

ANÁLISE DO PARACETAMOL EM MEDICAMENTOS REFERÊNCIA SÓLIDOS E LÍQUIDOS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Bianca Sampaio Paulo, Lucas Ferreira Lyra, Kumiko Koibuchi Sakane

Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, bsampaiopaulo@gmail.com

Resumo

A Espectroscopia no Infravermelho é uma técnica muito utilizada para análises qualitativas e quantitativas de medicamentos, devido à sua capacidade de identificar e caracterizar as estruturas dos seus constituintes moleculares. O presente estudo tem como objetivo comparar as diferenças nos espectros infravermelhos de medicamentos comercializados de Paracetamol (PCT) líquido e sólido e de seu princípio ativo. Os estudos de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) foram realizados como método de discriminação e seus graus de similaridades foram calculados. Os resultados mostraram uma diferença significativa entre os espectros do (PCT) líquido e do sólido com redução dos picos. Além disso, as alterações das intensidades dos picos, assim como, a semelhança visual entre os espectros de princípio ativo e de referência, indicaram uma pequena quantidade de excipientes presentes nos medicamentos de referência. No entanto, os resultados da PCA, juntamente com os da HCA, foram capazes de demonstrar uma completa discriminação dos espectros dos medicamentos analisados.

Palavras-chave: Espectroscopia no Infravermelho. FTIR-UATR. Paracetamol. PCA. HCA.

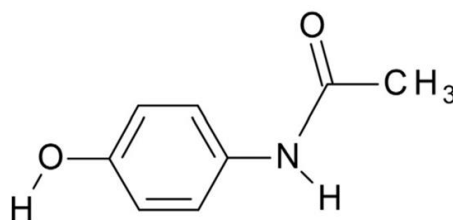
Área do Conhecimento: Ciências da Saúde

Introdução

A classe farmacológica dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) apresenta efeito analgésico, antitérmico e anti-inflamatório. Esses efeitos são decorrentes de um mecanismo geral comum. Os AINEs são capazes de inibir as enzimas ciclo-oxigenases (COXs), responsáveis pela síntese das prostaglandinas e tromboxano. Os AINEs tradicionais inibem tanto a COX 1 (enzima dita constitutiva por ser encontrada em diversos tecidos do organismo) quanto a COX 2 (enzima dita induzida por mediadores inflamatórios) (Mühlbauer, 2016; Wang et al., 2011). Devido ao seu grande efeito analgésico e antitérmico, tem sido amplamente prescrito, assim como usado sem prescrição médica. O Paracetamol é um dos analgésicos antitérmicos mais prescritos em todo o mundo e faz parte da composição de várias preparações patenteadas e de venda livre (Mühlbauer, 2016).

O Paracetamol, Acetaminofeno ou N-acetil-p-Aminofenol ou 4-acetamidofenol, é um ácido orgânico fraco ($pK_a = 9,5$). Pertencente à classe dos derivados do para-aminofenol (Figura 1), é o último fármaco ainda utilizado na clínica médica representante dos "analgésicos anilínicos": Acetanilida, Fenacetina e Paracetamol. Ele é obtido por meio da redução do p-Nitrofenol a p-aminofenol, que é acetilado por aquecimento de uma mistura de anidrido acético e ácido acético glacial (Bertolini et al., 2006; Costa, 2009). O Paracetamol (acetaminofeno) é um medicamento anti-inflamatório não esteroide, que, no Brasil, está incluído na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) e é distribuído, de maneira contínua, para a rede básica de saúde brasileira (Brasil, 2009; Brasil, 2018; Tescarollo 2020; Lyra, 2024). O Paracetamol (PCT), é extensamente utilizado pela população brasileira, para combater sintomas como dor de cabeça, enxaqueca leve, dor musculoesquelética, dismenorrea etc., em todas as faixas etárias, tendo destaque no tratamento infantil, sendo o fármaco de primeira escolha por possuir poucos efeitos tóxicos para crianças, quando comparado a outros medicamentos (Gonçalves Junior, 2023; Lyra, 2024; Tescarollo, 2020).

Figura 1 - Estrutura química do Paracetamol



Fonte: Silva (2022).

Os métodos espectrométricos incluem todas as técnicas baseadas na interação entre a radiação eletromagnética e a matéria. A região do espectro eletromagnético na faixa aproximada de 10^4 cm^{-1} a 10^2 cm^{-1} correspondente ao infravermelho induz alterações no estado de energia vibracional da molécula. A radiação infravermelha converte-se em energia de vibração molecular quando absorvida por uma molécula. A frequência ou número de onda de uma absorção depende das massas, das constantes de força das ligações e da geometria. Somente os modos vibracionais que alteram o momento dipolar durante a vibração, são observados no espectro infravermelho. Embora o espectro infravermelho seja característico da molécula, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem aproximadamente na mesma região do seu espectro, independente da estrutura. A presença dessas bandas características que permite a obtenção de informações para identificações de estruturas (Lyra, 2024; Silverstein et al., 2006; Smith, 2011).

A análise estatística multivariada é considerada um dos métodos quimiométricos que permite analisar simultaneamente uma grande quantidade de dados com muitas variáveis possui ou não, correlações entre si (Everitt et al., 2011). As técnicas de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) acoplada com a Análises Estatísticas Multivariadas têm sido utilizadas nos estudos de medicamentos, alimentos, plantas e sistemas biológicos, pois são consideradas uma técnica rápida, simples e precisas que requerem o mínimo de preparo das amostras sem o uso, muitas vezes, de reagentes complexos (Stuart, 1997).

Este trabalho tem como objetivo comparar, caracterizar os espectros de medicamentos de referência de PCT sólido e líquido, seu princípio ativo e obter o grau de similaridade entre as amostras estudadas.

Metodologia

Para o presente estudo foram utilizadas as amostras de princípio ativo (PCT puro sem excipientes), de medicamentos comercializados de referência líquido e sólido. Os espectros das amostras de princípio ativo ajudam na identificação das bandas características de PCT e dos excipientes. Os espectros foram obtidos no modo de reflexão na região de 4000 a 500 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} com 32 varreduras à temperatura controlada de 20°C . Cinco espectros foram obtidos para cada amostra para obtenção dos espectros médios. O espectrofotômetro utilizado foi Spectrum Two com Transformada de Fourier (FTIR) com Tecnologia de Refletância Total Atenuada (ATR) da PerkinElmer. Os espectros foram processados com software Spectrum 5.3 e 10.3 da PerkinElmer onde foram realizadas as correções de linha de base e suavização espectral com o algoritmo Savitsky Golay (9 pontos).

Os espectros processados foram plotados em gráficos utilizando o software Origin Pro 8.5 e seus dados foram submetidos às Análises de Componentes Principais (PCA) e de Agrupamento Hierárquico (HCA) utilizando o software Minitab 17.

Resultados

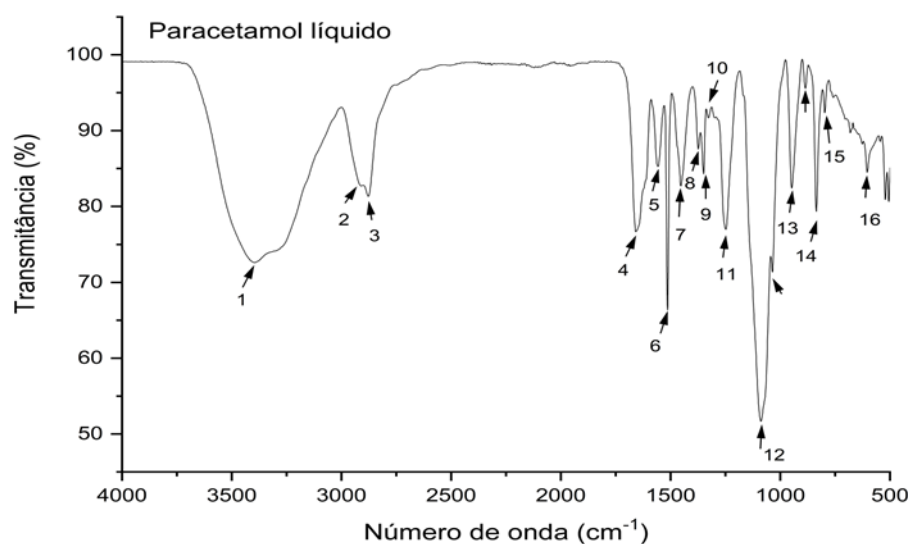
Na Figura 1, apresenta-se o espectro infravermelho médio de PCT líquido em transmitância na região de 4000 a 500 cm^{-1} .

As bandas foram numeradas e apresentadas na Tabela 1, juntamente com as atribuições das bandas características baseadas nas literaturas (Barbosa, 2007; Pavia et al., 2010). A identificação das regiões de absorção dos excipientes é assinalada na Figura 2.

O espectro de PCT líquido foi escolhido para atribuição por apresentar praticamente a configuração de uma molécula isolada com menor efeito de interações intermoleculares.

A molécula de PCT apresenta uma estrutura complexa com grupos carbonila (C=O) e hidroxila (O-H), uma estrutura aromática (anel benzênico), ligações (-CN) e (-NH) e grupo -CH₃ mostrada na Figura 1. A Tabela 1 mostrou a presença destas ligações e identificou os modos vibracionais correspondentes a esses grupos.

Figura 2 - Espectro infravermelho médio de Paracetamol líquido.



Fonte: os autores

Tabela 1 - Número de onda e suas atribuições aproximadas baseadas nos compostos semelhantes.

Picos	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições aproximadas
1	3393	Estiramento das ligações O-H e N-H sobrepostas a absorção de estiramentos assimétrico e simétrico OH de água.
2	2913	Estiramento assimétrico da ligação C-H do CH ₃ .
3	2877	Estiramento simétrico da ligação C-H do CH ₂ .
4	1658	Estiramento da ligação C=O sobreposta a absorção de deformação angular OH de água.
5	1557	Estiramento da ligação C=C.
6	1513	Estiramento da ligação C=C.
7	1453	Estiramento da ligação C=C que está sobreposta a absorção de deformação angular assimétrica CH do CH ₃ .
8	1373	Deformação angular simétrica CH do CH ₃ .
9	1349	Deformação angular no plano da ligação O-H.
10	1327	Deformação angular no plano da ligação C-H do anel aromático.
11	1298	Deformação angular da ligação C-N.
12	1248	Excipiente com pequeno ombro mostrado com seta.
13	968	Deformação angular fora do plano da ligação C-H do anel aromático.
14	885	Deformação angular fora do plano da ligação C-H do anel aromático.
15	835	Deformação angular simétrica fora do plano da ligação N-H.
16	603	Deformação angular do anel aromático.

Fonte: os autores

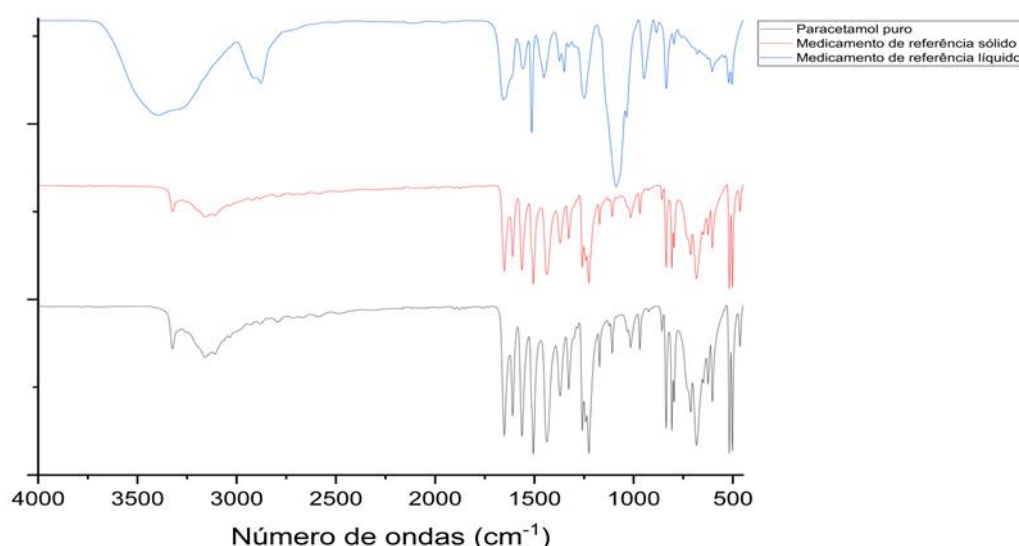
A Figura 3 mostra os espectros infravermelhos do Princípio Ativo e dos medicamentos referências no estados líquido e sólido para visualizar e comparar as possíveis diferenças estruturais.

No espectro infravermelho de PCT líquido, pode-se observar a redução de número de picos comparado aos de PCT sólido e ao seu princípio ativo. A forte presença de excipiente é demonstrada pelo pico indicado por numeração 12 na Figura 2.

A semelhança visual entre os espectros de princípio ativo e de referência dificulta a discriminação dos espectros, portanto, recorre-se à Análise Estatística Multivariada para verificar se existem diferenças significativas entre os espectros.

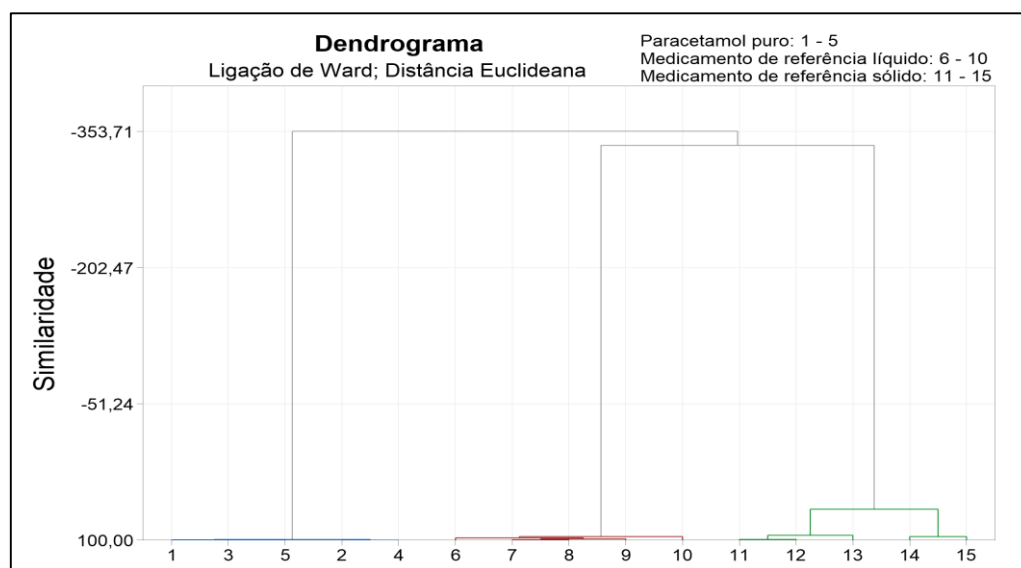
A Figura 4 mostra os resultados de Análise de Componentes Principais (PCA) juntamente com Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) apresentados no dendrograma, mostrando a completa discriminação dos espectros dos medicamentos analisados. Os resultados de HCA com os graus de similaridade entre os espectros são apresentados na Tabela 2.

Figura 3 - Espectro infravermelho médio do Paracetamol puro e dos medicamentos de referência, nas formas sólida e líquida.



Fonte: os autores

Figura 4 - Dendrograma da região 4000 a 450 cm^{-1} dos espectros do Paracetamol puro e do medicamento de referência, nas formas sólida e líquida.



Fonte: os autores

Tabela 2 - Valores de similaridade entre os espectros de Paracetamol de referência sólido e líquido e seu princípio ativos.

Amostra	Espectros	Similaridade (%)
Princípio Ativo sem excipientes	1 a 5	99,2
Paracetamol de referência líquido	6 a 10	95,9
Paracetamol de referência sólido	11 a 15	65,5

Fonte: os autores

Discussão

O espectro de PCT líquido comparado ao de PCT sólido apresenta o número reduzido de picos com presença da banda intensa de excipiente (n. 12) e de água (picos n. 1 e n. 4). As amostras no estado líquido apresentam, geralmente, a configuração de molécula isolada com menor efeito de interações intermoleculares. As influências das moléculas vizinhas produzem as alterações nas intensidades das bandas nos espectros infravermelhos como resultados das variações de polaridade das ligações químicas reduzindo muitas vezes o número de picos.

Observam-se as alterações nos contornos de bandas nas regiões de 3400 cm^{-1} e 1660 cm^{-1} nas amostras sólidas e líquidas.

A região de 3400 cm^{-1} representa sobreposição das vibrações dos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação O-H de água, do estiramento das ligações O-H e N-H presentes no PCT produzindo alargamento de bandas na amostra líquida.

A região de 1660 cm^{-1} representa sobreposição das vibrações do estiramento da ligação C=O presentes no PCT e da deformação angular da ligação O-H de água produzindo o alargamento de banda na amostra líquida.

Observa-se o efeito de ressonância na estrutura do PCT mostrada na Figura 1. Os números de onda 1658 e 1298 cm^{-1} atribuídos às ligações conjugadas C=O e C-N respectivamente, apresentam característica intermediária entre simples e dupla ligação pela alteração da constante de força de ligação pela ressonância.

Comparando os espectros do PCT sólido e princípio ativo observa-se uma semelhança visual significativa. No entanto, a separação dos dendrogramas em três clusters, comprovou estatisticamente que os espectros de PCT de referência sólido e líquido e princípio ativo são diferentes e não possuem praticamente similaridade entre si mostrado no dendrograma. Os resultados da Tabela 2 mostram que dentro de cada cluster, os espectros de PCT líquido e princípio ativo apresentam similaridades acima de 95% indicando a homogeneidade alta dos espectros. Os de PCT de referência sólido apresenta seu valor de 65,5% indicando menor valor de homogeneidade nos seus espectros.

Conclusão

O uso das técnicas de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) e de Análises Estatísticas Multivariadas com os métodos da Análise de Componentes Principais (PCA) e de Agrupamento Hierárquico (HCA) permitiu comparar os espectros infravermelhos do PCT de referência sólido e líquido e seu princípio ativo. Foram identificadas e caracterizadas as bandas do princípio ativo e excipientes e mostradas as diferenças nos espectros do PCT nos estados físicos diferentes: sólido e líquido.

Os espectros de PCT de referência sólido e de princípio ativo são semelhantes e não são visualmente diferentes, mas os resultados de PCA e HCA possibilitaram sua discriminação. Os graus de similaridade dos espectros permitiram a visualização da homogeneidade dos espectros que demonstrando sua utilidade no controle de qualidade desses produtos em aplicações industriais.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP pela aquisição de espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer por processo 2017/04013-0.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

BARBOSA, L. C. DE A. **Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos**. Ed. UFV, 2007.

BERTOLINI, A. et al. Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. **CNS Drug Reviews**, v. 12, n. 3–4, p. 250–275, 1 set. 2006.

BRASIL. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica**. Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. **Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2018**. Ministério da Saúde, 2018.

COSTA, O. V. **MULTIPLICIDADE ESTRUTURAL DO PARACETAMOL NO ESTADO SÓLIDO**. Dissertação—Goiania: Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 3 jul. 2009.

EVERITT, B. S. et al. **Cluster Analysis**. Wiley, 2011.

GONÇALVES JUNIOR, A. L. M. **Avaliação físico-química de comprimidos de paracetamol**. Trabalho de conclusão de curso— Centro Universitário Maria Milza, 28 set. 2023.

LYRA, L. F. **ANÁLISE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS QUE CONTENHAM PARACETAMOL POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR-UATR) ACOPLADA A ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica—São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 27 mar. 2024.

MÜHLBAUER, M. PARACETAMOL, UM AINE PARTICULAR. **Ciência Atual – Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário São José**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2016.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Cengage Learning, 2010.

SILVA, J. F. P. DA. **Avaliação da qualidade físico-química de medicamentos contendo paracetamol**. Trabalho de conclusão de curso—Brasília: Universidade de Brasília, 4 out. 2022.

SILVERSTEIN, R. M. et al. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. LTC, 2006.

SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy**. CRC press, 2011.

STUART, B. H. **Biological applications of infrared spectroscopy**. John Wiley & Sons, 1997.

TESCAROLLO, I. L. **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SOLUÇÕES ORAIS DE PARACETAMOL**. **Revista Ensaios Pioneiros**, v. 3, n. 1, p. 28–36, 25 mar. 2020.

WANG, I. C. et al. Polymorph transformation in paracetamol monitored by in-line NIR spectroscopy during a cooling crystallization process. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 2, p. 764–770, 2011.