



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS
FACULDADE DE FARMACIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DENISE VAZ FERREIRA DA SILVA CRISPIM

**SENSORES ELETROANALÍTICOS DE SONOGEL E PASTA DE CARBONO PARA
ANÁLISE DE PARACETAMOL GOTAS.**

ORIENTADOR: PROF. DR. ERIC S. GIL

GOIÂNIA
2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS
FACULDADE DE FARMACIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

DENISE VAZ FERREIRA DA SILVA CRISPIM

**SENSORES ELETROANALÍTICOS DE SONOGEL E PASTA DE CARBONO PARA
ANÁLISE DE PARACETAMOL GOTAS.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal
de Goiás, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Área de Concentração: Eletroquímica.

Orientador: Prof. Dr. Eric de S. Gil

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus, nosso pai, que é todo poder e bondade, aos meus pais (in memoriam) por me ensinarem que o estudo é o melhor caminho para sairmos da inércia, ao meu amor Marcos que sempre me incentivou e não me deixou desistir, e as minhas filhas Marina e Luisa que sempre fazem minha alma mais feliz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade da Vida, onde a cada dia ele me presenteia com uma nova manhã de luz e esperança, para que eu possa “crescer” e ser melhor.

A meu pai Sebastião e minha mãe Doralice, in memoriam, por me ensinarem que “sem o esforço da busca é impossível encontrar a vitória”...

Ao meu grande amor Marcos Crispim, que tem um coração tão terno e amoroso que faz com que eu queria a cada dia ser uma pessoa melhor, pelo apoio, pelo carinho e as broncas para não desistir nunca.

A Marina e Luisa minhas razões de viver, que tiveram de abrir mão do tempo ao meu lado e compreenderam que este momento era importante...

As minhas irmãs, Dalila, Dóris, Dácia, Dilma e os irmãos Silvestre, Salomão, David e Bismarck (in memoriam) por todo apoio, incentivo e exemplo de vida me mostrando sempre que estudar nos leva a conquistas que nem o tempo pode apagar.

As minhas queridas “damas de honra”, Maria Leonor que foi meu exemplo e companheira nos momentos difíceis e felizes. E Patrícia, pela prontidão e apoio sempre que precisei.

A todos meus familiares que sempre me apoiaram com suas orações e vibrações.

Com carinho ao meu colega Daniel de Jesus, que foi um dos incentivadores deste projeto.

A IQUEGO, Indústria Química do Estado de Goiás, pela oportunidade de melhoria profissional e a todos os colegas Alice, Ambrosina, Eleni, Sidnei, Ana Cristine, Marcus, Celida, Viviane, Essolene, Nilza, Abadia, Ana Maria, Hirllany, Fritz, Lúcio, estagiárias e tantos outros que me ajudaram e me apoiaram com seus conhecimentos científicos e experiências engrandecendo este trabalho.

Aos colegas de mestrado, Omar, Maria Juíva, Eliane, Gysele, Vanessa, Eli, Daniela, Fernando e Luany pelo apoio, e em especial à Steffani e Sthefen que dividiram comigo seu conhecimento, e por me mostrarem um mundo novo, uma cultura diferente e conseguiram “tirar risadas” de momentos de desespero.

A Fernanda Bellato, que sempre dá um pouquinho de si a todos os alunos que a procura com palavras de sabedoria e apoio. Uma pessoa “ímpar”, que faz a

diferença na minha vida, pois ela me ensinou muito, sempre me dizendo: “ *tudo posso, naquele que me fortalece. Deus é Fiel.*”

Por fim ao meu Caro Professor Dr. Eric de Souza Gil, pela oportunidade de aprender não só eletroquímica, mas que podemos ser melhores do que realmente mostramos que somos.

*“Aprendi que a coragem não é a ausência do medo,
Mas o triunfo sobre ele.”*
Nelson Mandela.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1	HISTORIA DO PARACETAMOL	4
2.2	MECANISMO DE AÇÃO E FARMACOCINÉTICA DO PARACETAMOL	5
2.3	MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DO PARACETAMOL.....	6
2.3.1	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	8
2.3.2	Eletroanalítica	9
2.3.3	Eletroanálise de paracetamol.....	14
2.4	A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA BRASILEIRA	17
2.5	IMPORTÂNCIA DO DESENVOLVIMENTO DE NOVAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL PARA USO ORAL.....	18
2.6	VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA.....	19
3	OBJETIVOS	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL.....	24
4.2	ENSAIOS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	24
4.2.1	Preparo das soluções amostra.....	25
4.2.2	Preparo da solução padrão.....	25
4.2.3	Procedimento	25
4.3	ENSAIOS VOLTAMÉTRICOS	26
4.3.1	Preparação dos eletrodos de trabalho de sonogel e pasta de carbono	26
4.3.2	Realização das medidas eletroanalíticas	27
4.4	ITENS AVALIADOS NA COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DPV E CLAE.....	28
4.4.1	Linearidade	28
4.4.2	Limite de quantificação (LQ) e Limite de detecção (LD)	28
4.4.3	Repetibilidade	28
4.4.4	Precisão intermediária	28
4.4.5	Especificidade	29
4.4.6	Exatidão	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1	ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DE PARACETAMOL SCE E SNGCE	30
5.2	EFEITO DO pH:	31
5.3	CURVA DE CALIBRAÇÃO	32
5.4	ESTABILIDADE E REPETIBILIDADE	32
5.5	EFEITO DE INTERFERENTES	33
5.6	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL.....	34
5.7	ENSAIOS DE APLICAÇÃO	34
5.8	RECUPERAÇÃO DE ENSAIO, DPV EM COMPARAÇÃO COM CLAE:.....	35
5.9	ENSAIOS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	36
6	CONCLUSÃO	38
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
8	ANEXOS	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química Paracetamol	4
Figura 2: Configuração de um sistema voltamétrico contendo três eletrodos.	10
Figura 3: Variação do potencial aplicado ao eletrodo em voltametria cíclica	11
Figura 4: Voltamograma típico de voltametria de pulso diferencial	13
Figura 5: Voltamograma típico de voltametria de onda quadrada.	13
Figura 6: Cromatografo líquido de alta resolução (CLAE) Perkin Elmer.	24
Figura 7: Preparo do Eletrodo de Sonogel.	26
Figura 8: Potenciostato/galvanostato µAutoLab III® I.	27
Figura 9: CV e DPV de paracetamol no SCE e SNGCE.	30
Figura 10: Reversibilidade para SNGCE.	31
Figura 11: Curva de Calibração.....	32
Figura 12: Cromatogramas obtidos	36

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Resultados da literatura para determinação de paracetamol	16
Tabela 2: Classificação dos testes a serem validados	19
Tabela 3: Ensaio necessários para validação	20
Tabela 4: Resultados de recuperação obtidos.	35
Tabela 5: Teor de paracetamol nas Formulações teste	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Ácido fólico (AF)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BDDE	Elétrodo de diamante dopado com boro
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COX3	Ciclo-oxigenase 3
COX1	Ciclo-oxigenase 1
SCE	Eletrodo de pasta de carbono
CV	Voltametria Cíclica
CV%	Coeficiente de variação
DAD	Detector de díodos
DCB	Denominação Comum Brasileira,
DCI	Denominação Comum Internacional
DPR	Desvio padrão relativo
DPV	Voltametria de pulso diferencial
E	Potencial
E_{pa}	Picos anódicos
E_{pc}	Picos catódicos
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FURP	Fundação para o Remédio Popular do Estado de São Paulo
FUNED	Fundação Ezequiel Dias do Estado de Minas Gerais
GCE	Eletrodo de carbono vítreos:
HRP	Horsehardish peroxidase;
HCl	Ácido Clorídrico
i	corrente resultante
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IQUEGO	Indústria Química do Estado de Goiás S/A
I_{pa}	Corrente anódica
I_{pc}	Corrente catódica
ITO	Óxido de índio-estanho (ITO)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LAFAM	Laboratório de Análise Farmacêutica e Ambiental
LAPEFE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LD	Limite de detecção
LFO	Laboratórios Farmacêuticos Oficiais
LQ	Limite de quantificação
MIF	Eletrodo com filme de impressão molecular
MCM-SCE	Eletrodo pasta de carbono modificado nanoestruturado poroso
MS	Ministério da Saúde

MTMOS	Metiltrimetoxisilano
MWCNTs	Eletrodo de nanotubo com múltipla camada
NE	Norepinefrina (NE)
P	Padrão
PCT	Paracetamol (PCT)
PPM	Partes por milhão
R	Medicamento de Referência
R ²	Coeficiente de correlação
RBPPM	Rede Brasileira de Produção Pública de Medicamentos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RL	Medicamento de referência
SCE	Eletrodos de carbono vítreo
SNGCE	Eletrodos Sonogel-carbono
SUS	Sistema Único de Saúde
SQR	Substância química de referência
SP	Solução padrão de paracetamol
SWV	Voltametria de onda quadrada
UFG	Universidade Federal de Goiás
USP	United States Pharmacopoeia
UV-Vis	Ultra-violeta visível
VPD (DPV)	Voltametria de Pulso Diferencial

RESUMO

O paracetamol (acetaminofeno) é um fármaco com propriedades antitérmica, analgésica e anti-inflamatória, destaca-se como um dos mais consumidos mundialmente. Em virtude desta demanda, o desenvolvimento e registro de novas formulações por parte do setor farmacêutico é contínuo. O controle de processos e do produto final é parte obrigatória do controle de qualidade. Os métodos oficiais para determinações quantitativas do paracetamol englobam técnicas espectrofotométricas e cromatográficas. Igualmente, dada a sua inerente eletroatividade, o uso de métodos eletroanalíticos é vasto. No presente trabalho pretende-se demonstrar a eficiência de eletrodos de carbono modificados com sílica sonogel em comparação a eletrodos convencionais e métodos oficiais. O desenvolvimento e validação de um método eletroanalítico para determinação quantitativa de paracetamol em formulações líquidas sob diferentes fases de desenvolvimento, comparando o método desenvolvido com o método oficial de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), usando eletrodos convencionais de carbono vítreo e pasta de carbono e sonogel. As amostras consistiram em soluções preparadas a partir de formulação gotas de referência, 5 formulações teste e padrão SQR, todas a 200mg de paracetamol/mL. Para voltametria de pulso diferencial (VPD), utilizou-se um Potenciostato/galvanostato. Uma cela eletroquímica com capacidade de 5,0 mL, com sistema de três eletrodos, eletrodos de carbono vítreo ou sonogel, anel de Pt e calomelano (SCE), representado os eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência, respectivamente. As condições para VPD foram: amplitude de pulso 75 mV e velocidade de varredura de 5 mV/s. Para ensaios cromatográficos foi utilizado um detector ultravioleta a 272 nm, coluna C18 (200 mm X 4,6mm X 10 µm), com fluxo de fase móvel 2 mL/minuto. Os perfis voltamétricos observados apresentaram um pico anódico em 293 mV (vs. Ag/AgCl_{sat}, pH = 6,0), cujo potencial e níveis de corrente foi inferior ao observado para eletrodo de carbono não modificado. Já os excipientes, não apresentaram picos não se constituindo em interferentes. Os eletrodos de sonogel apresentaram também boa linearidade e taxa de recuperação (CV < 5%) frente a solução padrão e método oficial (CLAE). Tal fato aliado a boa seletividade, sensibilidade e baixo custo geral torna o dispositivo promissor à análise de formulações de paracetamol.

Palavras-chave: Eletrodos modificados; desenvolvimento farmacêutico; formas de dosagem; controle de qualidade.

ABSTRACT

Paracetamol (N-acetyl-p-aminophenol or acetaminophen) is a drug with antipyretic, analgesic and anti-inflammatory, stands out as one of the most consumed worldwide. Because of this demand, the development and registration of new formulations by the pharmaceutical sector is ongoing. The process control and final product is an obligatory part of quality control. The official methods for quantitative determination of paracetamol include spectrophotometric and chromatographic techniques. In turn, due to the inherent electroactivity of this compound, the scientific literature involving electroanalytical methods is also large. Our objective was to demonstrate the efficiency of carbon electrodes modified with silica sonogel compared to conventional electrodes and official methods. The development and validation of an electroanalytical method for quantitative determination of paracetamol in liquid formulations. Apply the method in different product development phases, like product and reference, comparing the method developed with the official method of CLAE using conventional glassy carbon electrodes and carbon and sonogel folder. The samples consisted of a formulation drops reference (Tylenol®), 5 test formulations, standard solution of Paracetamol, all the 200 mg/mL. For differential pulse voltammetry (DPV) was used a potentiostat/galvanostat. Electrochemical cell with 5.0mL capacity, with three-electrode system, glassy carbon electrodes or sonogel, Pt ring and calomel (SCE), represented the electrodes working, auxiliary and reference, respectively. The VPD conditions were: 75mV pulse amplitude, pulse width of 0.4 is scanning speed of 5 mV/s. For chromatographic testing was performed using a UV detector at 272 nm, C18 column (200 mm x 4.6 mm x 10 microns) with a mobile phase flow 2 ml/min. The observed voltammetric profiles showed an anodic peak at 293 mV (vs. Ag/AgCl sat, pH = 6.0), whose potential and current levels was lower than that observed for cabono of electrode. Have excipients showed no do not constitute interfering peaks. Carbon electrodes with nanostructured silica sonogel also showed good linearity and recovery rate (CV <5%) compared to standard solution and official method (CLAE). This fact combined with good selectivity, sensitivity, and low overall cost makes this very promising device for analysis of paracetamol formulations.

Keywords Sonogel-Carbon electrodes; pharmaceutical development; dosage forms; quality control.

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade o homem utiliza analgésicos para o alívio da dor. Desenhos arqueológicos fazem menção ao uso de cataplasmas e emplastos (THOM e BENDER, 1958). Achados históricos descritos no Papiro de Ebers, de 1500 a.C., relatam o uso da casca do salgueiro pelos egípcios para o alívio da dor. Hipócrates também usava essa mesma planta para tratamento da cefaleia, e relatos do ano de 800 a.C. dizem que os gregos antigos usavam o ópio para fins terapêuticos (BROWNSTEIN, 1993).

Ao longo da história, observou-se um grande avanço nas áreas da química e da medicina, o que proporcionou o desenvolvimento de novos fármacos com ação analgésica e antipirética. Um episódio histórico, considerado um marco na ciência, foi a síntese do ácido acetilsalicílico pelo químico Felix Hoffmann da Bayer no final do século XIX (RAJENDRA et al., 2005).

O paracetamol, também conhecido como acetaminofeno, foi introduzido na medicina por Von Mering em 1893. Atualmente é considerado o segundo fármaco antitérmico e analgésico mais consumido no mundo, perdendo apenas para o ácido acetilsalicílico, sendo considerado em muitos países como uma alternativa a aspirina e fenacetina (BOSCH et al., 2006).

Também é empregado no alívio da dor associada à enxaqueca, lombalgia, dores artríticas e pós-operatórias e na redução da temperatura corporal em febre de origem bacteriana ou viral (SU e CHENG, 2010).

Devido a seu inerente potencial de vendas, este fármaco tem sido alvo de pedido de novos registros de medicamentos por parte de inúmeros laboratórios privados e oficiais. No mercado, encontra-se disponível em diversas formas farmacêuticas, dentre elas comprimido, solução oral, supositório e xarope, isoladamente ou em associação com outros fármacos (BRASIL, 2012).

O desenvolvimento de novas formulações líquidas para uso oral de paracetamol, em especial a forma farmacêutica líquida (gotas), tem sido incentivado pelo Ministério da Saúde nas indústrias farmacêuticas, devido a esta forma farmacêutica se aplicar preponderantemente a faixas etárias de crianças e idosos, e à facilidade de ajuste das doses, de administração e de deglutição. (BRASIL, 2012).

A inovação farmacêutica não se limita apenas a pesquisa e desenvolvimento farmacotécnico, mas também a adequação e validação de métodos analíticos (HABIBI et al., 2012).

As metodologias oficiais para determinação quantitativa de paracetamol empregam métodos espectrofotométricos e cromatográficos, os quais necessitam de equipamentos e reagentes com elevado custo financeiro (BOSCH et al., 2006).

Os métodos eletroanalíticos representam alternativas promissoras para análise de fármacos e/ou excipientes eletroativos, apresentando baixo custo inicial (equipamentos relativamente baratos) e de longo prazo (baixo consumo de reagentes), aliado a excelente sensibilidade (baixo limite de quantificação), boa seletividade, agilidade de análise e grande praticidade (NATHASHA et al., 2009).

O paracetamol, por ser eletroquimicamente oxidável em vários tipos de elétrodos, tais como os de carbono vítreo, eletrodos de pasta de carbono e eletrodos modificados, pode ser quantificado por métodos eletroanalíticos, dentre eles pela voltametria (NAGWA, 2004).

No intuito de diminuir os custos do setor de Desenvolvimento de Medicamentos na indústria farmacêutica, diminuir o impacto ambiental dos reagentes usados e apresentar uma nova alternativa analítica para análise do paracetamol gotas, propomos o uso da voltametria de pulso diferencial (DPV), empregando eletrodos convencionais de pasta de carbono e eletrodos modificados com sonogel. A quantificação do paracetamol em formas farmacêuticas diversas, a destacar formulação oral gotas, foi executado pelo método proposto (DPV). Os resultados obtidos pelo método aqui desenvolvido e otimizado foram então comparado com a metodologia oficial descrita na Farmacopéia Brasileira 5ª Edição, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), tendo como medicamento de referência o Tylenol® gotas. Visando atestar a confiabilidade dos métodos eletroquímicos para análises quantitativas e alguns parâmetros de validação foram avaliados.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Análise Farmacêutica e Ambiental (LAFAm), da Faculdade da Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG), em parceria com a Indústria Química do Estado de Goiás S/A (IQUEGO), que tem como uma de suas metas atender as solicitações do Ministério da Saúde no Programa Dose Certa do Governo Federal, para atender a demanda do mercado.

O paracetamol solução oral em gotas também faz parte do Programa Dose Certa do Governo Federal. Visando atender a este programa e à demanda do SUS, a IQUEGO procurou desenvolver este medicamento, que até então não fazia parte do portfólio da empresa.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTORIA DO PARACETAMOL

O acetaminofeno, tem sido usado por adultos e crianças, sendo considerado um dos analgésicos e antitérmicos mais consumidos e uma alternativa de escolha a aspirina e a fenacetina (Fig. 1)(BOSCH et al., 2006). Somente em 1953 o paracetamol foi lançado no mercado pela companhia Sterling-Winthrop, e assumiu um importante papel como fármaco analgésico e antipirético, o qual permanece até hoje. A partir de então, várias rotas de síntese foram propostas para produção desta matéria prima, assim como várias formulações foram desenvolvidas (FISCHER, 2014).

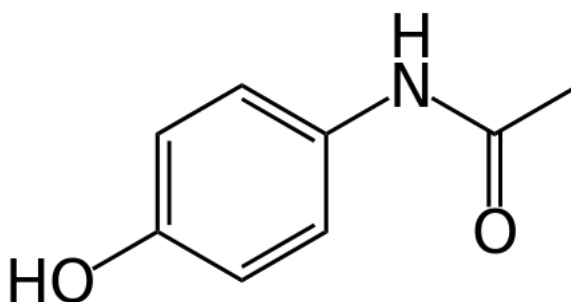


Figura 1: Estrutura química Paracetamol
Fonte: BOSCH et al., 2006

Dentre as sinônimas mais empregadas para o paracetamol estão: acetaminofeno, N-acetil-para-aminofenol e para-acetilaminofenol. Já o sistema IUPAC recomenda, desde 1993, o nome sistemático N-(4-hidroxifenil) acetamida (ANA FELIPA, 2010). Com a fórmula química $C_8H_9NO_2$, Massa Molar 151,15 g/mol, ponto de fusão $172^{\circ}C$ e solubilidade em água a 12,75 g/L.

Disponível no mercado nas formas sólidas de comprimidos, cápsulas, drágeas, pastilhas, ou comprimidos efervescentes e também líquidos na forma de gotas, xarope e injetáveis, é um medicamento de livre comercialização, cujo risco de intoxicação para a população tem aumentado devido a automedicação. (Sebben et al., 2010)

É considerado um medicamento de primeira escolha na pediatria e para pacientes grávidas e em condições de afecções virais. Isto se deve a ele possuir

poucos eventos adversos como erupções cutâneas, urticaria, angioedema, anafilaxia e irritação gástrica (Franco e Franco, 2003).

2.2 MECANISMO DE AÇÃO E FARMACOCINÉTICA DO PARACETAMOL

O paracetamol é considerado um antiinflamatório não esteroide, agindo como analgésico, anti-térmico e um fraco antiinflamatório. Além de não interferir na coagulação sanguínea, não ser agressivo ao estômago é um fármaco muito eficiente (GOODMAN et al., 2010).

O completo entendimento sobre o mecanismo de ação desse fármaco ainda não é totalmente conhecido, mesmo com o seu uso há anos para o alívio da dor e febre (SHINODA et al., 2007).

Sabe-se que o paracetamol tem ação central na inibição da ciclo-oxigenase, atuando na ciclo-oxigenase 3 (COX 3), considerada uma variante da ciclo-oxigenase 1 (COX 1), inibindo a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina. A COX 3, encontrada exclusivamente no sistema nervoso central, é o alvo dos antitérmicos, porém não está eliminada a ação do paracetamol sobre as outras isoformas de ciclo-oxigenase (WARD e ALEXANDER-WILLIAMS, 1999).

Esse fármaco é absorvido rapidamente no trato gastrointestinal, atinge pico plasmático em 30 – 60 minutos, e a meia-vida é de cerca de 2 horas após a administração de doses terapêuticas, sendo distribuído uniformemente na maioria dos líquidos corporais. Cerca de 20-50% do fármaco se ligam as proteínas plasmáticas nos casos de intoxicação aguda. Podendo-se recuperar de 90-100% do fármaco no primeiro dia após a administração de doses terapêuticas através da urina, logo após a conjugação hepática com o ácido glicurônico, em torno de 60%, 35% de ácido sulfúrico ou 3% de cisteína, podendo ser detectado também pequenas doses de metabólitos hidroxilados e desacetilados. Os adultos têm maior capacidade de glicuronidação do fármaco que as crianças. O Citocromo P450 sofre N-hidroxilação em uma pequena proporção de paracetamol, formando o N-acetilbenzoquinoneíma, um intermediário altamente reativo. Esse metabólico normalmente reage com grupos sulfidríla da glutatona. Após a ingestão de grandes doses de paracetamol, o metabólico é formado em quantidades suficientes para causar depleção da glutatona hepática (GOODMAN et al., 2010).

2.3 MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DO PARACETAMOL

Para garantir a qualidade das matérias-primas e produto acabado, é importante que o controle de qualidade use métodos de análises que devem ser considerados desde o desenvolvimento de formulações farmacêuticas, seja um método simples, rápido, de baixo custo, sensível, preciso e aplicável a todas as fases do controle de qualidade.

De acordo com a legislação, as metodologias analíticas empregadas na quantificação da matéria-prima e o medicamento devem ser preferencialmente aquelas descritas nos Compêndios Oficiais, tais como a Farmacopéia Brasileira, a European Pharmacopoeia e a *United States Pharmacopoeia – USP*, etc (KHASKHELI et al., 2012).

As metodologias descritas nos compêndios oficiais para análise de paracetamol em diversas amostras incluem as técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectrometria UV-VIS. Por ser a molécula do paracetamol, eletroquimicamente ativa e eletroquimicamente oxidável por diversos tipos de eletrodos, a metodologia de voltametria vem sendo empregada para determinação do mesmo, com bons resultados (LUBOMIR et al., 2012).

Os métodos oficiais de análises são demorados e necessitam de pré-tratamento das amostras, o que, em alguns casos, os tornam menos adequados para as análises de rotina (ZHANG et al., 2001) (RAMESH e SAMPATH, 2004).

Dessa forma, o desenvolvimento de técnicas analíticas eficientes para a análise rápida de produtos farmacêuticos é importante para o controle de qualidade na indústria farmacêutica. O que leva a indústria, em parceria com as universidades, buscar inovar e desenvolver métodos mais rápidos, que diminuam os custos das análises, e que sejam mais seguros para o meio ambiente e para o operador.

Diversos tipos de elétrodos de trabalho têm sido utilizados para a detecção eletroquímica de princípios ativos em formulações farmacêuticas. Entre eles, os mais comercializados são de mercúrio, platina, carbono vítreo e eletrodos de pasta de carbono (SCE). No entanto, do ponto de vista ecológico, o mercúrio é altamente tóxico, contaminante potente e seu uso sustentável é muito difícil e caro. Após alguns ensaios, os eletrodos de carbono e platina, muitas vezes submetidos a passivação, apresentam dificuldade na repetibilidade das medições. Por sua vez, as principais desvantagens de SCEs estão relacionados aos procedimentos de preparo,

que contrariam as normas de Boas Práticas de Fabricação dos laboratórios farmacêuticos.

Assim, tem sido incentivado a busca de eletrodos com superfície modificada, como ouro, diamante dopado com boro, eletrodos impressos e usando materiais convencionais, afim de melhorar a sua reprodutibilidade, que é ainda a principal preocupação em relação eletroanalítica em todo o mundo.

Neste contexto, os eletrodos de carbono cerâmicos, com base nas vantagens sinérgicas de sol-gel como material inerte e grãos de carbono de alta ligação e condução elétrica, são considerados um precursor muito interessante para fazer eletrodos alternativos passíveis de modificação, altamente condutores, e mecanicamente estáveis.

Os Eletrodos Sonogel-carbono (SNGCE) têm sido um dos materiais de eletrodo mais ativamente estudados nos últimos anos devido às suas boas propriedades eletrônicas e mecânicas. O processo de sol-gel é uma transição do sistema sol para um sistema gel. O termo sol se refere a uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 01 e 100 nm) estável em um fluido, enquanto o termo gel indica que o sistema é formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios. Estas características conferem a estes materiais elevada estabilidade e versatilidade química, devido à agregação linear das partículas primárias (bem como maior área superficial). Comparados a outros eletrodos convencionais, o eletrodo de Sonogel apresenta ainda vantagens como a facilidade de confecção, baixo custo, boa reprodutibilidade, e ampla aplicação (RANDO et al., 2005). E os eletrodos de Sonogel-carbono SNGCE, também oferecem vantagens como baixo custo e ampla aplicabilidade.

Assim, um método viável, Voltametria de Pulso Diferencial, foi aqui proposto, para a quantificação de paracetamol em formulações farmacêuticas em desenvolvimento, usando sensores eletroanalíticos de sonogel. A fim de assegurar a confiabilidade do método, as amostras do setor de desenvolvimento e o medicamento de referência também foram analisadas, e os resultados encontrados com DPV usando SCEs convencionais e SNGCE foram comparados com o método de CLAE.

2.3.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O método CLAE é uma técnica de separação muito empregada para a identificação e quantificação de substâncias ativas em diversos produtos farmacêuticos. Possibilita a separação de componentes muito semelhantes de misturas complexas, que eventualmente seria impossível com outros métodos (BOSCH et al., 2006).

O equipamento empregado na realização dessas análises é denominado cromatógrafo líquido de alta eficiência. O mesmo é constituído por um sistema de bombas, um injetor, uma coluna cromatográfica (eventualmente com termostato), um detector e um sistema de obtenção de dados (um integrador ou um registrador).

Quando um detector que responde à concentração do soluto for colocado no fim da coluna e o seu sinal for representado num gráfico em função do tempo (ou do volume de fase móvel adicionada), obtém-se uma série de sinais. Este gráfico designa-se cromatograma e fornece informações úteis para análise qualitativa e quantitativa da amostra. As posições dos sinais no eixo do tempo permitem identificar os componentes da amostra. As áreas sob os sinais dão uma medida quantitativa de cada componente da amostra (por comparação da altura ou da área do pico obtido com o analito com a de um ou mais padrões de referência).

A cromatografia líquida de alta eficiência é bastante aplicada, principalmente na indústria farmacêutica e em investigação, devido à sua alta sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas precisas, adequabilidade à separação de espécies não-voláteis ou termicamente frágeis e, principalmente, à sua ampla aplicabilidade a uma vasta gama de substâncias (AHFS 2007).

Com relação ao paracetamol, é extremamente importante ter uma técnica analítica simples e precisa para sua quantificação e do seu produto de degradação. Uma variedade de métodos de cromatografia líquida de alta eficiência já foram propostos para esta medição, utilizando fases estacionárias baseadas em sílica. Estes métodos são demorados, além disso, as fases estacionárias (alquil) ligadas à fase reversa C18, sofrem certo número de desvantagens, incluindo falta de estabilidade em condições extremas de pH e uma variedade de interações indesejadas devido à heterogeneidade da superfície (BOSCH et al., 2006).

2.3.2 Eletroanalítica

A eletroanalítica é a parte da química analítica voltada para estudar as propriedades elétricas, tais como diferença de potencial, corrente elétrica, resistência e carga elétrica, para determinações qualitativas ou quantitativas de substâncias químicas de interesse (GUPTA et al., 2011).

Dependendo da configuração ou propriedade estudada, os métodos eletroanalíticos podem se dividir em: interfaciais (voltametria, amperometria, impedantometria e potenciometria), ou não interfaciais (condutometria). Outrossim, os métodos de interfaciais se subdividem em dinâmicos, tais como a voltametria, e estáticos, como é o caso da potenciometria.

A voltametria se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. As informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que surge entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar ao se aplicar uma diferença de potencial entre eles (PACHECO et al., 2013). As técnicas voltamétricas podem ser empregadas tanto para a análise de substâncias isoladas como também de amostras complexas (GUPTA et al., 2011).

Os métodos voltamétricos oferecem diversas vantagens tais como: a seletividade e a especificidade das determinações devido à oxirredução do analito em um potencial aplicado específico e em caso de uso de eletrodo de trabalho feito com material específico; grande sensibilidade, baixos limites de detecção, simplicidade instrumental, custo moderado e portabilidade (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1998).

O parâmetro ajustado é o potencial (E) e o parâmetro medido é a corrente resultante (i). O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons durante um processo de oxirredução pode ser relacionada com a quantidade de analito presente na amostra, desde que o mesmo seja capaz de sofrer reação redox na janela de potencial estudada. Este procedimento envolve o uso de células eletroquímicas contendo dois, três ou quatro eletrodos. Sendo que os sistemas com três eletrodos são os mais empregados, e são compostos por um eletrodo de trabalho, no qual ocorre a eletrólise que se está investigando; um eletrodo de referência, que mantém um potencial constante durante as medidas; e um eletrodo

auxiliar, também chamado de contra-eletródo, que tem a função de manter o eventual excesso de potencial de corrente, evitando distúrbios no eletrodo de referência (Figura 2) (PACHECO et al., 2013).

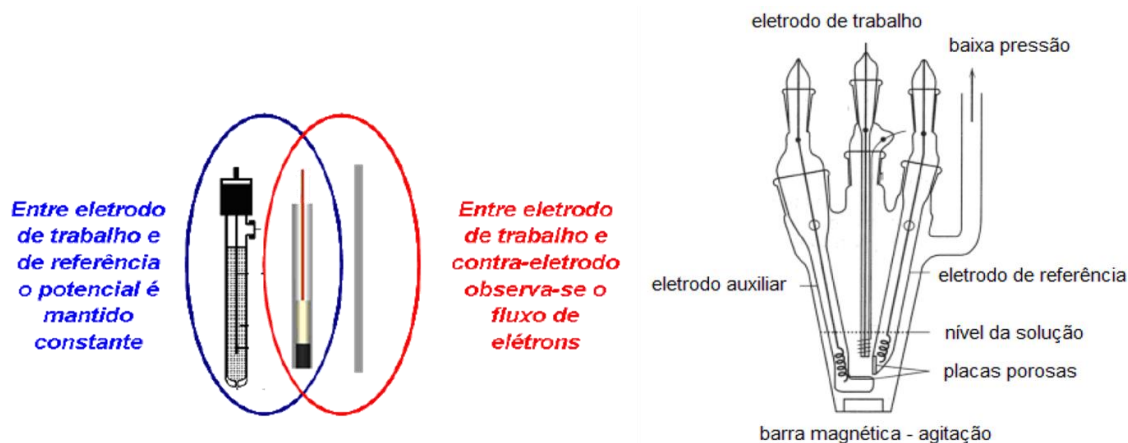


Figura 2: Configuração de um sistema voltamétrico contendo três eletrodos.

Fonte (PACHECO et al., 2013)

O eletrodo auxiliar, em geral, é de platina ou carbono vítreo. Já os eletrodos de referência $\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ têm sido preferencialmente empregados, por serem mais inócuos que o eletrodo de calomelano ($\text{Hg/Hg/Cl}_2/\text{KCl}_{\text{sat}}$) (O.MAKHOTKINA e KILMARTIN, 2010). Por sua vez, os eletrodos de trabalho convencionais e mais difundidos comercialmente, são eletrodos e microeletrodos sólidos de platina, carbono vítreo, bem como suportes para pasta de carbono e eletrodos de mercúrio (GUPTA et al., 2011).

Atualmente, diferentes materiais nanoestruturados e tecnologias estão sendo empregados na construção dos eletrodos, com o intuito de melhorar a sensibilidade, seletividade, e a estabilidade. Há ainda a possibilidade de modificações químicas transitórias ou permanentes por eletrodeposição, adsorção por interações iônicas e/ou covalentes, dentre outras (HABIBI et al., 2012).

Existem diversas técnicas de voltametria, que diferem entre si na forma pela qual o potencial é aplicado e a corrente é adquirida e nas etapas utilizadas antes ou durante a medida do sinal. Cada uma delas está relacionada com um tipo e uma qualidade de informação quantitativa-qualitativa do analito ou do processo de interação entre esse e o eletrodo de trabalho. As técnicas mais comuns são descritas a seguir (CAVALHEIRO et al., 2012).

2.3.2.1 Voltametria de Varredura Linear

Também é chamada de cronoamperometria de varredura de potencial linear. Nesta técnica, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia linearmente com o tempo. A corrente é medida de forma direta, em função do potencial aplicado. Não apresenta boa sensibilidade, e não é indicada para aplicações quantitativas (BAREK et al., 2001).

2.3.2.2 Voltametria Cíclica (CV)

Trata-se da técnica eletroanalítica para análise de produtos farmacêuticos mais versátil, e normalmente a primeira delas empregada em estudos de fármacos presente em insumos, no produto acabado ou em material biológico. Sua eficácia é atribuída à capacidade de se observar rapidamente o comportamento redox diante um amplo espectro de potencial (GUPTA et al., 2011).

A voltametria cíclica é um método de varredura, onde um potencial com forma triangular é aplicado a um eletrodo, eletrodo de trabalho, imerso em uma solução, até atingir um potencial de inversão, e retornar ao potencial de partida (Figura 3). Esta inversão, é chamada de ciclização do potencial, gerando voltamogramas onde observa-se picos de oxidação anódica e a catódica (SÁ, 2013).

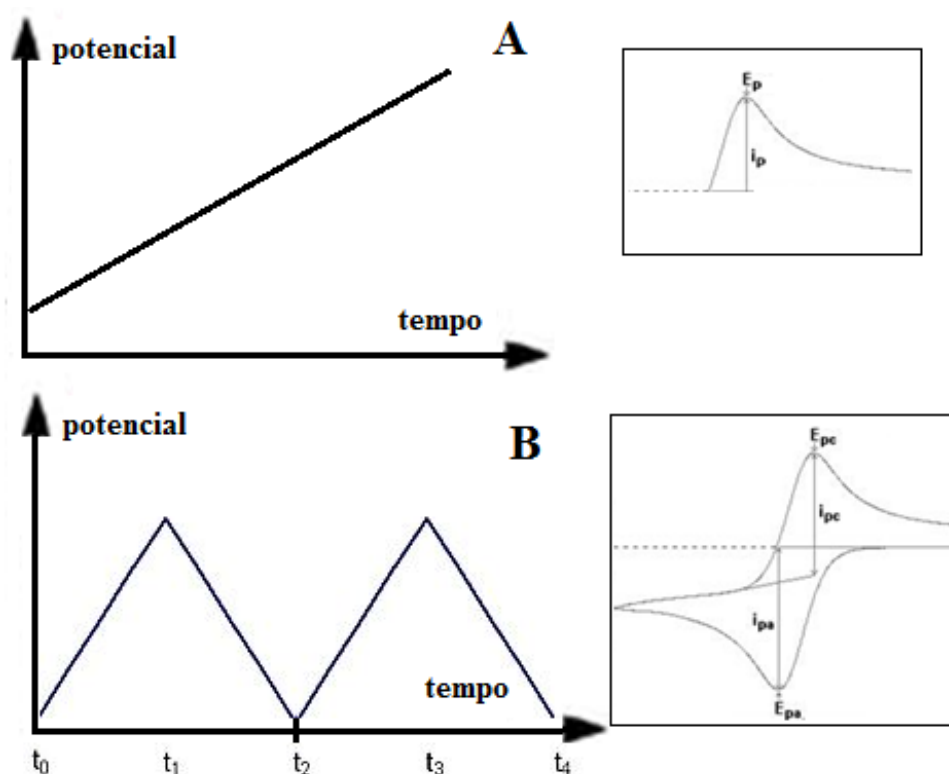


Figura 3: Variação do potencial aplicado ao eletrodo em voltametria cíclica (A) e linear (B) e respectivos perfis voltamétricos.

Fonte: BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1993.

O voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que o composto em questão sofre no eletrodo, o que faz da voltametria cíclica uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos. Há dois componentes principais que determinam as reações que ocorrem no eletrodo, que são a transferência difusional de massa do analito em solução para a superfície do eletrodo e a transferência heterogênea de carga entre o analito e o eletrodo. Em alguns casos ainda podem ocorrer reações químicas acopladas a algum destes processos (SKOOG et al., 2007). Gupta e colaboradores (2011) afirmam ainda que o voltamograma resultante desta técnica é análogo a um espectro convencional no sentido de transmitir informações como uma função de um scan de energia.

2.3.2.3 Técnicas de pulso

Trata-se de técnicas baseadas na aplicação de degraus de potencial, fixos ou variáveis. Sob o enfoque analítico, são consideradas mais sensíveis, rápidas e melhores resolvidas em picos quando comparadas às voltametrias anteriormente abordadas (PACHECO et al., 2013)

Dentre as técnicas baseadas na aplicação de pulso de potencial, destacam-se a voltametria de pulso diferencial (DPV) e voltametria de onda quadrada (SWV).

2.3.2.3.1 Voltametria de pulso diferencial

Na voltametria de pulso diferencial, são aplicados ao eletrodo de trabalho pulsos de amplitude fixos sobrepostos a uma rampa de potencial crescente (PACHECO et al., 2013). Primeiramente é necessária a escolha de um potencial inicial, e em sequência pequenos pulsos com amplitude crescente são aplicados. Os pulsos duram geralmente de 5 a 100ms, sendo que a corrente é medida antes e ao final da aplicação do pulso. Ressaltando que o pulso de potencial aplicado deve ter seu incremento constante e igual ao E_{base} (Figura 4) (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1993). Esse método apresenta boa repetibilidade e boa reprodutibilidade.

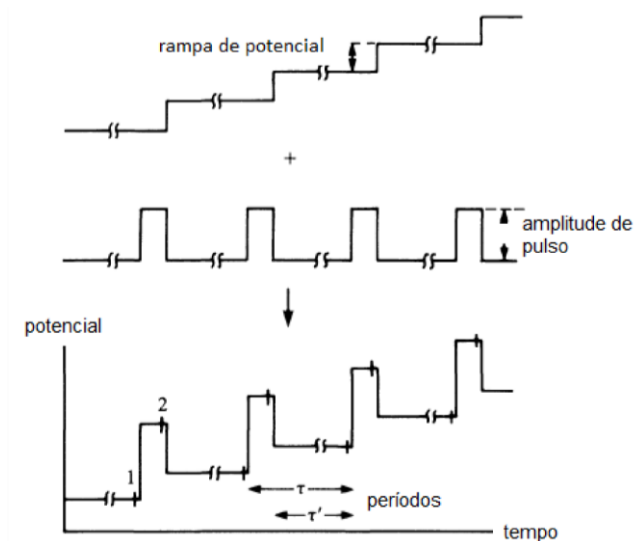


Figura 4: Voltamograma típico de voltametria de pulso diferencial, DPV a) esquema de aplicação dos pulsos a partir do Ebase; b) esquema da corrente (i) em função do potencial (E)
 Fonte: BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1993. com modificações.

2.3.2.3.2 Voltametria de onda quadrada

Já na voltametria de onda quadrada, a curva voltamétrica corresponde a uma onda quadrada sobreposta a um degrau de potencial, sendo que um ciclo completo de onda quadrada corresponde a um degrau da escada. A corrente é amostrada tanto no sentido da oxidação quanto no sentido da redução, gerando um pico para cada um dos processos, o que representa a vantagem de possibilidade da análise do processo de oxidação e redução em um único escaneamento da amostra (JANEIRO e BRETT, 2004). A Figura 5 mostra a aplicação dos pulsos em forma de escada na SWV e um voltamograma típico da técnica de onda quadrada.

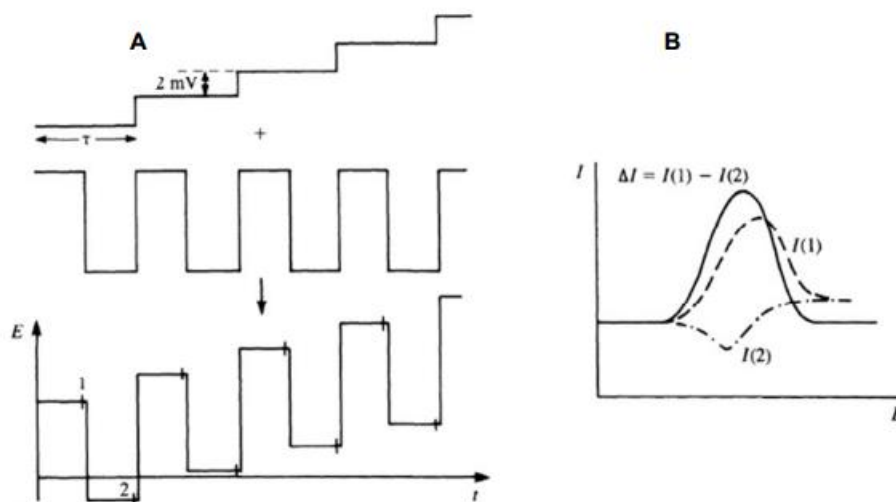


Figura 5: Voltamograma típico de voltametria de onda quadrada, SWV: A) esquema de aplicação dos pulsos em forma de escada; B) voltamograma típico SWV.
 Fonte: BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993

A maior vantagem da voltametria de onda quadrada é sua velocidade de realização. Um voltamograma completo pode ser registrado em poucos segundos, comparados aos 2-3 minutos gastos com a técnica de pulso diferencial, sem haver perda da resolução dos picos. Se o processo for redox, pode somar os picos de oxidação e redução. A desvantagem é que por ser muito rápido a repetibilidade é mais difícil (GUPTA et al., 2011; PACHECO et al., 2013).

2.3.3 Eletroanálise de paracetamol

A técnica voltamétrica, tem sido muito empregada no desenvolvimento de métodos analíticos para determinação do paracetamol, quer seja em determinações individuais e/ou simultânea em formulações farmacêuticas, devido a sua rapidez, sensibilidade, precisão, exatidão e simplicidade (BERHE, 2007).

A determinação do paracetamol através da voltametria vem sendo estudada com a aplicação de eletrodos construídos com materiais modernos, como os nanomateriais e outros com propriedades eletroquímicas. Até a presente data, vários métodos eletroquímicos têm sido propostos para análise de paracetamol em formulações farmacêuticas, fluidos biológicos e efluentes (BRILLAS et al., 2005).

Vários estudos têm apresentado dados eletroanalíticas, envolvendo a determinação de paracetamol usando eletrodos de pasta de carbono e eletrodo de carbono vítreo em soluções aquosas de misturas (SÂNDULESCU et al., 2000).

O uso de eletrodos modificados com nanotubos de carbono vem sendo realizado para a detecção de paracetamol, devido a sua excelente eletrocondução e boa superfície de contato. Estes eletrodos podem ser usados para a determinação de paracetamol em comprimidos e fluidos biológicos. As propriedades eletroquímicas do paracetamol também já foram investigadas usando a voltametria cíclica, com eletrodos de carbono vítreo, exibindo processo de oxidação com picos redox (YING LI e SHEN-MING CHEN, 2012).

Canevari e colaboradores (2013) usaram eletrodo de carbono vitreo modificado com sílica base, através do processo sol-gel, e mostraram alta sensibilidade deste eletrodo para a determinação do paracetamol na urina. Usando solução tampão fosfato pH 7,0 e um limite de detecção 0,098 $\mu\text{mol/L}$. Este eletrodo apresenta a vantagem de ser fisicamente resistente, superfície renovável e sensível para as

determinações de paracetamol na urina quando este faz parte da composição de formulações de múltiplos princípios ativos.

Por sua vez, RAJENDRA e colaboradores (2005), mencionaram o uso de DPV, para determinação de paracetamol em pH de 7,2, utilizando eletrodos de nanopartículas de ouro modificados com óxido de índio e estanho (Au/ITO). Exibindo uma boa resposta no potencial de oxidação de aproximadamente 110 mV. A curva de calibração obtida num intervalo de $2,0 \cdot 10^{-7}$ – $1,5 \cdot 10^{-3}$ M com coeficiente de correlação de 0,997, limite de detecção $1,8 \cdot 10^{-7}$ M e desvio padrão relativo de 2,4%. O método apresentou boa reprodutibilidade e estabilidade com resultados satisfatórios quando aplicado a análises de formulações comerciais.

Devido às suas propriedades eletroativas, o paracetamol pode ser analisado em eletroquímica usando-se uma grande variedade de eletrodos de suporte, incluindo elétrodo de diamante dopado com boro (BDDE) (WANGFUENGKANAGUL e CHAILAPAKUL, 2002). Tyszczuk-Rotko e colaboradores (2014), utilizando a voltametria de pulso diferencial, desenvolveram um método eletroanalítico para determinação simultânea de paracetamol e ácido ascórbico em amostra comercial, usando eletrodo de diamante dopado com boro modificado com filme de nafion.

Observando boa separação dos picos de paracetamol e ácido ascórbico a 400 mV, com limite de detecção de $1,7 \cdot 10^{-7}$ e $5,2 \cdot 10^{-7}$ M, respectivamente. O método desenvolvido apresentou resultados similares aos resultados das análises com o método de CLAE.

Mazloun-Ardakan e colaboradores (2012) desenvolveram um método eletroanalítico para análise simultânea de norepinefrina (NE), paracetamol (PCT) e ácido fólico (AF), utilizando voltametria pulso diferencial com eletrodo de pasta de carbono modificado com material nanoestruturado poroso (MCM-SCE). Os resultados demonstraram alta seletividade do método, sendo que a eletroxidação ocorre na superfície do eletrodo a um potencial de 200, 130 e 40 mV para norepinefrina, paracetamol e ácido fólico respectivamente. O método apresentou respostas lineares para NE, PCT e AF em faixas de concentração acima de $7,0 \cdot 10^{-8}$ a $2,0 \cdot 10^{-3}$; $5,0 \cdot 10^{-7}$ a $2,2 \cdot 10^{-3}$ e $5,0 \cdot 10^{-6}$ a $2,0 \cdot 10^{-3}$ mV respectivamente.

Por fim, Abrha Berhe realizou estudos para a detecção do paracetamol usando eletrodo de carbono vítreo através de voltametria cíclica em ácido sulfúrico e fosfato 0,1M. O pico de corrente a pH 7 e potencial de pico anódico apareceu em 450 mV em relação ao eletrodo de calomelano saturado. O potencial de pico anódico

apareceu em 618 mV em eletrodo de carbono vítreo contra Ag/AgCl. Utilizou também métodos amperométricos, em tampão de fosfato 0,05 M usando o eletrodo modificado de carbono vítreo de acetato de celulose. Em seguida, o potencial de pico apareceu a 390 mV versus ECS, e a corrente de pico máxima foi observada a pH 7. Abrha, também descreveu a oxidação eletroquímica do paracetamol usando voltametria de pulso diferencial em (1:1) de ácido perclórico e uma mistura de metanol e ácido sulfúrico. O potencial do pico anódico apareceu a 620 mV em relação ao eletrodo SCE. Da mesma forma em ácido sulfúrico como solvente o potencial de pico observado em 640 mV em uma mistura de ácido carbono eletrodo contra SCE. E por último avaliou o estudo voltamétrico de paracetamol por voltametria de onda quadrada com eletrodo nanouro modifico com óxido de índio-estanho (ITO) e tampão fosfato 0,1 M a pH 7.2. Onde o eletrodo exibiu potencial de pico a 110 mV eficaz contra a Ag / AgCl.

O paracetamol já foi detectado eletroquimicamente na presença de outras substâncias ativas, utilizando diferentes tipos de eletrodos e vários eletrólitos de suporte (ZEN e TING, 1997), com mostra a tabela 1.

Tabela 1: Resultados da literatura para determinação de paracetamol por diferentes eletrodos e técnicas voltamétricas.

Eletrodo	Métodos	LD $\mu\text{mol/L}$	E_{pa} mV	Amostra	Referência
MWCNTs/GCE	DPV	0.098	0.382	Urina	CANEVARI et al., 2013
MWCNT/SCE	CV, DPV	120	0.31	Xarope, comprimidos	BIUK et al., 2011
MWCNT/GCE/MIF	DPV	0.04	0.32	Comprimidos	ZHUA et al., 2013
HRP-SCE	CV, DPV	9.2	0.25	Água	REDDAIAH e REDDY, 2014
Au/ITO	DPV	1.8	0.2	Comprimido	RAJENDRA et al., 2005
NAF/PtNP/Gr/GCE	CV	8.2	1.06	Urina, sangue comprimidos	KALAMBATE et al., 2015
MWCNT/SCE SITIO SURFACTANTE MODIFICADO	CV	2.58	1.06	Urina, sangue comprimido	Sanghavi e Srivastava, 2010

MWCNTs = eletrodo de nanotubo com múltipla camada; GCE = eletrodo de carbono vítreos; MIF = eletrodo com filme de impressão molecular; HRP = horseradish peroxidase; Au/ITO = eletrodo modificado com óxido de índio e estanho; SPE = eletrodo impresso; NAF/PtNP/Gr/GCE = eletrodo de carbono vítreo modificado com base em nanopartículas de grafite, platina e nafion. DPV = voltametria de pulso diferencial; CV= voltametria cíclica

2.4 A INDÚSTRIA FARMACÊUTICA BRASILEIRA

No final do século XIX o governo brasileiro, devido ao crescimento populacional no país e a propagação de doenças infecciosas, incentivou a formação dos primeiros cientistas brasileiros que foram os responsáveis pelo desenvolvimento de planos de saúde pública, produção de soros, vacinas e medicamentos. Assim, a indústria farmacêutica brasileira teve sua origem pautada em forte relação com a academia e a saúde pública, bem como nas práticas sanitárias de prevenção e combate às doenças infecciosas (LOUSA, 2008).

Com o passar dos anos novas políticas de saúde e incentivos a indústria farmacêutica fez com que o Ministério da Saúde (MS) aumentasse o fornecimento gratuito, para a população mais carente através do Sistema Único de Saúde (SUS) e parceria com os Laboratórios Farmacêuticos Oficiais (LFO), os medicamentos fornecidos eram aqueles constantes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais -RENAME (MAGALHÃES et al., 2008).

Os LFO são vinculados a governos estaduais, universidades e até mesmo ao governo federal, através da Marinha, do Exército, da Aeronáutica e do MS. Dentre eles destacam-se Farmanguinhos, ligado à Fiocruz; a Fundação para o Remédio Popular do Estado de São Paulo – FURP; o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE; a Fundação Ezequiel Dias do Estado de Minas Gerais – FUNED; e a Indústria Química do Estado de Goiás S/A – IQUEGO (MAGALHÃES et al., 2011).

A IQUEGO é um Laboratório Farmacêutico Oficial, instituída no governo de Mauro Borges Teixeira, pela Lei estadual nº 4.207, de 06 de novembro de 1962. É jurisdicionada à Secretaria de Estado da Saúde, por força do Decreto n. 457, de 05 de junho de 1975, tendo iniciado suas atividades em 07 de janeiro de 1964, com a missão de promover a saúde, com medicamentos e serviços de qualidade e baixo preço, atuando como provedor de produtos de interesse da saúde pública no SUS (IQUEGO, 2013).

Dentre os medicamentos produzidos na IQUEGO, o paracetamol merece destaque pelo quantitativo e relevância farmacológica e de saúde pública no combate a dengue.

2.5 IMPORTÂNCIA DO DESENVOLVIMENTO DE NOVAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL PARA USO ORAL.

Atualmente, o paracetamol é o analgésico e antipirético mais utilizado em pediatria (SEBBEN et al., 2010). Tal preferência em relação aos demais anti-inflamatórios não esteroidais aumentou consideravelmente após a descoberta da associação entre a Síndrome de Reye e a aspirina na década de 80. Além disso, o paracetamol apresenta um excelente perfil de segurança, sendo que os efeitos colaterais e as reações adversas são incomuns (JACQZ-AIGRAIN e ANDERSON, 2006).

Sabe-se que as formas farmacêuticas líquidas, em especial as soluções e as suspensões orais, constituem as mais adequadas para uso em pediatria. Isso se deve à facilidade de ajuste das doses e das características organolépticas, bem como pela facilidade na administração (JONG et al., 2003; ESTEBAN et al., 2006).

A existência de formas farmacêuticas apropriadas facilita a administração e o cumprimento dos tratamentos, além de evitar perdas desnecessárias, reduzindo os custos em saúde (COSTA et al., 2009).

O Paracetamol 200 mg/ml solução oral faz parte do programa Dose Certa do Governo Federal, que realiza a distribuição de medicamentos em postos instalados em estações do metrô, de trem, terminal de ônibus e hospitais estaduais (Farmácia Dose Certa, 2014). Esse programa tem como meta facilitar o acesso da população a medicamentos para o tratamento de doenças comuns e de seus sintomas, como verminoses, febre, dor, infecções, inflamações, pressão alta, diabetes, doenças do coração, além dos métodos contraceptivos, itens da Linha de Cuidado à Gestante e a Puérperas e medicamentos do Programa de Saúde Mental (YARYD, 2014).

No final do ano de 2012, o Laboratório Oficial designado pelo Ministério da Saúde como responsável pelo abastecimento de Paracetamol gotas 200 mg/ml soltou uma nota dizendo que não teria condições de abastecer todo o mercado nacional (Norma Técnica Conjunta AF/SS e FURP, 2012). Diante dessa situação, a IQUEGO decidiu incluir esse medicamento em seu portfólio, buscando não só evitar o desabastecimento desse medicamento nos postos de saúde de todo o Brasil, como também atender a solicitação do programa Dose Certa do Estado de São Paulo.

2.6 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

O desenvolvimento de um método analítico, adaptando ou implementando um método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina de laboratório. Esse processo é denominado de validação (BRITO et al., 2003).

A validação tem por objetivo demonstrar que o método em estudo é apropriado para a finalidade pretendida, seja ela a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos. Deve garantir, por meio de estudos experimentais, a confiabilidade dos resultados (BRASIL, 2003).

Metodologias analíticas não descritas nas farmacopéias serão consideradas validadas após cumprirem com os parâmetros de especificidade e seletividade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez, conforme RE nº 899, de 29 de maio de 2003 D.O.U. 02/06/2003 (BRASIL, 2002). Assim, de acordo com esta norma, antes de se proceder a um estudo de validação, é necessário identificar a categoria do teste analítico que se pretende validar. Esses testes são classificados em quatro categorias, de acordo com a sua finalidade, conforme demonstrado na tabela 2.

Tabela 2: Classificação dos testes a serem validados de acordo com sua finalidade.

Categoria	Finalidade do teste
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em produtos farmacêuticos e matérias-primas
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Testes de identificação

Fonte: Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 D.O.U. 02/06/2003

Para cada categoria de teste analítico, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina quais ensaios são necessários para a realização da validação. A Tabela 3 traz essas determinações.

Tabela 3: Ensaios necessários para validação de acordo com a categoria do teste analítico.

Parâmetro	Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
		Quantitativo	Ensaio limite		
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Intervalo	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Repetibilidade	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Intermediária	**	**	Não	**	Não
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Robustez	Sim	Sim	Sim	Não	Não

*Pode ser necessário, dependendo da natureza do teste específico.

** Se houver comprovação da reprodutibilidade não é necessária a comprovação da Precisão.

Fonte: Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 D.O.U. 02/06/2003.

De os parâmetros analisados da legislação foram:

- a) A especificidade, também chamada de seletividade, é a capacidade que um método possui de medir exatamente um composto na presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Para análises quantitativas (teor), comparam-se os resultados obtidos de amostras contaminadas com quantidades adequadas de impurezas ou excipientes com aqueles obtidos de amostras não contaminadas. Dessa forma, verifica-se se há interferência de impurezas ou excipientes na quantificação do fármaco (BRASIL, 2003).
- b) A linearidade é a capacidade de um método analítico demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Recomenda-se analisar, no mínimo, cinco concentrações diferentes de soluções padrão. Faz-se então a chamada curva analítica, submetendo os resultados a cálculos de correlação e regressão (coeficiente de correlação e regressão linear), além da equação da reta e desvio-padrão, sendo que o critério mínimo de aceitação do coeficiente de correlação (r) é 0,99 (BRASIL, 2003).

- c) O intervalo se refere à faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico, derivado do estudo de linearidade após confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados. Para os ensaios de determinação quantitativa do analito em matérias-primas ou em formas farmacêuticas, o limite porcentual do teor do analito que deve estar contido no intervalo de linearidade é de 80% a 120% da concentração teórica do teste (BRASIL, 2003).
- d) A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%). É considerada em três níveis (BRASIL, 2003):
- e) Repetibilidade: também chamada de precisão intra-corrida, é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e a mesma instrumentação. É verificada por, no mínimo, 9 determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 concentrações, baixa, média e alta, com 3 réplicas cada ou no mínimo 6 determinações a 100 % da concentração do teste.
- f) Precisão intermediária: ou precisão inter-corrida, é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Consideram-se no mínimo dois dias diferentes com analistas diferentes.
- g) Reprodutibilidade: ou precisão inter-laboratorial, é a concordância obtida entre os resultados em laboratórios diferentes.
- h) Exatidão é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Em análises da forma farmacêutica, realiza-se o teste de adição de padrão, sendo calculada a porcentagem de fármaco recuperada (% de recuperação) (BRASIL, 2003).

A sensibilidade que diz respeito a variação de sinal em função do aumento de concentração em geral expressa também os limites de detecção e quantificação, não exigidos para validação de ensaios tipo I (RE, 899), mas relevantes méritos analíticos. O limite de detecção (LD) é a menor quantidade de analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. Uma das maneiras de se obter esse

limite é através da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável (BRASIL, 2003).

Já o limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade de um analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Pode ser estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis (BRASIL, 2003).

Robustez se refere à medida da capacidade de um método analítico em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos. Constatando-se a susceptibilidade do método às variações nas condições analíticas, estas deverão ser controladas e precauções deverão ser incluídas no procedimento (BRASIL, 2003).

3 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método com uso de eletrodo modificado com sonogel (SNGCE) para aplicação na fase de desenvolvimento e controle de qualidade do paracetamol.

Assim, o método de Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) foi aqui proposto, para a quantificação de paracetamol em formulações farmacêuticas em desenvolvimento. A fim de assegurar a confiabilidade do método, a amostra de referência também foi investigada.

Todos os resultados foram comparados com eletrodos de carbono (SCEs) convencionais e com os resultados obtidos usando o método de CLAE.

Mais especificamente, os seguintes objetivos foram traçados:

1. Uso de eletrodos convencionais de platina, carbono vítreo, pasta de carbono e sonogel para quantificação de paracetamol em formulações líquidas em desenvolvimento e no medicamento de referência Tylenol[®] gotas.
2. Comparação com a metodologia oficial descrita na Farmacopéia Brasileira 5ª Edição, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL

Cinco formulações líquidas de paracetamol 200mg/mL (F1, F2, F3, F4 e F5) foram preparadas pela área de Desenvolvimento de Fármacos da IQUEGO, com a finalidade de procurar a solução com a formulação mais estável.

4.2 ENSAIOS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A determinação de paracetamol e da referencia foi realizada usando o sistema de CLAE Perkin Elmer (EUA), modelo Flex Slexar, com uma bomba modelo FX-15, um desgaseificador DGU-20A5, um detector LC Flexar UV/VIS, um forno de coluna Flexar Peltier e uma LC Flexar injetor automático (Figura 6). A temperatura do forno da coluna foi ajustada para 30°C. Respeito à separação dos analitos foi realizada utilizando uma coluna Perkin Elmer C18 (200 x 4,6 mm,10mm).

O paracetamol foi monitorado a 300 nm. O pH da fase móvel foi controlado em condições ambientais.

Antes da utilização da fase móvel, esta foi filtrada através de filtro de acetato de celulose de 0,22 µm e desgaseificada num banho de ultra-son, durante 20 minutos. Eluente foi 75% de metanol e 25% de água com fluxo de 2,0 mL/min.

A monitorização de CLAE das amostras de paracetamol foi realizada e comparada com as dos padrões.

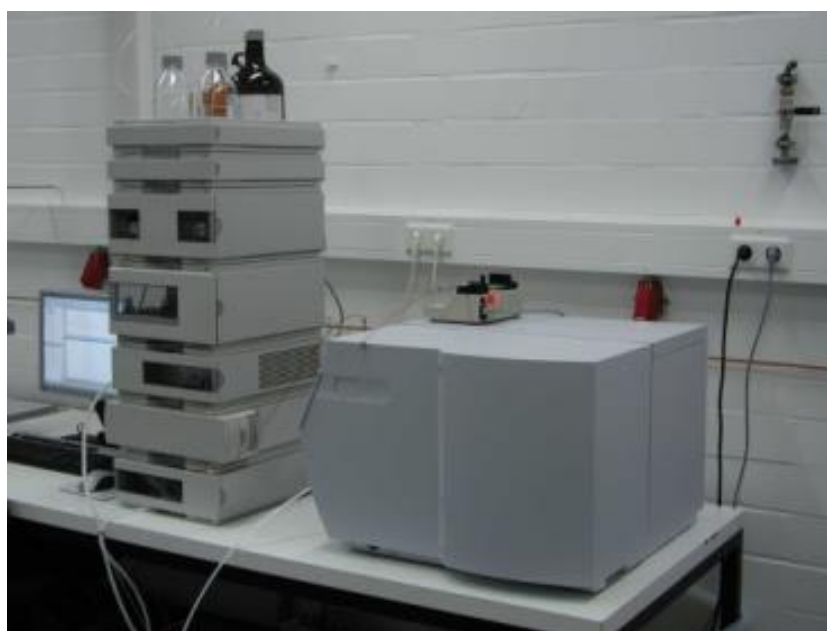


Figura 6: Cromatografo líquido de alta resolução (CLAE) Perkin Elmer.
Fonte: Catálogo Perkin Elmer.

A metodologia empregada foi a descrita na Farmacopéia Brasileira 5ª Edição, Volume 2. O metanol grau CLAE foi adquirido da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). A água foi purificada por um sistema Millipore Milli-Q (18 MΩ.cm), da Millipore, Bedford, MA, USA.

4.2.1 Preparo das soluções amostra

Foi preparada uma solução amostra para cada uma das formulações teste F1-F5 e para o medicamento de referência Tylenol® gotas. Transferiu-se volume precisamente medido de cada amostra contendo o equivalente a 200 mg de paracetamol para balão volumétrico de 200mL. Completou-se o volume com fase móvel e homogenizou-se. Foi transferido 1mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com fase móvel, homogenizou-se e filtrou-se.

4.2.2 Preparo da solução padrão

A solução padrão foi preparada dissolvendo-se quantidade, exatamente pesada, de paracetamol substância química de referência (SQR) em fase móvel para se obter concentração final de 0,01 mg/mL. O paracetamol SQR foi adquirido de Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda, Brasil.

4.2.3 Procedimento

Foram injetados, separadamente, 10 µL da solução padrão e de cada solução amostra. Os cromatogramas foram registrados e as áreas sob os picos foram medidas. A quantidade de paracetamol presente no medicamento de referência e em cada formulação teste foi calculada a partir desses dados.

4.3 ENSAIOS VOLTAMETRICOS

4.3.1 Preparação dos eletrodos de trabalho de sonogel e pasta de carbono

Na preparação dos eletrodos de sonogel, utilizou-se Metiltrimetoxisilano (MTMOS) adquirido da Merck (Darmstad, Alemanha) e Ácido Clorídrico (HCl) da Panreac (Barcelona, Espanha). Tubos capilares de vidro, com diâmetro interno de 1,15 mm, foram usados como corpo para os eletrodos compostos.

Preparou-se uma mistura de 500 μL de MTMOS e 100 μL de uma solução de HCl a 0.2 M, que foi submetida a ultrassom por 10 segundos. Em seguida, 0,5 g de pó de grafite, marca Sigma, foi adicionado e dispersado homogeneamente no sonogel obtido. Após alguns minutos, quando o material resultante adquiriu consistência suficiente, os tubos capilares de vidro foram preenchidos, deixando-se uma pequena quantidade para fora do tubo para facilitar o processo de polimento.

Após 24 horas os eletrodos de sonogel apresentaram-se endurecidos, e com isso, estruturados. Antes do uso, esses eletrodos foram polidos com um papel emery nº 1200 e secados cuidadosamente com papel de pesagem. O contato elétrico foi estabelecido com a inserção de um fio de cobre dentro dos tubos capilares, como mostra-se na figura 7.

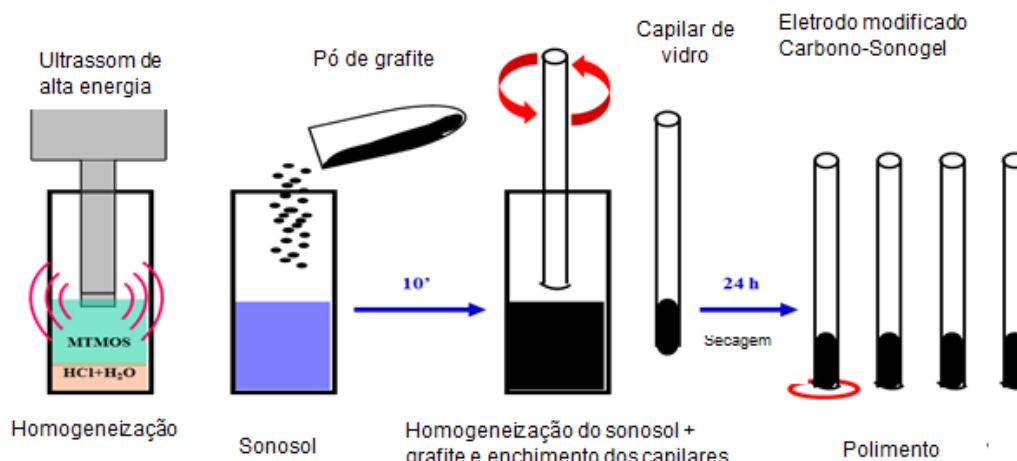


Figura 7: Preparo do Eletrodo de Sonogel.

Fonte: Cordero-Rando, et al, 2002.

Para se preparar o eletrodo de pasta de carbono, primeiramente foi preparada a pasta de carbono, misturando-se pó de grafite com alto grau de pureza e óleo de parafina (3:1), sob agitação em grau e pistilo. A pasta finalizada foi então empacotada dentro do corpo do eletrodo. A pasta de carbono foi alisada por um papel filtro molhado até obtenção de uma aparência brilhante.

4.3.2 Realização das medidas eletroanalíticas

Foram feitas empregando-se um Potenciostato/galvanostato μ AutoLab III[®] (Eco-Chemie, Utrecht, Holanda), integrado a software GPES 4.9 (Figura 8). O equipamento foi conectado a uma cela eletroquímica com capacidade de 10,0 mL, com sistema de três eletrodos: de sonogel, anel de Pt e Ag/AgCl/KCl (3M), representando os eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência, respectivamente.

Todas as medidas de pH foram feitas utilizando-se um eletrodo de vidro combinado (tiplo Blue Line; Shott), acoplado a um pHmetro digital pH-meter (Lab meter modelo PHS-3B).

O comportamento eletroquímico do paracetamol frente aos eletrodos de sonogel e de pasta de carbono foi investigado usando as técnicas de voltametria de pulso diferencial, cíclica e de onda quadrada.

A determinação quantitativa do paracetamol nas amostras foi feita pela voltametria de pulso diferencial, considerando-se o processo de oxidação. Essas medidas foram realizadas com adição de volume suficiente de cada formulação teste e de solução do medicamento de referência na célula voltamétrica contendo solução tampão de fosfato 0,1 M, pH = 5,0. As condições experimentais foram: amplitude de pulso de 75 mV, largura de pulso de 0,4 s e velocidade de varredura de 5 mV/s.

Os parâmetros empregados na voltametria de onda quadrada foram frequência de 20 Hz, amplitude de pulso de 50 mV, e rampa de potencial de 2 mV.

A melhoria da visualização e a identificação de todos os picos anódicos foi alcançada através do software GPES 4.9. Posteriormente, as replicatas (n=3) de cada amostra de paracetamol foram analisadas e tratadas com software Origin[®]8.



Figura 8: Potenciostato/galvanostato μ AutoLab III[®] I.
Fonte: Autoria Própria.

4.4 ITENS AVALIADOS NA COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DPV E CLAE.

4.4.1 Linearidade

Construiu-se uma curva de calibração com as leituras obtidas de soluções de paracetamol nas concentrações de 100 µM, 150 µM, 200 µM, 250 µM, 300 µM e 350 µM, empregando-se o método de voltametria de pulso diferencial e eletrodo de sonogel.

4.4.2 Limite de quantificação (LQ) e Limite de detecção (LD)

O Limite de quantificação foi calculado através do desvio padrão (DP) da resposta e da inclinação da curva de calibração (*ic*), de acordo com a equação 1:

$$LQ = \frac{DP \times 10}{ic} \quad (1)$$

De maneira semelhante, o Limite de detecção (LD) foi calculado usando-se a seguinte equação 2:

$$LD = \frac{DP \times 3}{ic} \quad (2)$$

4.4.3 Repetibilidade

Os eletrodos de sonogel e de pasta de carbono foram avaliados e comparados em relação à repetibilidade, através da reutilização por seis vezes de um mesmo eletrodo na análise de solução de paracetamol 0,1M.

4.4.4 Precisão intermediária

Avaliou-se a precisão intermediária para os eletrodos de sonogel e de pasta de carbono. Quatro eletrodos de cada tipo, produzidos individualmente, foram utilizados nas medidas de uma solução de paracetamol 0,1 M, em triplicata, e uma média foi calculada a partir desses resultados.

4.4.5 Especificidade

Foi avaliada através de análises de solução de paracetamol 1mM contaminadas com excesso de 10 vezes em relação à concentração de cada excipiente.

4.4.6 Exatidão

Utilizou-se o eletrodo de sonogel para determinar o conteúdo de paracetamol nas diferentes formulações teste, nas condições já descritas acima..

Além disso, realizou-se medidas com soluções do medicamento de referência e de solução padrão de paracetamol, em triplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DE PARACETAMOL SCE E SNGCE

As principais técnicas eletroanalíticas, voltametria cíclica (CV), voltametria de pulso diferencial (DPV) e onda quadrada (SWV), foram empregadas na caracterização eletroquímica de paracetamol no SCE e SNGCE.

A figura 9 ilustra os voltamogramas cíclicos e voltamograma de pulso diferencial do paracetamol no SCE e SNGCE obtido usando solução de paracetamol 0,1 M em PBS pH = 5,0. Observou-se o par redox com picos anódicos na E_{pa} de 0,39 V e 0,45 V e os picos catódica na E_{pc} de 0,35V e 0,24V, respectivamente, na SNGCE e SCE.

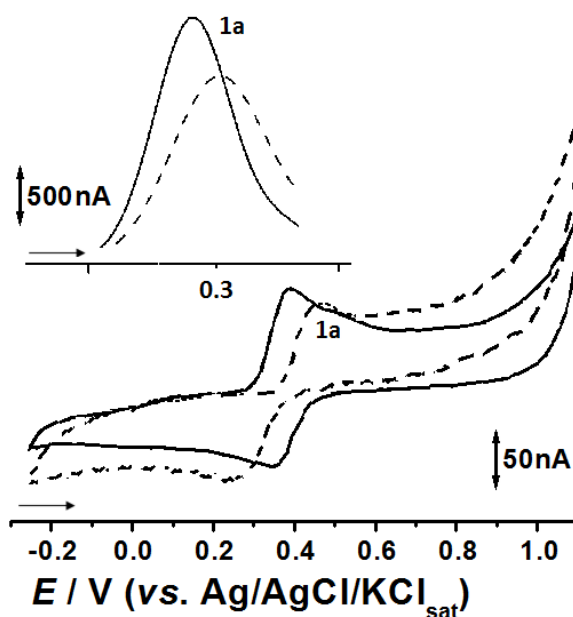


Figura 9: CV e DPV de paracetamol no SCE e SNGCE.

Embora o comportamento eletroquímico em ambos sistemas eletródicos foi bastante semelhante, a oxidação do paracetamol em SNGCE ocorreu em um potencial mais baixo com um ligeiro aumento de corrente de pico em comparação com SCE. Por sua vez, a relação entre anódicas e catódicas correntes, I_{pa}/I_{pc} era próximo da unidade, enquanto o ΔE_p foi bem menor em SNGCE, o que aponta a uma melhora na reversibilidade.

A alta reversibilidade observada para SNGCE é melhor observada na figura 10, em que as correntes para a frente e para trás em voltamogramas SW foram equivalentes e ocorreu ao mesmo valor potencial.

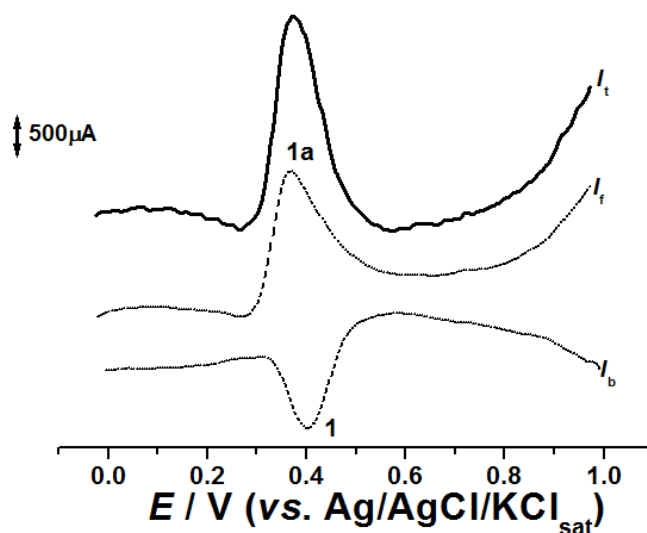


Figura 10: Reversibilidade para SNGCE.
Fonte: BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993.

Além disso, a repetibilidade das medições é de extrema importância no controle de qualidade dos medicamentos. Entretanto, apesar de todas as vantagens de eletroanálise, a pouca reprodutibilidade da área de superfície electroativo em elétrodos convencionais, em geral, têm impedido a sua aplicação na análise farmacêutica. Portanto, a repetibilidade nos tipos de eletrodos foi avaliada e comparada, reutilizando os mesmos eléctrodos muitas vezes e também alterando os priores do dispositivo para cada medição.

5.2 EFEITO DO pH:

A influência do pH sobre a corrente de pico anódica foi avaliada no intervalo de pH entre 2 e 10, e a melhor resposta foi obtida a pH = 5,0. Portanto, a curva de calibração, a validação do método e sua aplicação em fórmulas farmacêuticas foram realizadas a este valor de pH.

5.3 CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de calibração foi obtida usando DPV e SNGCE, e o intervalo linear foi obtido a 100-350 μM (Figura 11).

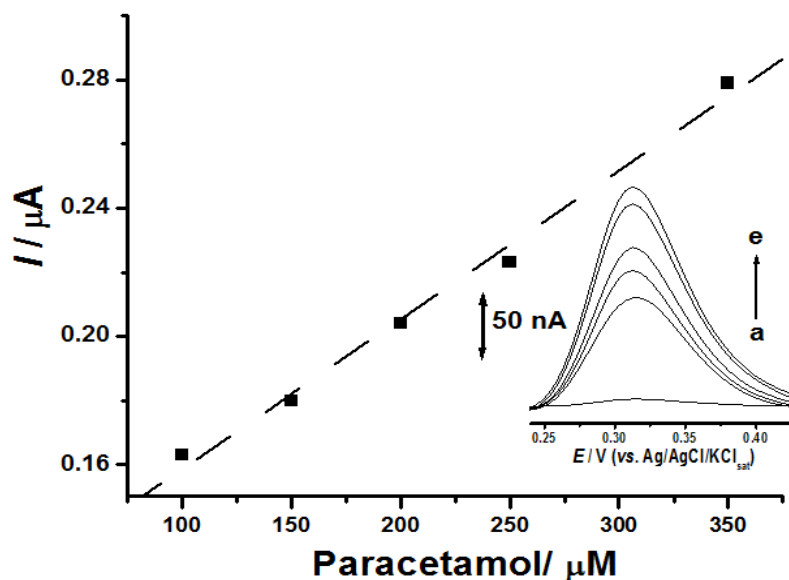


Figura 11: Curva de Calibração.

A equação de regressão linear é expressa como $I_{pa} = 4,88 \times C + 0,1092$ com coeficiente de correlação ($R^2 = 0,9914$), onde é a I_{pa} anódica (oxidação) pico de corrente (mA) e C é a concentração de paracetamol (expressos em μM).

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), calculada através da divisão de três e dez vezes o desvio padrão do declive da equação linear, foram de 23,73 mol/L e 72,04 mol/L, respectivamente.

O limite de detecção obtido para o paracetamol é comparável com os valores descritos na literatura para dispositivos mais complexos relatados na RE nº 899, de 29 de maio de 2003 D.O.U. 02/06/2003 para os Test Tipo II (Tabela 3).

5.4 ESTABILIDADE E REPETIBILIDADE

A fim de estimar a repetibilidade do método do SNGCE, foram realizadas dez medições usando DPV com um pico de corrente de pulso 75 mV para uma solução 0,1 M de paracetamol, obtindo um desvio-padrão (DPR) de 1,90 %.

No entanto, com a reutilização do mesmo eletrodo o desvio padrão relativo obtido para SCE foi de 5,2% na terceira reutilização. Assim, demonstra-se claramente que SNGCE confere maior reprodutibilidade para este método eletroanalítico.

A reprodutibilidade eletrodo-a-eletrodo do método DPV foi examinado em quatro SNGCEs construídos individualmente. O DPR da média de três corrente de pico para a solução 0,1 M de paracetamol foi de 2,1%. Por sua vez, no caso de SCE, quando os elétrodos foram substituídos por outro dispositivo do mesmo tipo, o DPR obtido foi de 5,1%.

Além disso, a estabilidade do eletrodo operacional de SNGCE também foi maior do que o observado para o SCE. Sendo assim, com os eletrodos preparados com SCE, o sinal começou a diminuir progressivamente após um mês, ao passo que a estabilidade a longo prazo de SNGCE foi maior do que três meses. Por conseguinte, os tubos vítreos podem exercer proteção química para SNGCE, tornando-os atrativo para a fabricação de sensores químicos. Por outro lado, considerando as normas de Boas Práticas de Fabricação, especialmente na área farmacêutica, o uso de SNGCE deve ser mais adequada do que a SCE.

Assim, tendo em conta o seu melhor desempenho global, o eletrodo SNGCE foi usado na condução deste estudo.

5.5 EFEITO DE INTERFERENTES

Como os excipientes da formulação do paracetamol gotas não são eletroativos, estes não influenciam na análise, aumentando assim a aplicabilidade dos métodos eletroanalíticos em análise farmacêutica. No entanto, foi avaliada a influência dos excipientes comuns nas formulações líquidas de paracetamol, isto é, amido, povidona, talco, estearato de magnésio, e alginato de sódio.

Nas nossas experiências, não foram observadas alterações significativas na resposta de corrente de pico de 0,1 M de paracetamol enriquecida com um excesso de 10 vezes de cada um dos excipientes, quando comparado com uma solução padrão.

5.6 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES LÍQUIDAS DE PARACETAMOL

As formulações líquidas de paracetamol 200 mg/ml foram desenvolvidas partido do medicamento de referência, o Tylenol® gotas. Além desse medicamento, várias outras formulações de paracetamol gotas na mesma concentração disponíveis no mercado foram estudadas com relação às características dos seus componentes.

A composição empregada nas formulações teste foi selecionada levando-se em consideração todos esses dados. Durante o preparo das formulações teste, observou-se formação de precipitado nas amostras F1, F2 e F3:

Em F1, a precipitação ocorreu no momento da adição da solução contendo paracetamol à mistura contendo os demais excipientes, que foi feita à temperatura ambiente. Mesmo após um longo período de agitação, o precipitado não se desfez.

Nas formulações F2 e F3, não se observou precipitação no momento da adição de uma solução à outra, o que se deu sob temperaturas de 55°C e 70°C, respectivamente. No entanto, após o resfriamento das soluções, observou-se a formação de precipitado em ambas.

O mesmo não ocorreu com as Formulações teste F4 e F5, que permaneceram límpidas durante todo o processo de manipulação. Acredita-se que tal fato está associado ao aquecimento de 80°C durante a solubilização do paracetamol em polietilenoglicol, e a manutenção de temperaturas superiores a 30°C no momento da incorporação dessa solução à mistura contendo os demais excipientes.

No desenvolvimento das formulações, foi possível observar que o controle da temperatura durante a manipulação de solução oral de paracetamol é um fator primordial para a estabilidade da formulação proposta.

Além disso, acredita-se que a não incorporação do ciclamato de sódio e sacarose durante a manipulação em temperatura ambiente seja responsável pela formação dos precipitados.

5.7 ENSAIOS DE APLICAÇÃO

SNGCE foi usada para determinar o teor de paracetamol em diferentes formulações líquidas sob desenvolvimento farmacêutico. Usando o método proposto,

a concentração recuperado de paracetamol em todas as amostras foi muito próximo aos encontrados pelo método oficial.

Os resultados obtidos para as diferentes amostras de formulações em desenvolvimento variou 68,5 - 101,8%. A baixa recuperação encontrada para alguns pontos de formulação para a relevância das determinações quantitativas em estágios iniciais de desenvolvimento do produto, a fim de evitar o tempo e perdas financeiras. O grande impacto dos excipientes, ou seja, co-solventes e procedimentos de solubilização, ou seja, aquecimento e mistura durante formulações farmacêuticas também é evidenciada.

5.8 RECUPERAÇÃO DE ENSAIO, DPV EM COMPARAÇÃO COM CLAE:

A precisão do método eletroanalítico foi verificado contra uma solução padrão e com o método oficial.

As recuperações calculados a partir dos resultados da tabela 4, variaram de 98,3-100,1%, que é menor do que o valor limite de 5%. Portanto, o método proposto DPV indica que está em forte concordância com o método da farmacopéia. Assim, pode ser aplicado com sucesso para a determinação de paracetamol em tal forma de dosagem sem qualquer processo de pré-tratamento, oferecendo baixos custos e mais rápido desenvolvimento.

Tabela 4: Resultados de recuperação obtidos das análises das formulações teste de paracetamol e do medicamento de referência pelos métodos de DPV e CLAE.

Amostras	Concentração de paracetamol (mg/ml)	Recuperação média +-DPR (%)	
		DPV	CLAE
F1	200	95,8 +-2,4	96,5+-2,4%
F2	200	68,5 +-1,7	73,7+- 1.8%
F3	200	76,2+-1,9	79,5+-2,0%
F4	200	88,6 +-2,2	92,2+- 2.3%
F5	200	98,5 +-2,5	98,8+-2,5%
Referência	200	101,8 +-2,6	107,28+-2,7

5.9 ENSAIOS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A solução oral de paracetamol deve conter no mínimo 90% e no máximo 110% da quantidade declarada do princípio ativo (ANVISA, 2010). Os resultados obtidos das análises de cada uma das formulações teste F1-F5 e do medicamento de referência, estão apresentadas na tabela 5 e os cromatogramas obtidos representados na figura 12.

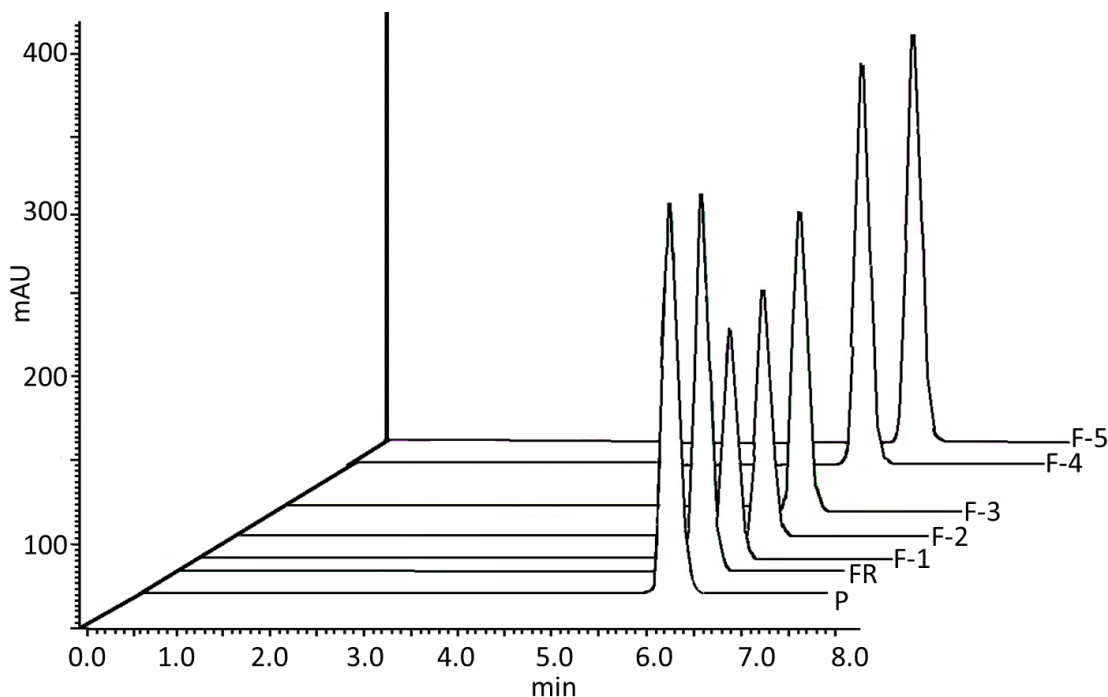


Figura 12: Cromatogramas obtidos, onde P é a solução padrão, FR é a amostra de referência Tylenol®, F1 é a amostra teste 1, F2 é a amostra teste 2, F3 é a amostra teste 3, F4 é a amostra teste 4 e F5 é a amostra teste 5. Fonte: Autoria Própria

Tabela 5: teor de paracetamol nas Formulações teste F1, F2, F3, F4 e F5 e no medicamento de referência (Tylenol® gotas), obtidas por análise de CLAE.

Amostra	Teor encontrado	Teor Recuperado
Referência	96,49%	-
F1	59,67%	60,09%
F2	63,50%	63,95%
F3	77,19%	77,34%
F4	101,64%	102,35%
F5	107,18%	107,93%

Observou-se que apenas as Formulações teste F4 e F5 apresentaram teor do princípio ativo satisfatório de acordo com a Farmacopéia Brasileira. Isso se deve ao fato de que todas as demais Formulações teste (F1, F2 e F3) apresentaram

formação de precipitado, o que levou à redução da quantidade de paracetamol em solução.

Os resultados apresentados demonstram que apenas as Formulações teste F4 e F5 devem ser consideradas para desenvolvimento e produção de novas formulações líquidas de paracetamol.

6 CONCLUSÃO

- Um método simple para a funcionalização química da sílica na elaboração de eletrodos foi usado, e o sonogel (SNGCE) resultante, foi empregado para melhorar as propriedades elétricas e mecânicas dos eléctrodos de pasta de carbono (SCE).
- O SNGCE, devido à sua grande área condutora e alta capacidade de adsorção, exibiu uma melhor resposta eletroquímica em comparação ao SCE. Expressou um ligeiro aumento das correntes de pico, com deslocamento negativo do potencial de pico anódico, além de isso apresentou uma alta reversibilidade.
- O método proposto para a determinação do Paracetamol apresenta diversas vantagens: simplicidade de aplicação; geração de resíduos com baixo impacto ambiental; maior velocidade nas análises; e um custo mais baixo, em comparação com o método padrão recomendado pela Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria - ANVISA.
- O método proposto foi confirmado por determinações comparativas utilizando o método padrão e por ensaios de recuperação.
- A detecção voltamétrica proposta para paracetamol oferece uma boa alternativa, tanto economicamente quanto ambientalmente, para o controle do desenvolvimento de formulações farmacêuticas qualidade.
- Além disso, o método proposto oferece uma alternativa promissora para a análise de outras formulações contendo fármacos eletroquimicamente ativos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANA FELIPA PINHEIRO VILELA FERREIRA. Desenvolvimento farmacêutico e validação do método analítico de uma suspensão contendo paracetamol - Mestrado em Química - Departamento de Química - FCTUC - Setembro de 2010).

ANVISA. **FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª EDIÇÃO, VOLUME 2** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 1189-1193p., v.2, 2010.

BAREK, J.; FOGG, A.G.; MUCK, A.; ZIMA, J. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**. v.31, n.4, p.291-309, 2001.

BERHE. A. **Voltammetric study of paracetamole using glassy carbon electrode**. A Graduate project presented to the School of Graduate Studies Addis Ababa University in partial fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science in Chemistry. 2007

BIUCK, H.; MOJTABA, J.; MOHAMMAD, P.A. Simultaneous determination of acetaminophen and dopamine using SWCNT modified carbon–ceramic electrode by differential pulse voltammetry. **Electrochimica Acta**. v.56, p.2888-2894, 2011.

BOSCH M. ESPINOSA, A.J. RUIZ S´anchez, F. S´anchez Rojas *, C. Bosch Ojeda Determination of paracetamol: Historical evolution Department of Analytical Chemistry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.42, p.291-321, 2006.

BRASIL. LEI Nº 6.360, DE 23 DE SETEMBRO DE 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. 1976

BRASIL. Norma Técnica Conjunta AF/SS e FURP Nº 01, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – Coordenadoria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos de Saúde. 2012.

BRASIL. Resolução - **RE nº 899**, de 29 de maio de 2003 D.O.U. 02/06/2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002.

BRETT, C. M. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. *Electroanalysis*, Principles, Methods and Applications. **Textbook**, **Oxford University**, UK. P.456 1993.

BRILLAS E., BULLS I., C. ARIAS, CABOT PL, Centellas F., RODRIGUES RM, GARRIDO NOW. Paracetamol mineralization in an aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond of eletrodo. **Chemosphere**. v.58, p.399 -406, 2005.

BRITO, N.M.; AMARANTE JÚNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. **Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão**. Pesticidas. v.13, p.129-146, dez.-jan., 2003.

BROWNSTEIN, M.J. A brief history of opiates, opioid peptides, and opioid receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**. v.90, p.5391-5393, 1993. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC46725/pdf/pnas01469-0022.pdf>> Acesso em 12/12/2013.

CANEVARI, T.C.; RAYMUNDO-PEREIRA, P.A.; LANDERS, R.; BENVENUTTI, E.V.; MACHADO, A.S. Sol-gel thin-film based mesoporous silica and carbon nanotubes for the determination of dopamine, uric acid and paracetamol in urine. **Talanta**. v.116, p.726-735, 2013.

CAVALHEIRO, E.T.G.; BRETT,C.M.A.; BRETT,A.M.O.; FATIBELLO-FILHO,O. Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds. **Bioanalytical Reviews**, v.4, p.32-53, 2012).

DA COSTA, P.Q.; DE LIMA, J.E.S.; COELHO, H.L.L. Prescrição e preparo de medicamentos sem formulação adequada para crianças: um estudo de base hospitalar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.45, n.1, p.57-66, jan.-mar., 2009.

ESTEBAN, M.E.M.; RODRÍGUEZ-RABADÁN, J. A.; GARCÍA V.P.; DE TORRES, J.P.; LAGO, V. G.; DE TEJADA, A.H. Formulaciones orales acuosas: una administración más segura para pediatría. **Revista de la Organización de Farmacéuticos Ibero-Latinoamericanos**. v.16, n.4, p.15-28, 2006.

Farmácia Dose Certa. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/ses/perfil/gestor/assistencia-farmaceutica/farmacia-dose-certa/farmacia-dose-certa>> Acesso em: 20 set. 2014.

Franco Y.O., Franco L.M. Biotransformação: importância e toxicidade. **Saúde Rev.** 5(9): 69-76, 2003.

FISCHER, J; GANELLIN, C. R. Analogue-based drug discovery II. **WILEY-VCH**, p.30-33, 2010.

FERREIRA, A.F.P.V. Desenvolvimento farmacêutico e validação do método analítico de uma suspensão contendo paracetamol - Mestrado em Química - Departamento de Química - **FCTUC** - Setembro de 2010).

GOODMAN, L.S.G.; HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: **McGraw-Hill**, 2010. 1821p.

GUPTA, V.K.; JAIN, R.; RADHAPYARI, K.; JADON, N.; AGARWAL, S. Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals – a review. **Analytical Biochemistry.** v.408, p.179-196, 2011.

HASS. H. History of antipyretic analgesic therapy. **The American Journal of Medicine**, v.75 , p. 1-3, 1983.

HABIBI B.; JAHANBAKHSHI M.; POURNAGHI-AZAR M.H. A Carbon Nanotube Modified Electrode for Determination of Caffeine by Differential Pulse Voltammetry. **Chinese Journal of Catalysis.** v. 33 p. 1783-1790, 2012.

IQUEGO. HISTÓRICO DA IQUEGO. Disponível em: < <http://www.iquego.com.br>>. Acesso em: 10/10/2013.

JACQZ-AIGRAIN E., ANDERSON B.J. Pain control: Non-steroidal anti-inflammatory agents. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine.** v.11, p.251-259, 2006.

JANEIRO, P.; OLIVEIRA BRETT, A.M. Catechin electrochemical oxidation mechanisms. **Analytica Chimica Acta**, v.518, p.109-115, 2004.

KALAMBATE P.K., SANGHAVI B.J., KARNA S.P., SRIVASTAVA A.K., Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and domperidone based on a graphene/platinum nanoparticles/Nafion composite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical** (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.090>

KHASKHELI A. R., et al., Differential pulse voltammetric determination of paracetamol in tablet and urine samples at a micro-crystalline natural graphite–

polystyrene composite film modified electrode. **Electrochimica Acta** (2012), <<http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2012.09.102>> Acesso em 10/12/13.

LOUSA, A.G.S. Estratégia de inovação na Indústria Química do Estado de Goiás. 2008. Dissertação - **Universidade Católica de Goiás, Universidade Estadual de Goiás, Centro Universitário de Anápolis.**

LUBOMIR, SVORC; JOZEFCSOCHR, PETER TOMCIK, MIROSLAV RIEJAV, DUSAN BUSTI. Simultaneous Determination of paracetamol and penicillin V by square-wave voltammetry at a bare boron-doped diamond electrode. **Electrochimica Acta** v.68, p.227-234, 2012.

MAGALHÃES, J.L.; BOECHAT, N.; ANTUNES, A.M.S. Principales desafíos de la producción pública de medicamentos en Brasil y panorama del sistema de salud. **Revista Cubana de Salud Pública**, v.34, n.3, 2008.

MAGALHÃES, J.L.; ANTUNES, A.M.S.; BOECHAT, N. Laboratórios farmacêuticos oficiais e sua relevância para saúde pública do Brasil. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, v.5, n.1, p.85-99, Mar., 2011.

Mazloun-Ardakani *, Mohammad Ali Sheikh-Mohseni, Mohammad Abdollahi-Alibeik, Ali Benvidi. Electrochemical sensor for simultaneous determination of norepinephrine, paracetamol and folic acid by a nanostructured mesoporous material. *Sensors and Actuators B* 171–172 (2012) 380–386

NAGWA ABO EL-MAALI, Voltammetric analysis of drugs. **Bioelectrochemistry**. v.64, p.516-537, 2004.

Nathasha S. REIS, Sílvia H.P. SERRANO, Ricardo MENEGHATTI & Eric de S. GIL. Métodos Eletroquímicos usados para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais. **Lat. Am. J. Pharm.** 28 (6): 949-53 (2009)

Norma Técnica Conjunta AF/SS e FURP, 2012

O. Makhotkina and P.A. Kilmartin, "The use of cyclic voltammetry for wine analysis: Determination of polyphenols and free sulfur dioxide", *Analytica Chimica Acta* 668 (2010) 155-165.

PACHECO, W.F.; SEMAAN, F.S.; ALMEIDA, V.G.K.; RITTA, A.G.S.L.; AUCÉLIO, R.Q. Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**. v.5, n.4, p.516-537, 2013.

PETERLINI, M.A.S.; CHAUD, M.N.; PEDREIRA, M.da L.G. Órfãos de terapia medicamentosa: a administração de medicamentos por via intravenosa em crianças hospitalizadas. **Revista Latino-americana de Enfermagem**. v.11, n.1, p.88-95, jan.-fev., 2003.

RAJENDRA N.GOYAL; VINODO K. GUPTA; MUNETAKA OYAMA; NEETA BACHHETI. Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode. **Science Direction**. v. 7, p 803-807, 2005.

RAMESH, P., SAMPATH, S. Selective determination of uric acid in the presence of ascorbic acid and dopamine at neutral pH using exfoliated graphite electrodes. **Electroanalysis**, v.16, p. 866-869, 2004.

RANDO, M.M.; RODRÍGUEZ, I.N.; SANTANDER, J.P.; AGUILERA, L.C.; CISNEROS, J.L.H. Study of the responses of a sonogel-carbon electrode towards phenolic compounds. **Electroanalysis**. v.17, p. 806-814, 2005.

REDDAIAH, K.; REDDY, T.M. Electrochemical biosensor based on silica sol-gel entrapment of horseradish peroxidase onto the carbon paste electrode toward the determination of 2-aminophenol in non-aqueous solvents: A voltammetric study. **Journal of Molecular Liquids**. v. 196, p.77-85, 2014.

SÁ, L. Z. C. M. **Determinação eletroanalítica e espectrofotométrica da atividade antioxidante de fermentados de jabuticaba e vinhos de diferentes procedência**, p.27, 2013.

SÂNDULESCU R., S. MIREL, OPREAN A. Development of spectrophotometric and electroanalytical methods for ascorbic acid and paracetamol and its applications in the analysis of the forms of effervescent dosage. **J. Pharm. Biomed.** v.23, p.77-87 , 2000.

SANGHAVI, B. J. e SRIVASTAVA, A. K. Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode, **Electrochim. Acta** 55 (2010) 8638-8648.

SEBBEN V.C., LUGOCH R.W., SCHLINKER C.S., ARBO M.D., VIANNA R.L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica do paracetamol. **Revista Brasileira de Patologia Médica e Laboratorial**. v.46, n.2, p.143-148, 2010.

SHINODA, S.; AOYAMA, T.; AOYAMA, Y.; TOMIOKA, S.; MATSUMOTO, Y.; OHE, Y. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of acetaminophen analgesia in japanese

patients with chronic pain. **Biological & pharmaceutical bulletin**. v.30, n.1, p.157-161, 2007.

SKOOG, D. A; WEST,D.M; HOLLER, F.J.; STANLEY, R.C. **Fundamentos da Química Analítica**, 8ª edição, São Paulo: Ed.Tomson, 2007.

Weimeng Si, Wu Lei, Zhen Han, Yuehua Zhang, Qingli Hao, Mingzhu Xia, Electrochemical sensing of acetaminophen based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/graphene oxide composites, *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 193, 31 March 2014, Pages 823-829, ISSN 0925-4005, <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.12.052>.

‘T JONG, G. W.; ELAND, I. A.; STURKENBOOM, M. C. J. M.; VAN DEN ANKER, J. N.; STRICKER, B. H. C. Determinants for drug prescribing to children below the minimum licensed age. **European Clinical Pharmacology**. v.58, n.10, p.701-705, 2003.

THOM, R. A.; BENDERr, G. A. A history of pharmacy in pictures, 1958.

TYSZCZUK-ROTKO, K.; BECZKOWSKA, I.; WÓJCIAK-KOSIOR, M.; SOWA, I. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and ascorbic acid using a boron-doped diamond electrode modified with Nafion and lead films. **Talanta**, v.129, p.384–391, 2014.

WARD, B.; ALEXANDER-WILLIAMS, J.M. Paracetamol revisited: a review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Acute Pain**. v.2, n.3, p.139-149, 1999.

WANGFUENGKANAGUL N., CHAILAPAKUL O., 2002). **Analysis of paracetamol Electrochemistry Using a doped diamond with boron Thin Film Electrode Applied to the flow injection system**. *J. Pharm. Biomed. Anal.* v. 28, p.841-847, 2002.

YARYD, A.T. (Coord.). Saúde cidadão. Guia de informações sobre medicamentos para a pessoa idosa. Disponível em: http://www.mpsp.mp.br/portal/page/portal/Cartilhas/Saude_Cidadao2.pdf> Acesso em: 20 set. 2014.

YING LI, SHEN-MING CHEN. **The Electrochemical Properties of Acetaminophen on Bare Glassy Carbon Electrode**. *Int. J. Electrochem. Sci.*, v.7, p. 2175 – 2187, 2012.

ZEN, J. M., TING, Y. S. Square-wave voltammetric stripping analysis of lead(II) at a Nafion/copper-mercury film electrode. **Analytical Chimica Acta** 332, 59-65, 1996

ZEN, J.M, TING, Y.S. Simultaneous Determination of caffeine and acetaminophen in drug formulations by square-wave voltammetry using a chemically modified electrode. **Analytical Chimica Acta** v.342, p.175-180, 1997.

ZHANG, Y. SUN, X. LIN. Anodic separation Peaks of dopamine ascorbic acid and an α -alanine in Covalently Modified glassy carbon electrode. **Analyst**, v. 126, p. 1760-1763, 2001.

ZHUA, A.; XUA, G.; LIA, L.; YANGA, L.; ZHOUA, H.; KANAB, X. Sol-Gel Imprinted Polymers Based Electrochemical Sensor for Paracetamol Recognition and Detection. **Analytical Letters**. v.46, p.1132-1144, 2013.

8 ANEXOS

ANEXO I : Artigo publicado na Latin American Journal of Pharmacy

(formerly Acta Farmacéutica Bonaerens Lat. Am. J. Pharm. 34 (2): 344-50 (2015).