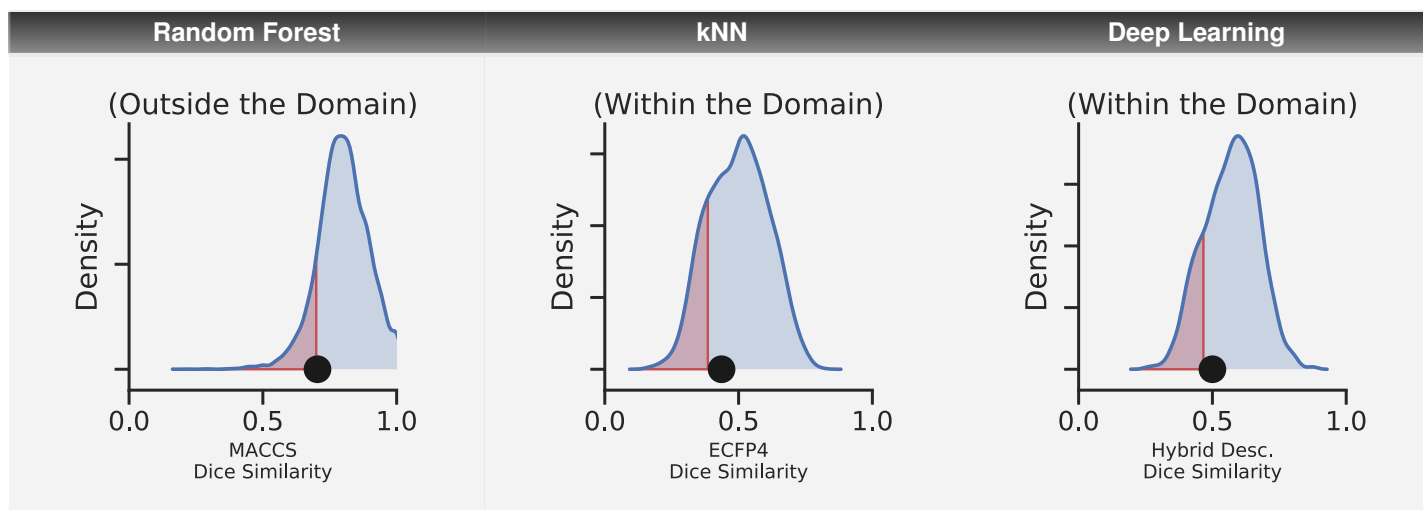
The Deep learning model is a machine learning algorithm based on neural networks or artificial intelligence components with multiple hidden layers that can learn increasingly abstract representations of the chemical fingerprint. In this model, the first hidden layers might only learn local edge patterns. Then, every 14 subsequent layers learn more complex representations. Finally, the last layer can evaluate the mutagenicity of the given compound. Also, the 3D toxicophoric fingerprint was employed. The "E3FP" is an algorithm to calculate 3D conformer fingerprint-like Feature Connectivity Fingerprint (FCFP).

## Visual AD Inspection®

The applicability domain (AD) is defined by the chemical structure space and the toxicological response encoded by the developed model, to make new predictions with a given reliability (a defined domain of applicability - OECD Principle 3). Our visual AS Inspection® is used to establish the scope and limitations of the models. Basically, new chemicals must be reasonably similar to training set compounds or a valid prediction cannot be accepted.

Our visual AD inspection is represented by a density plot of the average fingerprint-dice similarity for the k-nearest neighbors of each compound during the 5-Fold external model's validation. The chemical structure is represented by three different types of fingerprints: MACCS, ECFP4 and 3D toxicophoric. At the visual AD inspection, the black circle represents the evaluated compound, the highlighted red area means the forbidden similarity region, and the blue region is the allowed similarity chemical space to predict new compounds.

Even though a well-designed AD helps the user to assess the reliability of predictions made by the model, it should not automatically be assumed that all predictions within the defined AD are necessarily reliable.



## Final Result

The results are presented below; positive (red) and/or negative (green) predictions are presented with applicability domain (AD) and confidence level (robustness, OECD principle 4) for the rule and statistical-based models.

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus, based on a statistical battery of the following three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) and/or low confidence results (confidence <54%) predictions are not considered valid by default at the consensus decision.

For the conclusion, two (Q)SAR prediction methodologies that complement each other should be applied. One methodology is an expert rule-based and the second methodology is composed of statistical-based models. The absence of structural alerts from two complementary (Q)SAR methodologies (expert rule-based and statistical) is sufficient to conclude that the impurity is of no mutagenic concern, and no further testing is recommended (ICH M7).

Algorithm	Prediction (Confidence)	Applicability Domain
<b>Model 1 – Rule-based model</b>		
<b>Structural Alerts</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-
<b>Model 2 - Statistical battery</b>		
<b>Random Forest</b>		
Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	No call	Outside
<b>kNN</b>		
k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (85.7%)	Within
<b>Deep Learning</b>		
Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Non-Mutagen (-) (94.5%)	Within
<b>Statistical consensus (rigorous)</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-

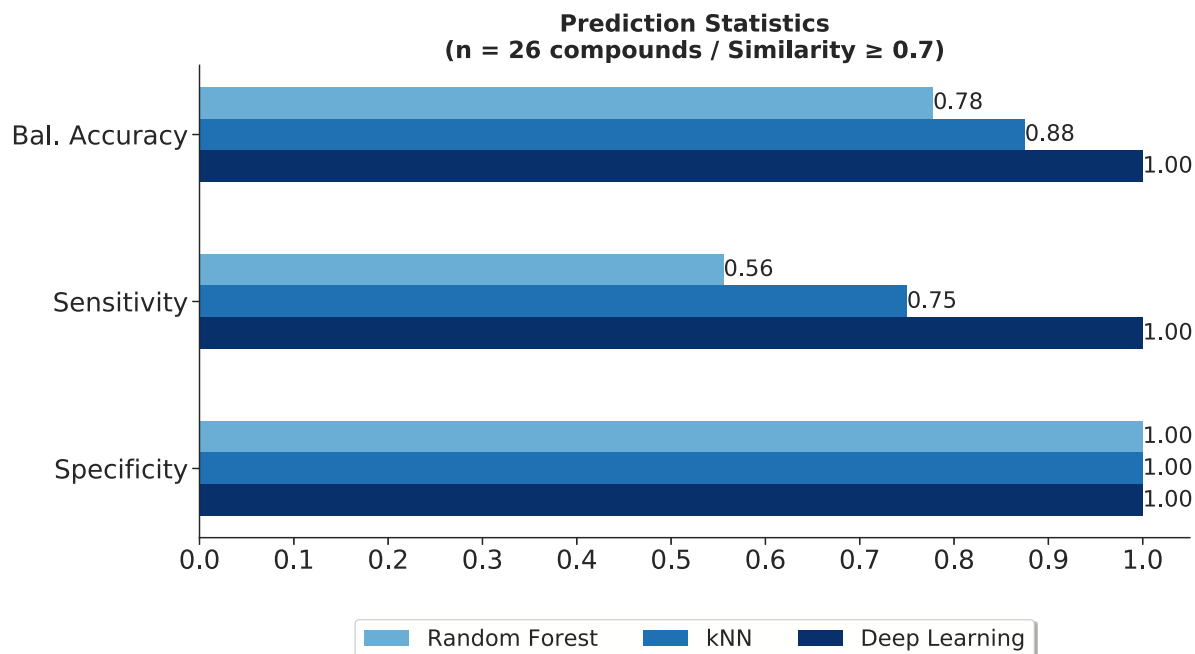
## Additional Information

### Prediction Confidence

Based on the most similar molecules

With appropriate measures of goodness-of-fit, robustness, and predictivity (OECD Principle 4), our model used different strategies to establish the performance of the model, which consisted of internal model performance (goodness-of-fit and robustness) and external model performance (predictivity).

To assess the confidence of the Genotox-iS™ predictions, after of to take into account the applicability domain of the model (Visual applicability domain (AD) Inspection®), additionally, the statistics of the ability to detect known mutagenic compounds (sensitivity), non-mutagenic compounds (specificity), and all molecules in general (concordance) based in the most similar substances are provided below. A map with similarity level for the 10 most similar molecules is provided with the confidence level for each statistical and artificial intelligence model.

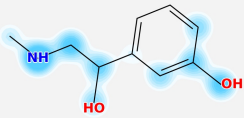
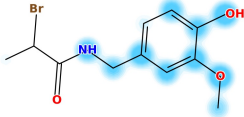
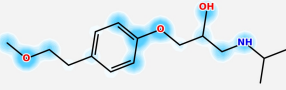
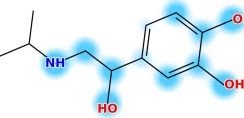
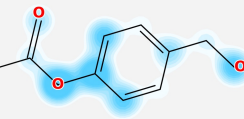
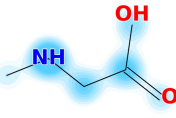


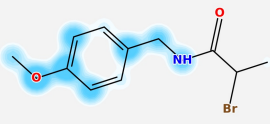
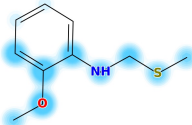
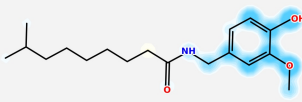
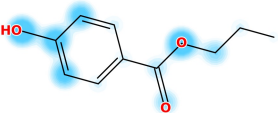
Sorensen-Dice MACCS similarity was used to improve the deep learning confidence by interpolating the confidence equalized by the compound similarity criteria obtained from the dataset chemical space. This helps to improve the *in silico* toxicological model to reduce the false positive and negative error.

### Performance for the 10-most similar molecules

#### Similarity Map



Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.86)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (77.3%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (75.7%)
 (0.78)	Mutagen	Mutagen (72.2%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (91.1%)
 (0.78)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (79.5%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (87.9%)
 (0.76)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (73.5%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (62.6%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (90.5%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (86.7%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (87.0%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (83.6%)

Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.75)	Mutagen	Mutagen (65.6%)	Mutagen (71.4%)	Mutagen (96.5%)
 (0.74)	Mutagen	Mutagen (57.9%)	Non-Mutagen (57.1%)	Mutagen (96.4%)
 (0.73)	Mutagen	Non-Mutagen (81.5%)	Mutagen (57.1%)	Mutagen (96.6%)
 (0.73)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (91.7%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (87.8%)





## Report

**Client:**

Universidade Federal de Goiás

**Username:**

Alisson Moraes e Silva

**Study Number:**

UniversidaCompostoIIIGenotox220105002743612

**Date:**

2022/01/04 - 22:27:43

**Program Version: 3.0**

## Molecular Query

**Name:**

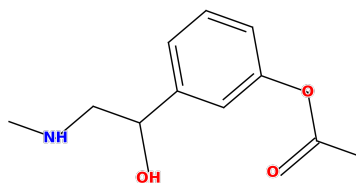
Composto III

**CAS:**

2724465-62-5

**SMILES:**

CNCC(O)c1cccc(OC(C)=O)c1



## Model Summary

Genotox-iS™ is a computational tool for prediction of mutagenicity by rule and statistical-based models, which were validated based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Principles for the Validation for Regulatory Purposes of (Q)SAR Models. These OECD principles are discussed in each section of this report.

Model 1 (Alert analysis) is a rule-based model with 102 Structural Alerts (included in 46 categories) for in vitro mutagenicity. Model 2 is a statistical battery with three algorithms trained by an in vitro mutagenicity dataset containing 6,931 rigorously curated structures (defined endpoint - OECD principle 1).

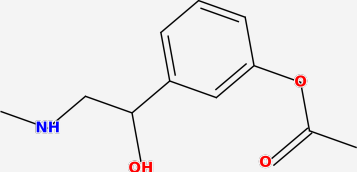
The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. Results of this statistical battery can be positive (mutagen), negative (non-mutagen), or equivocal (low confidence and out-of-domain predictions).

## Model 1 (Alert analysis) – Rule-based model

The result below is based on an analysis of fragments assigned to be mutagenic (*in vitro* mutagenicity alerts). When possible, the alerts can provide mechanistic basis of the predicted mutagenicity of the molecule or insights for interpretation of the mechanism based on theories and knowledge of toxicity mechanisms (OECD Principle 5).

Result: (-) Negative

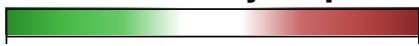
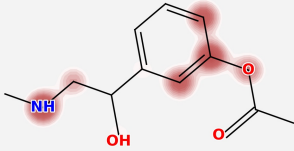
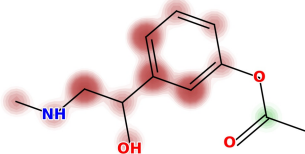
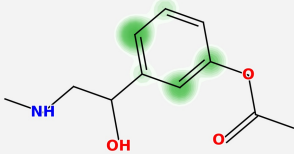
No alerts were found.

Molecule	Result
 <chem>CC(=O)Oc1ccc(cc1)C(C)(O)CCNC</chem>	No alerts found

## Model 2 - Statistical battery

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of the three following algorithms, exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) predictions and low confidence predictions (<54%) are generally not considered valid by default at the consensus decision. Expert reviews can be applied to assess the acceptability of OOD or low confidence rates, considering good practice recommendations.

To ensure some transparency in the description of the model algorithms (an unambiguous algorithm - OECD Principle 2), more detailed information about each model is presented below. The Probability Map indicates the fragments more related to the absence (green) or presence (red) of toxicity, useful for hypotheses for mechanistic interpretations (OECD Principle 5).

Probability Map		
		
Algorithm	Prediction (Confidence)	Probability Mapping (SAR)
<b>Random Forest</b>  Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	Non-Mutagen (-) (80.2%)	
<b>kNN</b>  k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (71.4%)	
<b>Deep Learning</b>  Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Non-Mutagen (-) (99.9%)	

Detailed data about the dataset of chemicals; the end-point and descriptor values; the derivation of the descriptors; the test and training sets; the outliers removed; the statistical parameters and others are in the QMRF (QSAR Model Reporting Format) report, available to queries under a confidentiality agreement. Alttox Ltda assures scientific integrity of the data.

### Random forest

Our random forest model (RF) was built with 750 individual decision trees models, and the final prediction is based on the ensemble (average) of each individual decision tree model prediction. Also, we employed the MACCS fingerprint bit vector as the independent variable for the RF model. The MACCS fingerprint is considered a global fingerprint based on the 166 SMARTS patterns commonly found in a broad range of molecules.

### k-NN model

The k-nearest neighbors algorithm (k-NN) is a type of instance-based learning, or lazy learning, very similar to the "read-across" method. Our k-NN model assigns a prediction for a compound based on majority vote of its seven neighbors, in conjunction with ECFP4 circular fingerprints with 2048 bits and an atom radius of 2 (Morgan2). The Extended-Connectivity Fingerprints (ECFPs) are circular topological fingerprints designed for molecular characterization, similarity searching, and structure-activity modeling.

### Deep Learning 3D

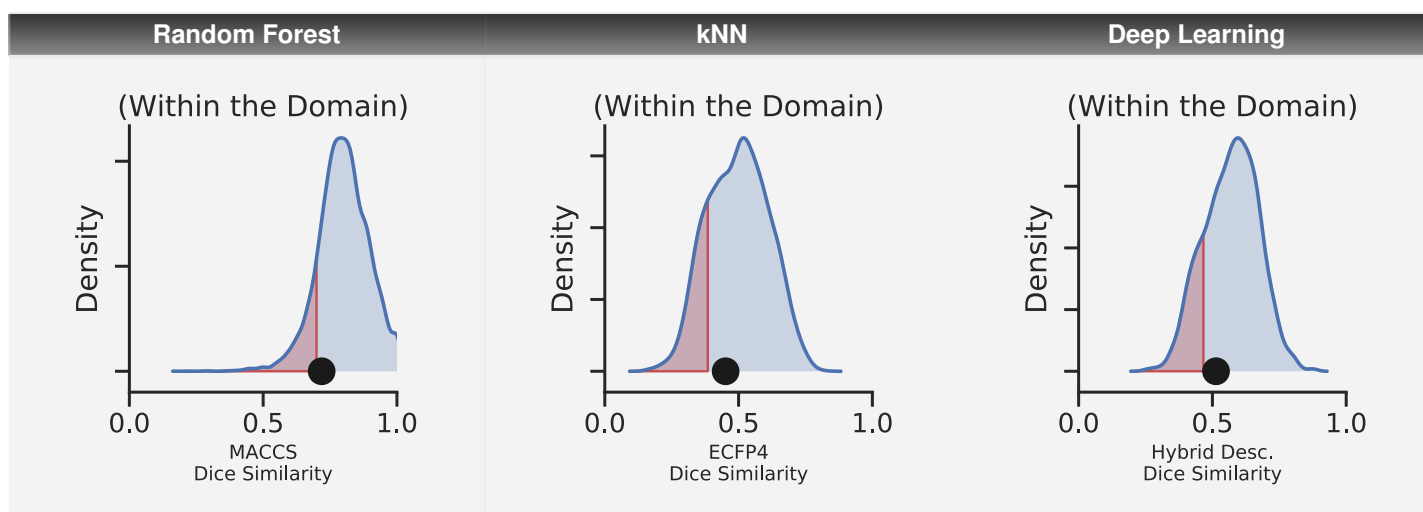
The Deep learning model is a machine learning algorithm based on neural networks or artificial intelligence components with multiple hidden layers that can learn increasingly abstract representations of the chemical fingerprint. In this model, the first hidden layers might only learn local edge patterns. Then, every 14 subsequent layers learn more complex representations. Finally, the last layer can evaluate the mutagenicity of the given compound. Also, the 3D toxicophoric fingerprint was employed. The "E3FP" is an algorithm to calculate 3D conformer fingerprint-like Feature Connectivity Fingerprint (FCFP).

## Visual AD Inspection®

The applicability domain (AD) is defined by the chemical structure space and the toxicological response encoded by the developed model, to make new predictions with a given reliability (a defined domain of applicability - OECD Principle 3). Our visual AS Inspection® is used to establish the scope and limitations of the models. Basically, new chemicals must be reasonably similar to training set compounds or a valid prediction cannot be accepted.

Our visual AD inspection is represented by a density plot of the average fingerprint-dice similarity for the k-nearest neighbors of each compound during the 5-Fold external model's validation. The chemical structure is represented by three different types of fingerprints: MACCS, ECFP4 and 3D toxicophoric. At the visual AD inspection, the black circle represents the evaluated compound, the highlighted red area means the forbidden similarity region, and the blue region is the allowed similarity chemical space to predict new compounds.

Even though a well-designed AD helps the user to assess the reliability of predictions made by the model, it should not automatically be assumed that all predictions within the defined AD are necessarily reliable.






## Final Result

The results are presented below; positive (red) and/or negative (green) predictions are presented with applicability domain (AD) and confidence level (robustness, OECD principle 4) for the rule and statistical-based models.

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus, based on a statistical battery of the following three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) and/or low confidence results (confidence <54%) predictions are not considered valid by default at the consensus decision.

For the conclusion, two (Q)SAR prediction methodologies that complement each other should be applied. One methodology is an expert rule-based and the second methodology is composed of statistical-based models. The absence of structural alerts from two complementary (Q)SAR methodologies (expert rule-based and statistical) is sufficient to conclude that the impurity is of no mutagenic concern, and no further testing is recommended (ICH M7).

Algorithm	Prediction (Confidence)	Applicability Domain
<b>Model 1 – Rule-based model</b>		
<b>Structural Alerts</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-
<b>Model 2 - Statistical battery</b>		
<b>Random Forest</b>		
Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (80.2%)	Within 
<b>kNN</b>		
k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (71.4%)	Within 
<b>Deep Learning</b>		
Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	<b>Non-Mutagen (-)</b> (99.9%)	Within 
<b>Statistical consensus (rigorous)</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-

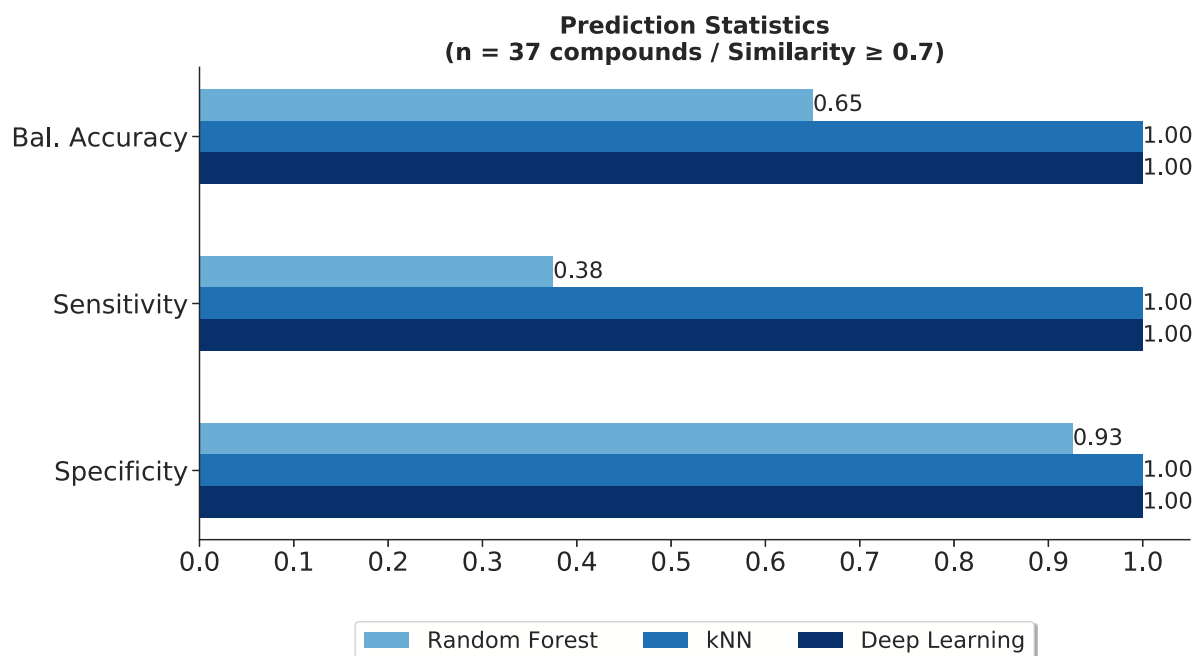
## Additional Information

### Prediction Confidence

Based on the most similar molecules

With appropriate measures of goodness-of-fit, robustness, and predictivity (OECD Principle 4), our model used different strategies to establish the performance of the model, which consisted of internal model performance (goodness-of-fit and robustness) and external model performance (predictivity).

To assess the confidence of the Genotox-iS™ predictions, after of to take into account the applicability domain of the model (Visual applicability domain (AD) Inspection®), additionally, the statistics of the ability to detect known mutagenic compounds (sensitivity), non-mutagenic compounds (specificity), and all molecules in general (concordance) based in the most similar substances are provided below. A map with similarity level for the 10 most similar molecules is provided with the confidence level for each statistical and artificial intelligence model.

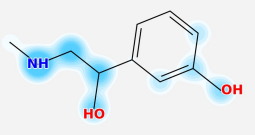
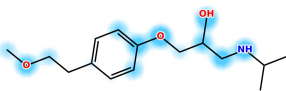
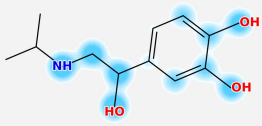
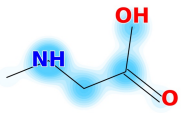
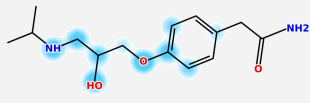
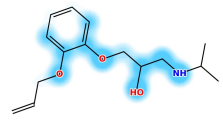


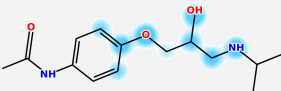
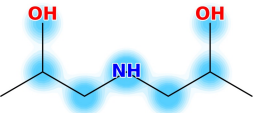
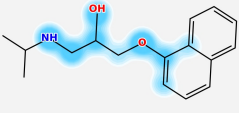
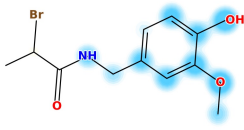
Sorensen-Dice MACCS similarity was used to improve the deep learning confidence by interpolating the confidence equalized by the compound similarity criteria obtained from the dataset chemical space. This helps to improve the *in silico* toxicological model to reduce the false positive and negative error.

### Performance for the 10-most similar molecules

#### Similarity Map



Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.92)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (77.3%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (75.7%)
 (0.82)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (79.5%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (87.9%)
 (0.81)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (73.5%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (62.6%)
 (0.81)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (87.0%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (83.6%)
 (0.76)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (78.8%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (89.9%)
 (0.76)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (93.9%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (77.9%)

Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (86.7%)	Non-Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (87.8%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (74.4%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (78.7%)
 (0.74)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (69.6%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (90.3%)
 (0.74)	Mutagen	Mutagen (72.2%)	Mutagen (100.0%)	Mutagen (91.1%)





## Report

**Client:**

Universidade Federal de Goiás

**Username:**

Alisson Moraes e Silva

**Study Number:**

UniversidaCompostoIVGenotox220105003047783

**Date:**

2022/01/04 - 22:30:47

**Program Version: 3.0**

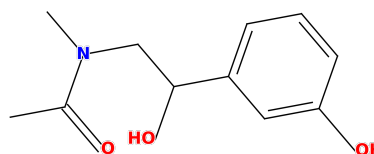
## Molecular Query

**Name:**

Composto IV

**CAS:**

58952-80-0

**SMILES:**CC(=O)N(C)CC(O)c1cccc(O)c1

## Model Summary

Genotox-iS<sup>TM</sup> is a computational tool for prediction of mutagenicity by rule and statistical-based models, which were validated based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Principles for the Validation for Regulatory Purposes of (Q)SAR Models. These OECD principles are discussed in each section of this report.

Model 1 (Alert analysis) is a rule-based model with 102 Structural Alerts (included in 46 categories) for in vitro mutagenicity. Model 2 is a statistical battery with three algorithms trained by an in vitro mutagenicity dataset containing 6,931 rigorously curated structures (defined endpoint - OECD principle 1).

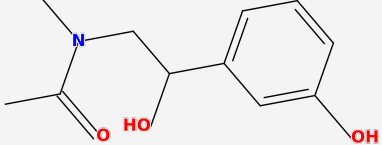
The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. Results of this statistical battery can be positive (mutagen), negative (non-mutagen), or equivocal (low confidence and out-of-domain predictions).

## Model 1 (Alert analysis) – Rule-based model

The result below is based on an analysis of fragments assigned to be mutagenic (*in vitro* mutagenicity alerts). When possible, the alerts can provide mechanistic basis of the predicted mutagenicity of the molecule or insights for interpretation of the mechanism based on theories and knowledge of toxicity mechanisms (OECD Principle 5).

Result: (-) Negative

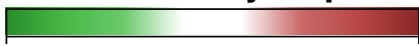
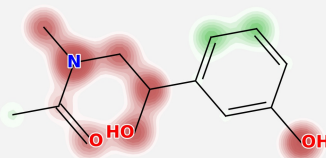
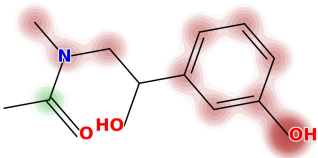
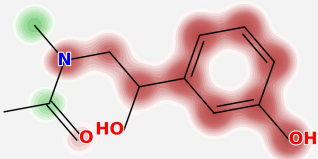
No alerts were found.

Molecule	Result
 <chem>CC(=O)N(C)CC(C)(C)c1ccc(O)cc1</chem>	No alerts found

## Model 2 - Statistical battery

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus of the three following algorithms, exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) predictions and low confidence predictions (<54%) are generally not considered valid by default at the consensus decision. Expert reviews can be applied to assess the acceptability of OOD or low confidence rates, considering good practice recommendations.

To ensure some transparency in the description of the model algorithms (an unambiguous algorithm - OECD Principle 2), more detailed information about each model is presented below. The Probability Map indicates the fragments more related to the absence (green) or presence (red) of toxicity, useful for hypotheses for mechanistic interpretations (OECD Principle 5).

Probability Map		
		
Algorithm	Prediction (Confidence)	Probability Mapping (SAR)
<b>Random Forest</b>  Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	Non-Mutagen (-) (74.2%)	
<b>kNN</b>  k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	Non-Mutagen (-) (71.4%)	
<b>Deep Learning</b>  Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	Mutagen (+) (77.2%)	

Detailed data about the dataset of chemicals; the end-point and descriptor values; the derivation of the descriptors; the test and training sets; the outliers removed; the statistical parameters and others are in the QMRF (QSAR Model Reporting Format) report, available to queries under a confidentiality agreement. Alttox Ltda assures scientific integrity of the data.

### Random forest

Our random forest model (RF) was built with 750 individual decision trees models, and the final prediction is based on the ensemble (average) of each individual decision tree model prediction. Also, we employed the MACCS fingerprint bit vector as the independent variable for the RF model. The MACCS fingerprint is considered a global fingerprint based on the 166 SMARTS patterns commonly found in a broad range of molecules.

### k-NN model

The k-nearest neighbors algorithm (k-NN) is a type of instance-based learning, or lazy learning, very similar to the "read-across" method. Our k-NN model assigns a prediction for a compound based on majority vote of its seven neighbors, in conjunction with ECFP4 circular fingerprints with 2048 bits and an atom radius of 2 (Morgan2). The Extended-Connectivity Fingerprints (ECFPs) are circular topological fingerprints designed for molecular characterization, similarity searching, and structure-activity modeling.

### Deep Learning 3D

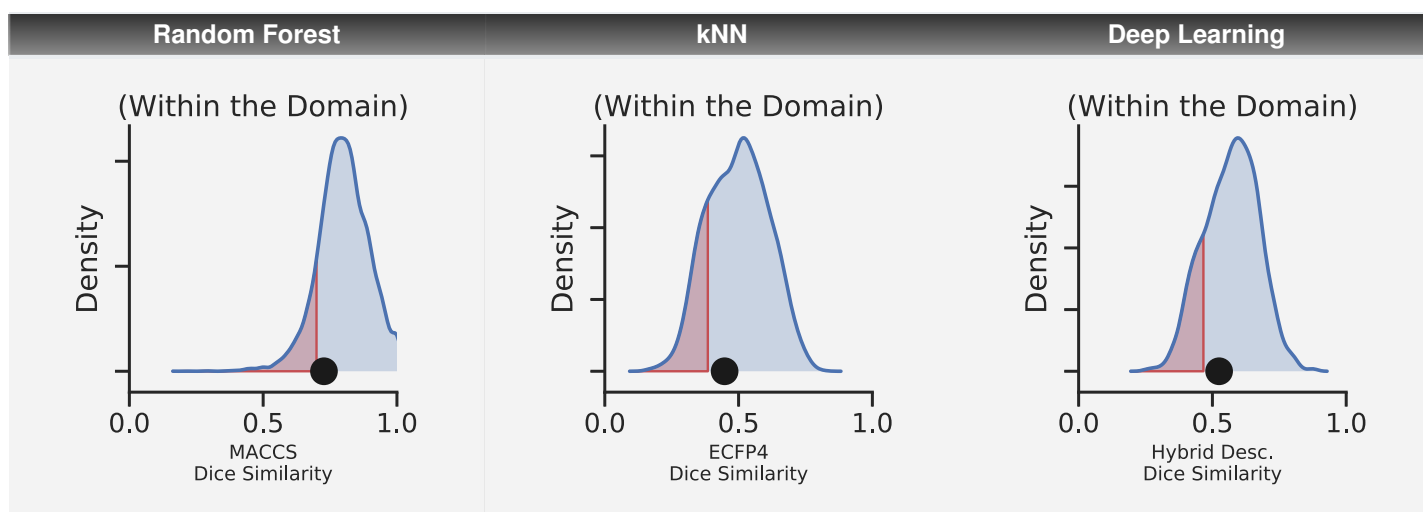
The Deep learning model is a machine learning algorithm based on neural networks or artificial intelligence components with multiple hidden layers that can learn increasingly abstract representations of the chemical fingerprint. In this model, the first hidden layers might only learn local edge patterns. Then, every 14 subsequent layers learn more complex representations. Finally, the last layer can evaluate the mutagenicity of the given compound. Also, the 3D toxicophoric fingerprint was employed. The "E3FP" is an algorithm to calculate 3D conformer fingerprint-like Feature Connectivity Fingerprint (FCFP).

## Visual AD Inspection®

The applicability domain (AD) is defined by the chemical structure space and the toxicological response encoded by the developed model, to make new predictions with a given reliability (a defined domain of applicability - OECD Principle 3). Our visual AS Inspection® is used to establish the scope and limitations of the models. Basically, new chemicals must be reasonably similar to training set compounds or a valid prediction cannot be accepted.

Our visual AD inspection is represented by a density plot of the average fingerprint-dice similarity for the k-nearest neighbors of each compound during the 5-Fold external model's validation. The chemical structure is represented by three different types of fingerprints: MACCS, ECFP4 and 3D toxicophoric. At the visual AD inspection, the black circle represents the evaluated compound, the highlighted red area means the forbidden similarity region, and the blue region is the allowed similarity chemical space to predict new compounds.

Even though a well-designed AD helps the user to assess the reliability of predictions made by the model, it should not automatically be assumed that all predictions within the defined AD are necessarily reliable.






## Final Result

The results are presented below; positive (red) and/or negative (green) predictions are presented with applicability domain (AD) and confidence level (robustness, OECD principle 4) for the rule and statistical-based models.

The statistical-based prediction is obtained by a rigorous consensus, based on a statistical battery of the following three algorithms exploring different hypotheses from global and local-based inferences. If at least one of the valid statistical hypotheses is positive for mutagenicity, the final result of the statistical battery is positive by attending the rigorous consensus method. Out of domain (OOD) and/or low confidence results (confidence <54%) predictions are not considered valid by default at the consensus decision.

For the conclusion, two (Q)SAR prediction methodologies that complement each other should be applied. One methodology is an expert rule-based and the second methodology is composed of statistical-based models. The absence of structural alerts from two complementary (Q)SAR methodologies (expert rule-based and statistical) is sufficient to conclude that the impurity is of no mutagenic concern, and no further testing is recommended (ICH M7).

Algorithm	Prediction (Confidence)	Applicability Domain
<b>Model 1 – Rule-based model</b>		
<b>Structural Alerts</b>	<b>Non-Mutagen (-)</b>	-
<b>Model 2 - Statistical battery</b>		
<b>Random Forest</b>		
Machine learning decision model implemented with the 2D MACCS fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (74.2%)	Within 
<b>kNN</b>		
k-nearest neighbors decision model implemented with the 2D Extended Connectivity Fingerprint	<b>Non-Mutagen (-)</b> (71.4%)	Within 
<b>Deep Learning</b>		
Deep Learning categorical model implemented with hybrid descriptors (ECFP6 fingerprint and physicochemical properties: MW, TPSA, logK <sub>ow</sub> , logD)	<b>Mutagen (+)</b> (77.2%)	Within 
<b>Statistical consensus (rigorous)</b>	<b>Mutagen (+)</b>	-

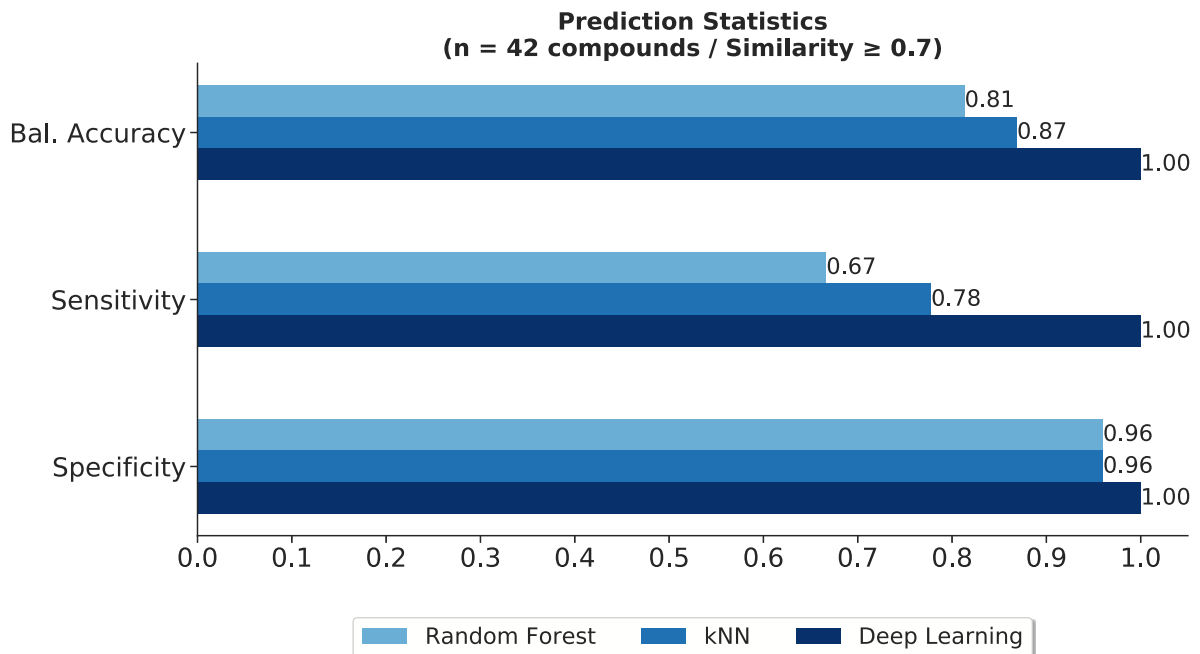
## Additional Information

### Prediction Confidence

Based on the most similar molecules

With appropriate measures of goodness-of-fit, robustness, and predictivity (OECD Principle 4), our model used different strategies to establish the performance of the model, which consisted of internal model performance (goodness-of-fit and robustness) and external model performance (predictivity).

To assess the confidence of the Genotox-iS™ predictions, after of to take into account the applicability domain of the model (Visual applicability domain (AD) Inspection®), additionally, the statistics of the ability to detect known mutagenic compounds (sensitivity), non-mutagenic compounds (specificity), and all molecules in general (concordance) based in the most similar substances are provided below. A map with similarity level for the 10 most similar molecules is provided with the confidence level for each statistical and artificial intelligence model.

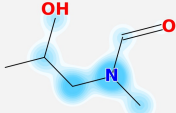
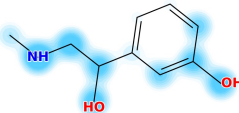
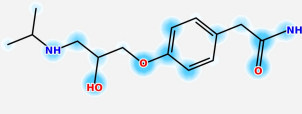
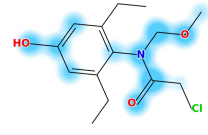
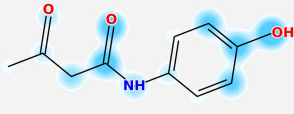
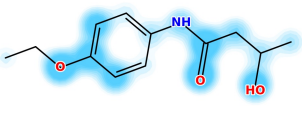


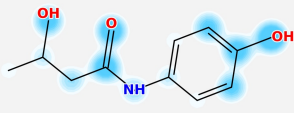
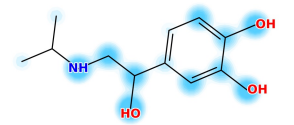
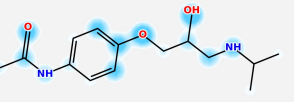
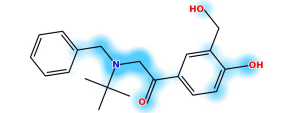
Sorensen-Dice MACCS similarity was used to improve the deep learning confidence by interpolating the confidence equalized by the compound similarity criteria obtained from the dataset chemical space. This helps to improve the *in silico* toxicological model to reduce the false positive and negative error.

### Performance for the 10-most similar molecules

#### Similarity Map



Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.81)	Mutagen	Non-Mutagen (88.3%)	Non-Mutagen (57.1%)	Mutagen (54.8%)
 (0.77)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (77.3%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (75.7%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (78.8%)	Non-Mutagen (85.7%)	Non-Mutagen (89.9%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (56.5%)	Non-Mutagen (100.0%)	Non-Mutagen (80.4%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (88.8%)	Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (85.6%)
 (0.75)	Mutagen	Non-Mutagen (78.1%)	Mutagen (57.1%)	Mutagen (63.0%)

Molecule (Similarity)	Experimental Data	Random Forest Prediction (Confidence)	kNN Prediction (Confidence)	Deep Learning Prediction (Confidence)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (92.5%)	Non-Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (86.7%)
 (0.75)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (73.5%)	Non-Mutagen (71.4%)	Non-Mutagen (62.6%)
 (0.74)	Non-Mutagen	Non-Mutagen (86.7%)	Non-Mutagen (57.1%)	Non-Mutagen (87.8%)
 (0.74)	Mutagen	Non-Mutagen (51.2%)	Non-Mutagen (71.4%)	Mutagen (65.6%)



**ANEXO V**

**DADOS PARA CÁLCULO DO BALANÇO DE MASSAS NAS AMOSTRAS  
DEGRADADAS**

<b>Sample Name</b>	Fenilefrina + Dexc Mal Temp	<b>Injection Vial</b>	36
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/1/2021 1:33:18 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>	Fenilefrina + Dexc Mal Temp.wiff		
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3520	6.99	N/A	<2 points
Composto I	135	7.54	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 6.99 (6.99) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000)  RT (Exp. RT): 7.54 (7.54) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Fenilefrina + Dexclorf Umidade	<b>Injection Vial</b>	12
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 5:26:18 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>	Fenilefrina + Dexclorf Umidade.wiff		
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3695	6.95	N/A	<2 points
Composto I	115	7.50	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 6.95 (6.93) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000)  RT (Exp. RT): 7.50 (7.45) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Fenilefrina + Fenir Mal Temp	<b>Injection Vial</b>	39
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/1/2021 3:44:28 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	2021\2021 02 08 Fenilefrina\Data\20211031	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>	Fenilefrina + Fenir Mal Temp.wiff		
<b>Result Table</b>	Fenil + Fenir Temp		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3159	7.01	N/A	<2 points
Composto I	292	7.54	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000) RT (Exp. RT): 7.01 (6.99) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000) RT (Exp. RT): 7.54 (7.54) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Fenilefrina + Fenir Mal. Umid	<b>Injection Vial</b>	11
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/1/2021 12:23:33 AM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>	Fenilefrina + Fenir Mal. Umid.wiff		
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3416	7.01	N/A	<2 points
Composto I	123	7.56	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 7.01 (6.99) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000)  RT (Exp. RT): 7.56 (7.54) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Fenilefrina + AAS Umidade	<b>Injection Vial</b>	14
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/2/2021 12:21:35 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	2021\2021 02 08 Fenilefrina\Data\20211031	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>	Fenilefrina + AAS Umidade.wiff		
<b>Result Table</b>	Fenil+AAS Umid		
<b>Sample Comment</b>			

<b>Target Analyte</b>	<b>Area (cps)</b>	<b>RT (min)</b>	<b>Target conc. ( )</b>	<b>Calc. Conc. ( )</b>
Composto II	8	13.83	N/A	<2 points
Composto III	1	15.15	N/A	<2 points
Composto IV	35	15.63	N/A	<2 points
Fenilefrina	3499	6.99	N/A	<2 points

<p>Composto II (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 13.83 (13.83) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>Composto III (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 15.15 (15.15) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>Composto IV (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 15.63 (15.63) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>Fenilefrina (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 6.99 (6.99) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	

**ANEXO VI**

**DADOS PARA QUANTIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO  
ELUCIDADOS EM MEDICAMENTOS DISPONÍVEIS NO MERCADO LOCAL**

<b>Sample Name</b>	Medicamento 1	<b>Injection Vial</b>	1
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 9:25:22 AM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	2886	6.93	N/A	<2 points
Composto I	689	7.45	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000) RT (Exp. RT): 6.93 (6.93) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000) RT (Exp. RT): 7.45 (7.45) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Medicamento 2	<b>Injection Vial</b>	2
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 10:09:05 AM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3410	6.91	N/A	<2 points
Composto I	190	7.46	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000) RT (Exp. RT): 6.91 (6.93) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000) RT (Exp. RT): 7.46 (7.45) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Medicamento 3	<b>Injection Vial</b>	3
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 10:52:48 AM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3191	6.90	N/A	<2 points
Composto I	558	7.43	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000) RT (Exp. RT): 6.90 (6.93) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
Composto I (270.0000) RT (Exp. RT): 7.43 (7.45) min Calculated conc: <2 points Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	

<b>Sample Name</b>	Medicamento 4	<b>Injection Vial</b>	4
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 11:36:31 AM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	1963	7.05	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 7.05 (6.93) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
--	--

<b>Sample Name</b>	Medicamento 5	<b>Injection Vial</b>	5
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 12:20:15 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3687	6.92	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 6.92 (6.93) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
--	--

<b>Sample Name</b>	Medicamento 6	<b>Injection Vial</b>	6
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 1:03:59 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3583	6.93	N/A	<2 points

Fenilefrina (270.0000)  RT (Exp. RT): 6.93 (6.93) min  Calculated conc: <2 points  Area Ratio: N/A Sample Type: (Unknown)	
--	--

<b>Sample Name</b>	Medicamento 7	<b>Injection Vial</b>	7
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 1:47:42 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	2021\2021 02 08 Fenilefrina\Data\20211103	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	Fenilefrina		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3658	6.92	N/A	<2 points

<p>Fenilefrina (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 6.92 (6.93) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
--	--

<b>Sample Name</b>	Medicamento 8	<b>Injection Vial</b>	8
<b>Sample ID</b>		<b>Injection Volume</b>	20.00
<b>Sample Type</b>	Unknown	<b>Algorithm Used</b>	MQ4
<b>Acquisition Date</b>	11/3/2021 2:31:25 PM	<b>Dilution Factor</b>	1.00
<b>Acquisition Method</b>	Corrida POS2.dam	<b>Weight to Volume</b>	N/A
<b>Project</b>	N/A	<b>Instrument Name</b>	TripleTOF 5600
<b>Data File</b>			
<b>Result Table</b>	N/A		
<b>Sample Comment</b>			

Target Analyte	Area (cps)	RT (min)	Target conc. ( )	Calc. Conc. ( )
Fenilefrina	3708	6.97	N/A	<2 points

<p>Fenilefrina (270.0000)</p> <p>RT (Exp. RT): 6.97 (6.93) min</p> <p>Calculated conc: &lt;2 points</p> <p>Area Ratio: N/A</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
--	--