

## Artigo

**Validação de Método Analítico para a Quantificação de Paracetamol em Solução Oral por Espectrofotometria no UV****Junior, E. J. A. G.; Roeder, J. S.; Oliveira, K. B. L.; Ferreira, M. P.; Silva, J. G. \****Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (4), 1747-1759. Data de publicação na Web: 26 de junho de 2017<http://rvq.sbq.org.br>**UV Spectrophotometry Analytical Method Validation for Quantification of Paracetamol in Oral Solution**

**Abstract:** In the present article it is described the validation of a simple, precise, accurate, rapid and low-cost UV spectrophotometric method for quantification of paracetamol in oral solution. The method was linear in the range between 6.4 – 9.6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , presenting a good correlation coefficient ( $r = 0.9988$ ) and adequate limits of quantification ( $2.22 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) and detection ( $0.67 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Precision and analysis showed low coefficient of variation ( $< 5.0\%$ ) and a good average recovery percentual (103.46% - reference and 102.76% - generic) was obtained. The method was applied for paracetamol determination in two oral solutions and these results are in good accordance with the declared values of manufacturer, at a 95% confidence level.

**Keywords:** Paracetamol; UV Spectrophotometry; Pharmaceutical formulations.

**Resumo**

O presente artigo descreve a validação de um método espectrofotométrico UV simples, preciso, rápido e de baixo custo para a quantificação de paracetamol em solução oral. O método foi linear na faixa de 6,4 - 9,6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , apresentando um bom coeficiente de correlação linear ( $r = 0,9988$ ) e limites de quantificação ( $2,22 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e detecção ( $0,67 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) satisfatórios. O estudo de precisão apresentou baixo coeficiente de variação ( $< 5,0\%$ ) e um bom percentual médio de recuperação (103,46% - referência e 102,76% - genérico) foi obtido. O método foi aplicado na quantificação do paracetamol em duas soluções orais e os resultados foram concordantes com os valores declarados pelos fabricantes, a um nível de confiança de 95%.

**Palavras-chave:** Paracetamol; Espectrofotometria no UV; formulações farmacêuticas.

\* Universidade Católica de Brasília, Curso de Química, QS 07 lote 01 EPCT, Águas Claras, CEP 71966-700, Taguatinga-DF, Brasil.

✉ [jonatasg@yahoo.com.br](mailto:jonatasg@yahoo.com.br)

DOI: [10.21577/1984-6835.20170101](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170101)

## Validação de Método Analítico para a Quantificação de Paracetamol em Solução Oral por Espectrofotometria no UV

Enock José A. G. Junior, Jakson S. Roeder, Kaiky B. L. Oliveira, Mateus P. Ferreira, Jonatas G. da Silva\*

Universidade Católica de Brasília, Curso de Química, QS 07 lote 01 EPCT, Águas Claras, CEP 71966-700, Taguatinga-DF, Brasil.

\* [jonatasg@yahoo.com.br](mailto:jonatasg@yahoo.com.br)

*Recebido em 9 de maio de 2017. Aceito para publicação em 21 de junho de 2017*

1. Introdução
2. Parte Experimental
3. Resultados e Discussão
4. Conclusão

### 1. Introdução

O paracetamol (PAR), também conhecido como acetaminofeno (Figura 1), é um fármaco amplamente utilizado, sem prescrição médica, como antipirético, analgésico e anti-inflamatório leve, como uma alternativa a Aspirina®, sendo um agente eficaz e empregado para reduzir a febre e aliviar a dores de cabeça, dente, lombar, musculares, artrite e pós-operatória. O uso controlado e limitado do PAR é seguro,

não apresentando efeito secundário prejudicial. No entanto, uma dose elevada ou o seu uso prolongado pode causar efeitos adversos para a saúde devido à acumulação de metabólitos tóxicos, podendo levar a hepatotoxicidade e nefrotoxicidade graves e às vezes fatais.<sup>1-3</sup> Portanto, é importante desenvolver e validar métodos analíticos simples, rápidos, sensíveis e precisos para a detecção e quantificação de PAR em formulações farmacêuticas, gerando assim resultados confiáveis no controle de qualidade na indústria farmacêutica.

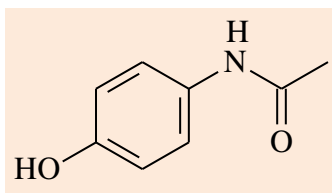


Figura 1. Estrutura química do paracetamol

São descritos na literatura, para a detecção e quantificação de PAR em formulações farmacêuticas, diferentes métodos analíticos como espectrofotométrico,<sup>4,5</sup> espectrofluorimétrico,<sup>6</sup> cromatográfico,<sup>7-9</sup> e voltamétrico.<sup>10,11</sup> Para o doseamento de PAR em formulações farmacêuticas a farmacopeia brasileira<sup>12</sup> descreve um método baseado em medidas espectrofotométricas como oficial. No método descrito pela farmacopeia brasileira, a quantificação do paracetamol em solução oral é realizada a partir dos valores das absorvâncias de uma única solução padrão (com concentração igual a da formulação farmacêutica) e da solução oral, empregando-se como solvente o metanol. Enquanto que no método proposto nesse artigo, a quantificação do paracetamol será por meio de uma curva analítica, empregando-se como solvente o etanol, podendo ser utilizado no controle de qualidade de indústrias farmacêuticas.

A espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) é amplamente aplicada na detecção e quantificação de fármacos em formulações farmacêuticas, sendo utilizada principalmente no controle de qualidade de indústrias farmacêuticas, pois cumpre requisitos essenciais para as análises de rotina como rapidez, baixo custo operacional e confiabilidade dos resultados.<sup>13,14</sup> São encontrados na literatura alguns exemplos do emprego da espectrofotometria na região do UV na quantificação de fármacos como carvedilol,<sup>13</sup> efavirenz,<sup>14</sup> sinvastatina,<sup>15</sup> aciclovir,<sup>16</sup> olanzapina<sup>17</sup> e fluoxetina<sup>18</sup> em formulações farmacêuticas.

A validação de métodos analíticos é necessária para gerar resultados confiáveis no contexto do controle de qualidade na indústria farmacêutica, pois deve-se assegurar, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para a validação do método analítico os seguintes parâmetros (figuras analíticas de mérito) devem ser avaliados: seletividade, linearidade, intervalo, precisão, limite de

detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez.<sup>19</sup>

Portanto, a validação de um método simples, preciso, rápido e de baixo custo, para a análise de rotina de PAR em formulações farmacêuticas, é importante devido à grande utilização desse fármaco e seus efeitos adversos para a saúde humana. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo validar um método empregando a espectrofotometria na região do UV para a detecção e quantificação de PAR em solução oral.

## 2. Parte Experimental

### Equipamentos

As medidas espectrofotométricas no UV foram realizadas em triplicata, utilizando-se o espectrofotômetro UV-Vis Cary 50 (Varian®) de duplo feixe, detector de 190 a 1100 nm, cubetas de quartzo de 1 cm e acoplado a um microcomputador. Todas as medidas de massa foram realizadas em balança analítica semi-micro ( $\sigma \leq 0,05$  mg) AUW220D (Shimadzu®).

### Reagentes, soluções e amostra

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas em água ultrapura (Direct-Q® 8 UV Smart, Millipore, 18,2  $\Omega$ ). O padrão de PAR 98-101% foi adquirido da sigma-aldrich (USA) e utilizado sem purificação adicional. A solução estoque de PAR 1 mg mL<sup>-1</sup> foi preparada dissolvendo-se 10 mg de PAR, em água ultrapura, em balão volumétrico de 10 mL. O ácido clorídrico (HCl) 37% e o etanol absoluto 99,8% foram adquiridos da Vetec (Brasil). A solução de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> foi preparada por diluição em água ultrapura. A solução oral contendo PAR foi adquirida em comércio local.

### Validação do método analítico

O método proposto foi validado conforme a resolução RE nº 899 de 29/05/2003 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária),<sup>19</sup> que regulamenta a validação de métodos analíticos e bioanalíticos no Brasil, e recomendações da ICH (*The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*).<sup>20</sup> As figuras analíticas de mérito avaliadas foram: seletividade; linearidade; intervalo, precisão, limite de detecção; limite de quantificação; exatidão; e robustez. O método foi comparado estatisticamente com o valor descrito no rótulo da solução oral contendo paracetamol.

#### Seletividade

A seletividade do método foi avaliada por meio de análises dos espectros UV obtidos para o PAR e os excipientes ácido cítrico, benzoato de sódio, ciclamato de sódio, macrogol, metabissulfato de sódio e sacarina

sódica. As soluções estoque de 1 mg mL<sup>-1</sup> para os excipientes foram preparadas dissolvendo-se 10 mg em água ultrapura ou etanol, em balão volumétrico de 10 mL. As medidas espectrofotométricas foram realizadas nas soluções dos excipientes 8 µg mL<sup>-1</sup> e de duas misturas (1 – PAR 8 µg mL<sup>-1</sup> + excipientes 8 µg mL<sup>-1</sup>; 2 – PAR 8 µg mL<sup>-1</sup> + excipientes 0,8 µg mL<sup>-1</sup>), preparadas por diluição das soluções estoque em etanol mais 100 µL de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, em balão volumétrico de 10 mL. O perfil dos espectros obtidos foram avaliados e comparados com o espectro de uma solução de PAR 8 µg mL<sup>-1</sup>.

#### Linearidade e intervalo

A linearidade foi determinada por meio da obtenção de três curvas analíticas no intervalo de PAR de 6,4 a 9,60 µg mL<sup>-1</sup> (de 80 – 120% da concentração teórica do teste).<sup>19</sup> A equação da reta (inclinação e intercepto com o eixo y) foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e calculou-se o coeficiente de correlação linear. Os dados de cada nível de concentração foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tabela de análise de variância para o ajuste de um modelo pelo método dos mínimos quadrados<sup>21</sup>

Fonte	SQ	GL	MQ	F <sub>calculado</sub>
Modelo	$SQ_{reg} = \sum n_i [(y_e)_i - y_m]^2$	p-1	$MQ_{reg} = SQ_{reg}/(p-1)$	$MQ_{reg}/MQ_r$
Residual	$SQ_r = \sum \sum [y_{ij} - (y_e)_i]^2$	n-p	$MQ_r = SQ_r/(n-p)$	
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum n_i [(y_e)_i - y_{im}]^2$	m-p	$MQ_{faj} = SQ_{faj}/(m-p)$	$MQ_{faj}/MQ_{ep}$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum \sum [y_{ij} - y_{im}]^2$	n-m	$MQ_{ep} = SQ_{ep}/(n-m)$	
Total	$SQ_t = \sum \sum [y_{ij} - y_m]^2$	n-1	$MQ_t = SQ_t/(n-1)$	

SQ = Soma Quadrática; GL = Graus de Liberdade; MQ = Média Quadrática; n<sub>i</sub> = número de repetições do nível i; m = número de níveis distintos da variável x; n = Σn<sub>i</sub> = número total de medidas; p = número de parâmetros do modelo. O índice i indica o nível da variável x; o índice j refere-se às medidas repetidas da variável y em um dado nível de x. O segundo somatório das expressões para SQ<sub>r</sub>, SQ<sub>ep</sub> e SQ<sub>t</sub> vai de j = 1 até j = n<sub>i</sub>. Os outros somatórios vão de i = 1 até i = m. y<sub>m</sub> é a média de todos os valores de y; y<sub>im</sub> é a média das determinações repetidas no nível i.

### Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir do desvio padrão do intercepto com o eixo y (DP<sub>a</sub>) e da inclinação da curva analítica (IC), Equações 1 e 2.<sup>19</sup>

$$LD = \frac{DP_a \times 3}{IC} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{DP_a \times 10}{IC} \quad (2)$$

O desvio padrão do intercepto com o eixo y foi calculado pelas seguintes Equações:<sup>22</sup>

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}} \quad (3)$$

$$DP_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (4)$$

### Precisão

A repetitividade (precisão intradia) foi avaliada por meio de medidas espectrofotométricas de soluções contendo PAR em três níveis de concentração diferentes (6,4; 8,0; e 9,6 µg mL<sup>-1</sup>), contemplando o intervalo linear do método, e com três réplicas cada. A precisão intermediária (precisão interdia) foi avaliada de forma semelhante à repetitividade, no entanto, as medições espectrofotométricas foram realizadas em dois dias com analistas diferentes. Calculou-se o coeficiente de variação (CV), por meio da Equação 5, e os resultados obtidos foram comparados com o valor máximo aceitável descrito no Guia para

Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (Resolução no 899, de 29/05, 2003 da ANVISA).<sup>19</sup>

$$CV = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (5)$$

Onde: CV é o coeficiente de variação; DP é o desvio padrão das medidas espectrofotométricas; e CMD é a concentração média de PAR determinada.

### Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio do teste de adição de padrão de PAR, nas amostras de formulações farmacêuticas (referência e genérico), e sua recuperação em três níveis diferentes. Os valores de recuperação, expressos em porcentagem, foram obtidos por meio das medidas espectrofotométricas das soluções finais em função da quantidade teórica de padrão adicionado. As concentrações de PAR foram determinadas por meio da curva analítica obtida pela adição de padrão.

### Robustez

A robustez foi avaliada por meio das medições espectrofotométricas, variando-se a marca do etanol (Vetec, Reagen e Dinâmica) e a temperatura da sala de análise (27 e 24 °C). As análises foram realizadas em triplicata e as concentrações de PAR foram obtidas por meio da curva analítica.

### Quantificação de PAR em solução oral utilizando-se o método espectrofotométrico proposto

Transferiu-se 1,0 mL da solução oral para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com etanol. Em seguida,

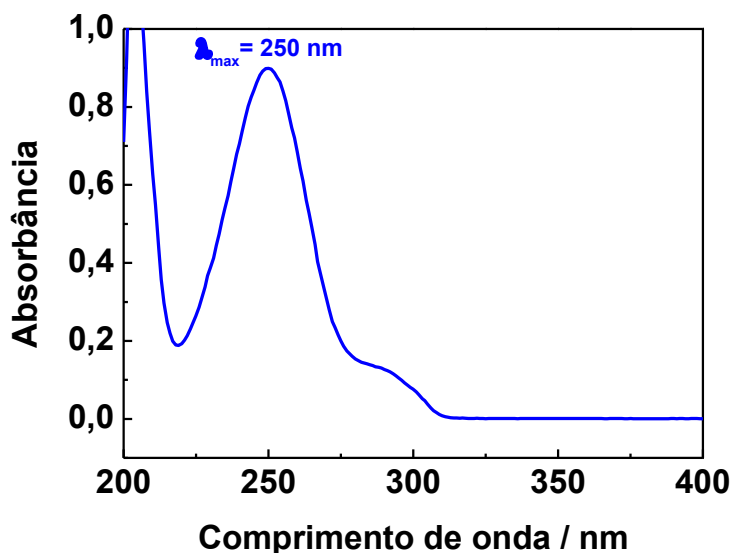
transferiu-se 0,5 mL da solução resultante para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com etanol. Após a segunda diluição, transferiu-se 80  $\mu\text{L}$  da solução resultante para balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de ácido clorídrico 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , o volume foi completado com etanol. As análises foram realizadas em triplicata e as concentrações de PAR foram obtidas por meio da curva analítica.

#### Análises estatísticas

A análise estatística dos dados foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA fator único), testes t e f com nível de confiança de 95% (probabilidade inferior a 5% -  $p < 0,05$ ). A avaliação estatística dos resultados foi realizada por meio do Software MS Excel®.

### 3. Resultados e Discussão

Inicialmente determinou-se o comprimento de onda no máximo de absorção ( $\lambda_{\text{max}}$ ) para realizar os ensaios de validação e a quantificação de PAR em solução oral. Analisando o espectro UV (200-400 nm) da Figura 2, obtido a partir de uma solução de PAR 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em solução etanólica de ácido clorídrico (descrita no método indicado pela Farmacopeia Brasileira<sup>12</sup>), observou-se uma banda com absorção máxima em 250 nm. Portanto, para o desenvolvimento do método analítico, optou-se realizar as medidas espectrofotométricas na região do UV no comprimento de onda no máximo de absorção do PAR.



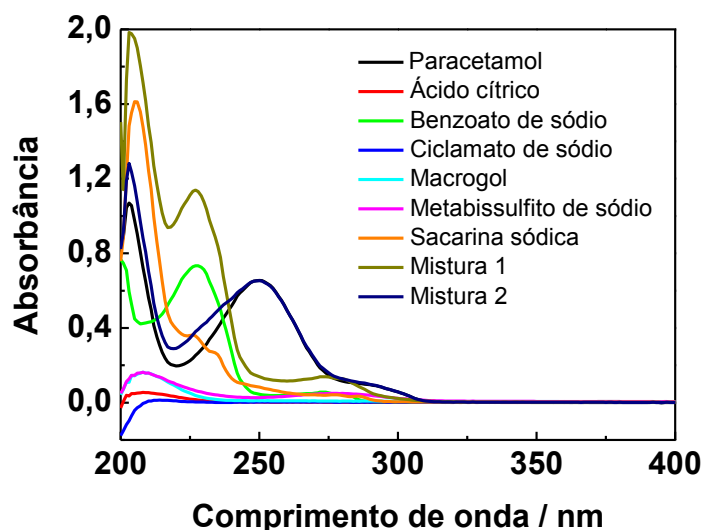
**Figura 2.** Espectro de absorção no UV do paracetamol em solução etanólica de ácido clorídrico

Para a validação do método analítico, visando à quantificação de PAR em formulações farmacêuticas, foi realizado o estudo de seletividade por meio de análises dos espectros UV (Figura 3) obtidos para o PAR e os excipientes presentes na solução

oral (ácido cítrico, benzoato de sódio, ciclamato de sódio, macrogol, metabissulfato de sódio e sacarina sódica). Observou-se nos espectros UV que entre os excipientes analisados apenas o benzoato de sódio e a sacarina sódica apresentaram bandas de

absorção na faixa de comprimento de onda estudada, tornando-se essas espécies químicas em potenciais interferentes na quantificação do PAR em solução oral. O espectro UV para a Mistura 1 (PAR  $8 \mu\text{g mL}^{-1}$  + excipientes  $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) confirma uma interferência na banda de absorção do PAR, no entanto, com base no espectro UV obtido

para a Mistura 2 (PAR  $8 \mu\text{g mL}^{-1}$  + excipientes  $0,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) acredita-se que em baixas concentrações (concentração de excipientes dez vezes menor que a do PAR) o benzoato de sódio e sacarina sódica não são potenciais interferentes na análise da solução oral contendo o PAR.



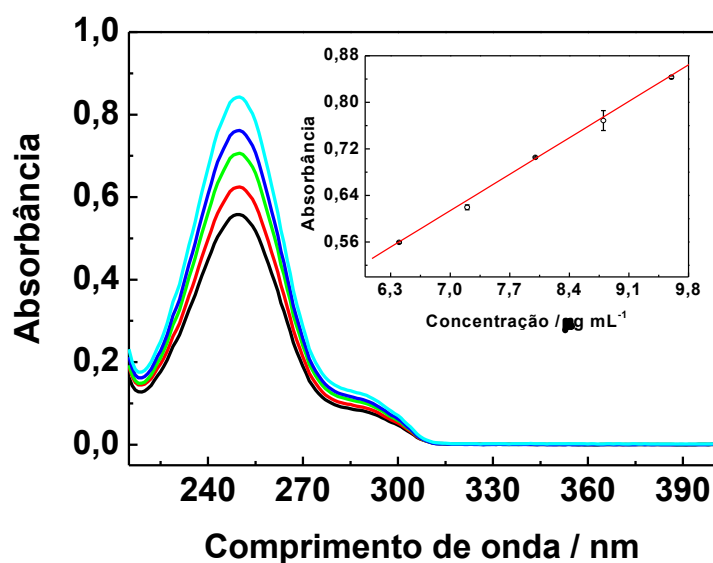
**Figura 3.** Espectros de absorção no UV do paracetamol e dos excipientes em solução etanólica de ácido clorídrico

Confirmada a seletividade do método, foram obtidos os espectros de absorção no UV para PAR, com a concentração variando de  $6,4$  a  $9,6 \mu\text{g mL}^{-1}$  (de 80 – 120% da concentração teórica do teste), em solução etanólica de ácido clorídrico (Figura 4).

A curva analítica, obtida por meio do método dos mínimos quadrados, apresentou a equação  $y = 0,0896x + 0,0177$  e um coeficiente de correlação de 0,9988, indicando a linearidade do método dentro dos limites de concentrações estudadas, além de estar de acordo com o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação ( $r = 0,99$ ) descrito no Guia para Validação de Métodos Analíticos e

Bioanalíticos (Resolução no 899, de 29/05, 2003 da ANVISA).<sup>19</sup> Por meio da análise de variância, testou-se a significância estatística da curva ajustada e a linearidade do método (Tabela 2). No teste do ajuste da curva obteve-se um valor de  $f_{\text{calculado}}$  (1,822) menor que o  $f_{\text{tabelado}}$  (3,710), comprovando-se que não houve falta de ajuste na faixa de concentração estudada, a um nível de confiança de 95%. Em seguida, a validade da regressão (linearidade) foi analisada por meio da comparação dos valores de  $f$  tabelado e calculado. O valor de  $f_{\text{calculado}}$  (2025,9) muito maior que o  $f_{\text{tabelado}}$  (4,670) indica que o método é linear, a um nível de confiança de 95%.





**Figura 4.** Espectros de absorção no UV obtidos para o paracetamol em solução etanólica de ácido clorídrico variando a concentração de 6,4 a 9,6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Inserido: Curva analítica

**Tabela 2.** Tabela de análise de variância para o ajuste do modelo pelo método dos mínimos quadrados da curva analítica obtida

Fonte	SQ	GL	MQ	$f_{\text{calculado}}$	$f_{\text{tabelado}}$
Modelo	0,154140867	1	0,154140867	2025,9	4,670
Residual	0,000989101	13	$7,608472 \times 10^{-5}$	Curva linear	
Falta de ajuste	0,000349593	3	$1,165308 \times 10^{-4}$	1,822	3,710
Erro puro	0,000639509	10	$6,395088 \times 10^{-5}$	Não há falta de ajuste	
Total	0,155065805	14	0,011076129		

SQ = Soma Quadrática; GL = Graus de Liberdade; MQ = Média Quadrática.

A partir da curva analítica foram calculados os limites de detecção de  $0,67 \mu\text{g mL}^{-1}$  e de quantificação de  $2,22 \mu\text{g mL}^{-1}$ , assegurando-se que o método proposto pode detectar e quantificar concentrações baixas com segurança, podendo ser aplicado na detecção e quantificação de PAR em solução oral.

A repetitividade e a precisão intermediária foram avaliadas por meio de medidas espectrofotométricas de soluções contendo

PAR, em três níveis de concentração diferentes, em dois dias e com analistas diferentes. Os resultados obtidos (Tabela 3) para a repetitividade e precisão intermediária, demonstram que o método proposto apresenta boa precisão com valores de CV dentro do critério de aceitação (< 5%) estabelecido no Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (Resolução no 899, de 29/05, 2003 da ANVISA).<sup>19</sup>



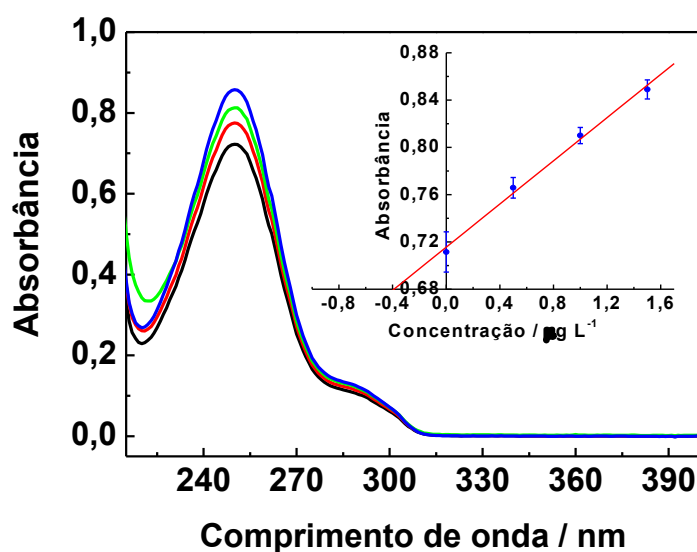
**Tabela 3.** Resultados de repetitividade e de precisão intermediária obtidos por meio de medidas espectrofotométricas no UV de soluções contendo PAR em três níveis de concentração diferentes (6,4; 8,0; e 9,6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )

Dia	Analista	Concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CV (%) <sup>*</sup>	CV (%) <sup>**</sup>
1	1	6,4	1,27	-
		8,0	1,44	-
		9,6	1,65	-
2	2	6,4	0,93	1,38
		8,0	1,60	1,61
		9,6	1,76	4,34

CV = Coeficiente de variação; \*repetitividade (n = 3); \*\*precisão intermediária (n = 6).

Após a determinação da precisão foram realizados ensaios para a determinação da exatidão, por meio do teste de adição de padrão de PAR (Figura 5), obtendo-se

recuperações, para três níveis diferentes de PAR (0,5; 1,0; e 1,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) nas soluções orais de referência e genérica.



**Figura 5.** Espectros de absorção no UV obtidos para a amostra de solução oral com adições sucessivas das solução padrão de paracetamol em solução etanólica de ácido clorídrico.

Inserido: Curva de adição de padrão

As recuperações médias para três níveis diferentes de PAR (Tabela 4) nas soluções orais de referência e genérica são iguais a  $103,45\% \pm 6,05$  e  $102,76\% \pm 14,91$ , respectivamente. Os valores de  $t_{\text{calculado}}$  (0,987 – referência; 0,320 - genérico) são menores que o  $t_{\text{tabelado}}$  (4,303), indicando que os

valores de recuperação médios encontrados são estatisticamente iguais a 100%, a um nível de confiança de 95%, confirmando que não há interferência significativa da matriz (excipientes) nas amostras de soluções orais analisadas (referência e genérico) e que o método proposto apresenta boa exatidão.

**Tabela 4.** Resultados de recuperação obtidos por meio do teste de adição de padrão e de medidas espectrofotométricas no UV de soluções contendo PAR em três níveis de concentração diferentes (0,5; 1,0; e 1,5 µg mL<sup>-1</sup>)

Solução oral	Concentração (µg mL <sup>-1</sup> )	Recuperação média ± DP (%)
Referência	0,5	109,55 ± 10,07
	1,0	103,34 ± 4,46
	1,5	97,45 ± 1,72
	Média ± DP	103,45 ± 6,05
Genérico	0,5	119,97 ± 7,05
	1,0	94,59 ± 6,57
	1,5	93,71 ± 6,75
	Média ± DP	102,76 ± 14,91

n = 3; DP = Desvio padrão.

Visando a avaliação da robustez, capacidade do método proposto em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos, verificou-se o comportamento dos resultados em relação a duas variáveis:

marca do etanol absoluto e a temperatura do laboratório onde as medidas espectrofotométricas foram realizadas. Os resultados experimentais obtidos para a robustez são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Resultados relativos à robustez do método espectrofotométrico no UV proposto

Parâmetros variados		Concentração média (µg mL <sup>-1</sup> )	DP	CV (%)	
Marca do etanol absoluto	Dinâmica	7,68	0,01	0,19	ANOVA f <sub>calculado</sub> = 39,5; f <sub>tabelado</sub> = 5,14
	Reagen	7,18	0,10	1,47	
	Vetec	7,37	0,05	0,76	
Temperatura	24°C	7,37	0,12	1,71	f <sub>calculado</sub> = 5,76; f <sub>tabelado</sub> = 19,0 t <sub>calculado</sub> = 0,001; t <sub>tabelado</sub> = 4,303
	27°C	7,37	0,05	0,76	

n = 3; DP = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação.

A análise estatística dos dados obtidos, variando a marca do solvente, realizada por meio da ANOVA, demonstrou que ocorre uma influência significativa nos resultados, a um nível de confiança de 95%, portanto o método proposto não foi robusto nesse

parâmetro avaliado. No entanto, essa variação não afeta nos resultados das análises em soluções orais e segundo a orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008, 5a revisão, INMETRO)<sup>23</sup> a robustez é um parâmetro

opcional dentro dos estudos de validação. O teste  $f$  foi aplicado para comparar as precisões obtidas, empregando-se o método espectrofotométrico proposto em duas temperaturas diferentes do local da análise, resultando em um valor de  $f_{\text{calculado}}$  menor que o valor de  $f_{\text{tabelado}}$  para as temperaturas 24 °C e 27 °C, indicando que não existe diferença significativa entre as precisões das duas análises, a um nível de confiança de 95%, possibilitando a aplicação do teste  $t$ . O

valor de  $t_{\text{calculado}}$  é menor que o  $t_{\text{tabelado}}$ , indicando que não existem diferenças significativas, a um nível de confiança de 95%, entre as médias dos resultados obtidos nas duas temperaturas (24 °C e 27 °C) estudadas.

A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos na quantificação de PAR nas soluções orais empregando-se o método espectrofotométrico no UV.

**Tabela 6.** Resultados obtidos nas análises de PAR em soluções orais empregando-se o método espectrofotométrico no UV proposto

Solução oral	PAR (mg mL <sup>-1</sup> )		
	Rótulo	Método espectrofotométrico	Erro relativo (%)
Referência	200	201 ± 5	0,50
Genérico	200	199 ± 3	-0,50

$n = 3$ ; Erro relativo = [(Método espectrofotométrico – valor no rótulo)/ valor no rótulo] x 100.

O teste  $t$  foi aplicado para comparar as médias obtidas, empregando-se o método espectrofotométrico, com os valores descritos nos rótulos das soluções orais analisadas. Os valores de  $t_{\text{calculado}}$  (0,3464 – referência; 0,5773 - genérico) são menores que o  $t_{\text{tabelado}}$  (4,303), indicando que os valores das médias obtidas por esse método são estatisticamente iguais a 200 mg mL<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), demonstrando que o método proposto é uma excelente alternativa na quantificação de PAR, em solução oral, nas análises de rotina de controle de qualidade de formulações farmacêuticas.

São descritos na literatura dois métodos para a quantificação de paracetamol, em solução oral, utilizando a análise em fluxo com determinação espectrofotométrica<sup>24</sup> e a espectroscopia Raman dispersiva,<sup>25</sup> visando a utilização em análises de rotina de controle de qualidade. No entanto, o método proposto nesse artigo apresentou algumas vantagens em relação aos métodos descritos anteriormente a os cromatográficos, como por exemplo o baixo custo, a simplicidade e a rapidez. É importante ressaltar que existem outros métodos descritos na literatura<sup>4-11</sup>

para a quantificação de paracetamol em formulações farmacêuticas, porém na forma de comprimidos.

#### 4. Conclusão

O método espectrofotométrico na região do UV proposto, validado de acordo com a Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (Resolução no 899, de 29/05, 2003 da ANVISA),<sup>19</sup> apresentou a confiabilidade requerida permitindo o seu emprego na quantificação de PAR em solução oral, em análises de rotina de controle de qualidade, pois é um método simples, rápido, seguro e de baixo custo em comparação com as técnicas cromatográficas.

#### Agradecimentos

Ao apoio financeiro da Universidade Católica de Brasília (UCB).

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Zhu, W.; Huang, H.; Gao, X.; Ma, H. Electrochemical behavior and voltammetric determination of acetaminophen based on glassy carbon electrodes modified with poly(4-aminobenzoic acid)/electrochemically reduced graphene oxide composite films. *Materials Science and Engineering C* **2014**, *45*, 21. [CrossRef]
- <sup>2</sup> Devaraj, M.; Deivasigamani, R. K.; Jayadevan, S. Controlled growth and molecular self-assembly of Au nanoparticles to Au nanochains: application towards enhancement for the electrochemical determination of paracetamol. *Analytical Methods* **2013**, *5*, 3503. [CrossRef]
- <sup>3</sup> Devkar, S. T.; Kandhare, A. D.; Zanzwar, A. A.; Jagtap, S. D.; Katyare, S. S.; Bodhankar, S. L.; Hegde, M. V. Hepatoprotective effect of withanolide-rich fraction in acetaminophen-intoxicated rat: decisive role of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , COX-II and iNOS. *Pharmaceutical Biology* **2016**, *54*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>4</sup> Pandya, E. J.; Kapupara, P.; Shah, K. V. Development and validation of simultaneous estimation of diclofenac potassium, Paracetamol and serratiopeptidase by first order derivative UV spectroscopy method in pharmaceutical formulation. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2014**, *6*, 912. [Link]
- <sup>5</sup> Khanage, S. G.; Mohite, P. B.; Jadhav, S. Development and validation of UV-visible spectrophotometric method for simultaneous determination of eperisone and paracetamol in solid dosage form. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* **2013**, *3*, 447. [CrossRef]
- <sup>6</sup> Moreira, A. B.; Dias, I. L. T.; Neto, G. O.; Zagatto, E. A. G.; Kubota, L. T. Simultaneous spectrofluorimetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical preparations in solid-phase using partial least squares multivariate calibration. *Analytical Letters* **2006**, *39*, 349. [CrossRef]
- <sup>7</sup> Dewani, A. P.; Bakal, R. L.; Shelke, P. G.; Chandak, M.; Patra, S.; Farooqui, S.; Chandewar, A. V. An gradient HPLC-DAD determination of phenylephrine, paracetamol, ambroxol and levocetirizine in pharmaceutical formulation. *Indian Journal of Chemical Technology* **2016**, *23*, 419. [Link]
- <sup>8</sup> Topkafa, M.; Ayyildiz, H. F.; Memon, F. N.; Kara, H. New potential humic acid stationary phase toward drug components: Development of a chemometric-assisted RP-HPLC method for the determination of paracetamol and caffeine in tablet formulations. *Journal of Separation Science* **2016**, *39*, 2451. [CrossRef]
- <sup>9</sup> Clausen, D. N.; Oliveira, F. M.; Casarin, J.; Sartori, E. R.; Tarley, C. R. T. Development of HPLC method for quantification of orphenadrine, paracetamol, and caffeine in pharmaceutical formulations. *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 2066. [CrossRef]
- <sup>10</sup> Sipa, K.; Socha, E.; Skrzypek, S.; Krzyczmonik, P. Electrodes modified with composite layers based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) as sensors for paracetamol. *Analytical Sciences* **2017**, *33*, 287. [CrossRef]
- <sup>11</sup> Kalambate, P. K.; Srivastava, A. K. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol, cetirizine and phenylephrine using a multiwalled carbon nanotube-platinum nanoparticles nanocomposite modified carbon paste electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2016**, *233*, 237. [CrossRef]
- <sup>12</sup> Farmacopeia Brasileira, Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Brasília, 2010, p. 863. [Link]
- <sup>13</sup> Borba, P. A. A.; Riekens, M. K.; Pereira, R. N.; Stulzer, H. K.; Dalla Vecchia, D. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. *Química Nova* **2013**, *36*, 582. [Link]
- <sup>14</sup> Alves, L. D. S.; Rolim, L. A.; Fontes, D. A. F.; Rolim-Neto, P. J.; Soares, M. F. de L. R.; Sobrinho, J. L. S. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do Efavirenz por espectrofotometria no UV-VIS. *Química Nova* **2010**, *33*, 1967. [CrossRef]
- <sup>15</sup> Polonini, H. C.; dos Santos, F. C.; Vaz, U. P.; Brandão, M. A. F.; Raposo, N. R. B. Desenvolvimento e validação de método

analítico para determinação do teor de sinvastatina em cápsulas magistrais. *Química Nova* **2011**, *34*, 516. [[CrossRef](#)]

<sup>16</sup> Barboza, F. M.; Dalla Vecchia, D.; Pereira, A. V.; Stulzer, H. K.; Silva, M. A. S. Desenvolvimento e validação de um método analítico simples e rápido por espectroscopia UV para quantificação de aciclovir em matrizes hidrofílicas de liberação prolongada. *Química Nova* **2010**, *33*, 747. [[CrossRef](#)]

<sup>17</sup> do Rêgo, J. F.; de Moura, J. I.; Moita, G. C. Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. *Química Nova* **2010**, *33*, 471. [[CrossRef](#)]

<sup>18</sup> de Moura, J. I.; Moita, G. C. Determinação simultânea de olanzapina e cloridrato de fluoxetina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria derivativa. *Química Nova* **2012**, *35*, 627. [[CrossRef](#)]

<sup>19</sup> Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Resolução RE nº 899*, de 29/05/2003. [[Link](#)]

<sup>20</sup> ICH - The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human

Use; *Q 2B- validation of Analytical procedure: methodology*, 1996. [[Link](#)]

<sup>21</sup> Pimentel, M. F.; Neto, B. B. Calibração: Uma Revisão para Químicos Analíticos. *Química Nova* **1996**, *3*, 268. [[Link](#)]

<sup>22</sup> Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D.; Thomas, M. J. K.; *Análise Química Quantitativa*, 6a ed., LTC: Rio de Janeiro, 2002.

<sup>23</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos, DOQ-CGCRE-008, 5ª revisão, 2016. [[Link](#)]

<sup>24</sup> Knochen, M.; Giglio, J.; Reis, B. F. Flow-injection spectrophotometric determination of paracetamol in tablets and oral solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2003**, *33*, 191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

<sup>25</sup> Borio, V. G.; Vinha Jr., R.; Nicolau, R. A.; de Oliveira, H. P. M.; de Lima, C. J.; Silveira Jr., L. Quantitative Evaluation of Acetaminophen in Oral Solutions by Dispersive Raman Spectroscopy for Quality Control. *Spectroscopy: An International Journal* **2012**, *27*, 215. [[CrossRef](#)]