

ANEXO I

ENSAIOS

1 - Ensaios Físicos:

1.1 - Esvaziamento sob pressão:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.2 - Resistência à tração:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.3 - Fixação da agulha:

Aplicar e manter uma força de tração de 20 N ao longo do eixo longitudinal durante 15 segundos.

1.4 - Permanência do Rótulo:

As bolsas plásticas, cheias com água até sua capacidade nominal e seladas, devem ser armazenadas por 5 dias a uma temperatura de $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$. Esse período inicial deve ser seguido de um período de 24 horas a uma temperatura máxima de -40°C e então 24 horas a $(5 \pm 1)^\circ\text{C}$. As bolsas plásticas rotuladas e/ou com identificação impressa devem ser submersas em um reservatório de água mantido a uma temperatura de $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 24 horas.

1.5 - Velocidade de enchimento:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.6 - Transparência:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.6.1 - Preparo da suspensão opalescente padrão:

A - Reagentes:

1 - Solução de sulfato de hidrazina:

Dissolver 1,0 g de sulfato de hidrazina em água destilada e diluir para 100 ml. Deixar em repouso por 4 a 6 horas.

2 - Solução de hexametilenotetramina:

Dissolver 2,5 g de hexametilenotetramina em 25 ml de água destilada em um frasco de 100 ml com tampa.

3 - Suspensão opalescente primária:

Adicionar à solução de hexametilenotetramina 25 ml da solução de sulfato de hidrazina. Misturar e deixar em repouso por 24 horas.

Esta suspensão é estável por 2 meses, quando estocada em recipiente de vidro, isento de defeitos na superfície. A suspensão não deve aderir ao vidro e deve ser bem misturada antes do uso.

4 - Suspensão opalescente padrão:

Diluir 15 ml da suspensão opalescente primária para 1000 ml com água destilada.

Esta suspensão deve ser recentemente preparada e pode ser estocada por, no máximo, 24 horas.

1.7 - Permeabilidade ao vapor:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.8 - Resistência à deformação e vazamento:

1.8.1 - Resistência à centrifugação:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.8.2 - Resistência à pressão:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.9 - Alça de Suspensão:

Os meios de suspensão ou posicionamento devem ser capazes de suportar, sem se romper, uma força de 20 N aplicada ao longo do eixo longitudinal dos tubos de saída, durante 60 minutos, a uma temperatura de $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Nota: Este teste será realizado apenas após a realização do teste de estabilidade térmica.

1.10 - Resistência a variações de temperatura:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.11 - Volume da solução:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.12 - Absorção no ultravioleta:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

1.13 - pH:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

1.14 - Partículas subvisíveis.

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia para soluções injetáveis.

2 - Ensaios químicos e físico-químicos:

2.1 - Teor de fosfato diácido de sódio:

2.1.1 - Método A (espectrofotometria):

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

Espectrofotometria para ambas as soluções CPD e CPDA, utilizando como reagentes soluções de molibdato de amônia e hidroquinona para formação de complexo lido a 660 nm.

2.1.2 - Método B (cromatografia líquida):

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

2.2 - Teor de glicose, frutose e manitol:

2.2.1 - Método A (cromatografia líquida):

2.2.1.1 - Aparelhagem e material:

a) cromatógrafo líquido dotado de forno para coluna e detector de índice de refração;

b) coluna para carboidratos L-19 com resina de troca catiônica forte constituída de copolímero estireno divinilbenzeno com ligação cruzada sulfonatado na forma cálcio;

c) balança analítica;

d) vidraria de laboratório;

e) micropipetas de volumes variados;

f) glicose, frutose e manitol padrão grau analítico com pureza conhecida.

2.2.1.2 - Condições de análise:

a) fase móvel: água tipo I degaseificada;

b) fluxo: 0,5 ml/minuto;

c) temperatura do forno: 80°C .

2.2.1.3 - Preparo das soluções padrão:

Secar glicose, frutose e manitol e preparar solução mãe de glicose a 40 g/L, frutose a 5 g/L e manitol a 20 g/L. Diluir e avolumar alíquotas dessas soluções em fase móvel para obter os níveis de concentrações das curvas analíticas dos analitos:

Glicose: 2,1; 2,3; 2,5; 2,7; 2,9; 3,1 e 3,3 g/L.

Frutose: 0,010; 0,083; 0,156; 0,229; 0,302; 0,375 e 0,448 g/L.

Manitol: 0,90; 1,05; 1,20; 1,35; 1,50; 1,65 e 1,80 g/L.

2.2.1.4 - Preparo das soluções amostra:

Preparar as soluções amostra em triplicata.

Solução anticoagulante CPDA-1, CPD e ACD-A:

Pipetar volumetricamente alíquota de 5,0 ml, diluir e avolumar para 50,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

Solução anticoagulante ACD-B:

Pipetar volumetricamente alíquota de 10,0 ml, diluir e avolumar para 50,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

Solução preservadora SAG-M1:

Pipetar volumetricamente alíquota de 15,0 ml, diluir e avolumar para 50,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

Solução preservadora SAG-M2:

Pipetar volumetricamente alíquota de 15,0 ml, diluir e avolumar para 100,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

2.2.1.5 - Ensaio:

Injetar alíquotas de 20,0 μL em duplicata das soluções padrão e das soluções amostra e medir as áreas dos sinais referentes à glicose, frutose e manitol.

2.2.1.6 - Resultados:

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em g/L de glicose, frutose e manitol, respectivamente;

Determinar as médias das concentrações de glicose, frutose e manitol na solução amostra em g/L por interpolação na curva obtida;

Calcular o conteúdo de glicose, frutose e manitol em g/L na solução anticoagulante e/ou preservadora pela expressão considerando a diluição da amostra:

$$C = ((V_{\text{dil}} / V_{\text{aliqu}}) \times c)$$

Onde: c = concentração de glicose, frutose e manitol na amostra em g/L, obtida na curva de calibração;

V_{aliqu} - Volume de alíquota (ml); e

V_{dil} - Volume final de diluição (ml).

Nota: O somatório dos teores de glicose e frutose serão genericamente expressos como glicose monidratada.

2.2.2 - Método B:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

2.3 - Teor de citrato total expresso em ácido cítrico anidro:

2.3.1 - Método A (cromatografia líquida):

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

2.3.2 - Método B (cromatografia líquida):

2.3.2.1 - Aparelhagem e material:

a) cromatógrafo líquido dotado de forno para coluna e detector de ultravioleta;

b) coluna para ácidos carboxílicos L-17 com resina de troca catiônica forte constituída de copolímero estireno divinilbenzeno com ligação cruzada sulfonatado na forma hidrogênio;

c) balança analítica;

d) vidraria de laboratório;

e) micropipetas de volumes variados;

f) ácido cítrico padrão grau analítico, com pureza conhecida, e ácido sulfúrico grau HPLC.

2.3.2.2 - Condições de análise:

a) fase móvel: ácido sulfúrico 0,009 M;

b) fluxo: 0,5 ml/minuto;

c) temperatura do forno: 40°C

d) comprimento de onda: 230 nm.

2.3.2.3 - Preparo das soluções padrão:

Secar ácido cítrico e preparar solução mãe a 25 g/L. Diluir e avolumar alíquotas dessa solução em fase móvel para obter os níveis de concentrações da curva analítica:

Ácido cítrico: 1,8; 1,9; 2,0; 2,1; 2,2; 2,3 e 2,4 g/L.

2.3.2.4 - Preparo das soluções amostra:

Preparar as soluções-amostra em triplicata.

Solução anticoagulante CPD, CPDA-1 e ACD-A:

Pipetar volumetricamente alíquota de 5,0 ml, diluir e avolumar para 50,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

Solução anticoagulante ACD-B:

Pipetar volumetricamente alíquota de 15,0 ml, diluir e avolumar para 100,0 ml com a fase móvel em balão volumétrico.

2.3.2.5 - Ensaio:

Injetar alíquotas de 20,0 μL em duplicata das soluções padrão e das soluções amostra e medir as áreas dos sinais referente ao ácido cítrico.

2.3.2.6 - Resultados:

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em g/L de ácido cítrico.

Determinar a média da concentração de citrato total expressa em ácido cítrico na solução-amostra em g/L por interpolação na curva obtida.

Calcular o conteúdo de citrato total em g/L na solução anticoagulante pela expressão considerando a diluição da amostra:

$$C = ((V_{\text{dil}} / V_{\text{aliqu}}) \times c)$$

Onde: c = concentração de citrato total expressa em ácido cítrico (g/L) determinada na curva de calibração;

V_{aliqu} - Volume de alíquota (ml); e

V_{dil} - Volume final de diluição (ml).

2.3.3 - Método C (espectrofotometria)

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia.

2.4 - Sódio:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

2.5 - Teor de adenina:

2.5.1 - Método A:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Americana.

2.5.2 - Método B - cromatografia líquida:

2.5.2.1 - Aparelhagem e material:

a) cromatógrafo líquido dotado de forno para coluna e detector de ultravioleta;

b) coluna de fase reversa C-8 (250 x4,6) mm, 5 μm ;

c) balança analítica;

d) vidraria de laboratório;

e) micropipetas de volumes variados;

f) adenina padrão grau analítico com pureza conhecida, heptano sulfonato de sódio; acetato de amônio; ácido acético; acetoneitrila.

2.5.2.2 - Condições de análise:

a) fase móvel: 50 mg de heptano sulfonato de sódio; 200 mg de acetato de amônio; 25,00ml de ácido acético, 50,00ml de acetoneitrila diluídos e avolumados com Água Tipo 1 para 1000,0ml.

b) fluxo: 0,6 ml/minuto;

d) temperatura do forno: 40°C ;

e) comprimento de onda: 262 nm.

2.5.2.3 - Preparo das soluções padrão:

Secar adenina e preparar a solução mãe pela diluição de cerca de 30 mg dissolvido inicialmente em 5 ml de ácido acético (1:1) e avolumado com fase móvel para 50 ml. Diluir e avolumar alíquotas desta solução mãe para obter os níveis de concentrações da curva analítica:

Adenina: 0,0264; 0,0300; 0,0336; 0,0372; 0,0408; 0,0444; 0,0480 g/L

2.5.2.4 - Preparo das soluções amostra:

Preparar as soluções amostra em triplicata.

Solução CPDA e SAG-M2

Pipetar volumetricamente alíquota de 7,0 ml, diluir e avolumar para 50,0 ml com fase móvel em balão volumétrico.

Solução SAG-M1

Pipetar volumetricamente alíquota de 5,0 ml, diluir e avolumar para 25,0 ml com fase móvel em balão volumétrico.

2.3.2.5 - Ensaio:

Injetar alíquotas de 20,0 μL em duplicata das soluções padrão e da solução amostra, medir as áreas dos sinais referente a adenina.

2.5.2.6 - Resultados:

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em g/L de adenina.

Determinar a média da concentração de adenina na solução-amostra em g/L por interpolação na curva obtida.

Calcular a concentração de adenina em g/L na solução anticoagulante e/ou preservadora pela expressão considerando a diluição da amostra:

$$C = ((V_{\text{dil}} / V_{\text{aliqu}}) \times c)$$

Onde: c = concentração de adenina (g/L) determinada na curva de calibração;

V_{aliqu} - Volume de alíquota (ml); e

V_{dil} - Volume final de diluição (ml).

2.6 - Teor de di (2-etilhexil) ftalato:

Seguir metodologia constante na Farmacopeia Europeia, alterando o preparo das soluções padrão.

Preparar solução mãe de di(2-etilhexil)ftalato R a 1,00 mg/ml em etanol, dissolver e avolumar alíquotas dessa solução em fase móvel para obter os níveis de concentrações:

Di(2-etilhexil)ftalato: 3,0; 5,0; 7,5; 10,0 e 20,0 mg/ml.

2.7 - Teor de 5-hidroximetilfurfural:

2.7.1 - Método A - espectrofotometria:

Seguir metodologia descrita na Farmacopeia Europeia

2.7.2 - Método B - cromatografia líquida:

2.7.2.1 - Aparelhagem e material

a) cromatógrafo líquido dotado de forno para coluna e detector de ultravioleta;

b) coluna de fase reversa C-18;

c) balança analítica;

d) vidraria de laboratório;

e) micropipetas de volumes variados;

f) 5-hidroximetilfurfural padrão grau analítico com pureza conhecida.

2.7.2.2 - Condições de análise:

a) fase móvel: água tipo I/metanol (95:5);

b) fluxo: 0,5 ml/minuto;

c) temperatura do forno: 40°C ;

d) comprimento de onda: 280 nm.

2.7.2.3 - Preparo das soluções padrão:

Preparar solução mãe de 5-hidroximetilfurfural a 1300 mg/L em metanol para HPLC para preparo de solução estoque na concentração de 50 mg/L em fase móvel. Dissolver e avolumar alíquotas dessa solução estoque em fase móvel para obter os níveis de concentrações da curva analítica:

5-hidroximetilfurfural: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 e 10,0 mg/L.

2.7.2.4 - Ensaio:

Injetar alíquotas de 20,0 μL em duplicata de cada solução padrão e em triplicata 60 μL da solução anticoagulante e/ou preservadora, medir as áreas dos sinais referentes ao 5-hidroximetilfurfural.

2.7.2.5 - Resultado:

Plotar as médias das áreas obtidas para cada solução padrão contra as concentrações das mesmas em mg/L de 5-hidroximetilfurfural.

Determinar a média da concentração de 5-hidroximetilfurfural em mg/L da solução anticoagulante e/ou preservadora por interpolação na curva obtida.