

Otimização e validação de metodologia para separação de paracetamol, cafeína e ácido acetilsalicílico em fármacos por CLAE.

Gisele A. B. Canuto*¹ (PG), Daniel R. Oliveira¹ (TC), Marina F. M. Tavares¹ (PQ). *gicanuto@usp.br

¹Instituto de Química – Universidade de São Paulo – São Paulo.

Palavras Chave: HPLC-DAD, paracetamol, cafeína, ácido acetilsalicílico, analgésicos.

Introdução

Analgésicos como o ácido acetilsalicílico (AAS) e o paracetamol são largamente utilizados em produtos farmacêuticos. Associados à cafeína, suas ações são potencializadas¹. Indústrias farmacêuticas buscam constantemente métodos analíticos simples e rápidos para identificação e quantificação de substâncias químicas presentes em suas formulações. A análise rotineira de medicamentos para identificação de impurezas e produtos de degradação se faz necessária para garantir a confiabilidade do produto². Sendo assim, este trabalho tem como objetivo otimizar e validar um método de separação de paracetamol, cafeína e ácido acetilsalicílico em medicamentos, através da utilização de CLAE.

Resultados e Discussão

Foi utilizado na otimização e validação do método um cromatógrafo à líquido com detector de arranjo de diodos. O uso do DAD permitiu uma análise simultânea em uma grande faixa de λ , possibilitando a escolha do ótimo para esta análise (235 nm). A separação da cafeína, do paracetamol e do AAS utilizou como fase móvel metanol e água ultrapura com H₃PO₄ (pH 2,5) na proporção de 55:45 v/v, respectivamente. A coluna cromatográfica C18 (4,6mm x 25cm x 5 μ m), foi mantida à temperatura ambiente com vazão de 1,0 mL/min. Na separação, utilizou-se como padrão interno a piridoxina (vitamina B6), para diminuição de erros nas medidas e maior confiabilidade do método. O cromatograma da separação otimizada pode ser observado na Figura 1.

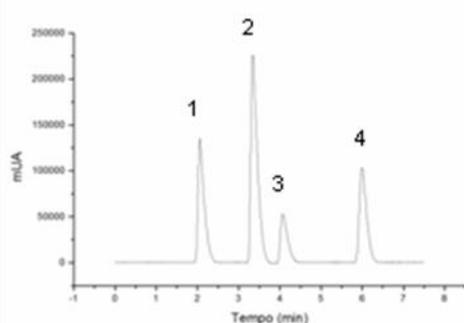


Figura 1. Cromatograma da separação de: piridoxina (1), paracetamol (2), cafeína (3) e AAS (4), sob condições apresentadas acima.

Para validação do método foram estudados os parâmetros de linearidade, repetibilidade, robustez e recuperação, seguindo as normas da ANVISA³.

O método mostrou-se linear (com $R^2 > 0,99$) na faixa de 10-110 $\mu\text{g.L}^{-1}$, com medidas de seis concentrações em triplicata. Boa linearidade também foi verificada com curva de adição de padrão ($R^2 > 0,99$), realizando-se adição de 0-25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, seis concentrações em triplicata em dois fármacos. A repetibilidade, baseada nos desvios-padrão relativo às áreas de cada composto, representada por CV (%) foi 1,45; 1,33 e 0,99 % para o paracetamol, cafeína e AAS, respectivamente. A robustez foi determinada pela resolução dos pares críticos (paracetamol e cafeína), onde foram variados: pH da fase aquosa (2,0 ou 3,0), % da fase orgânica (52 ou 58 %) e temperatura (23,5 ou 26,5 °C), aplicando-se um fatorial de 2³. As resoluções ficaram entre 1,27-1,71.

A recuperação foi medida adicionando-se 80, 100 e 120% da quantidade dos compostos analisados, presentes em dois analgésicos obtidos em mercado local. Os resultados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Recuperação (em %) de paracetamol, cafeína e AAS adicionados a medicamentos A e B.

	% Adicionada	Paracetamol	Cafeína	AAS
A	80	98,81±4,41	97,83±3,35	95,42±5,34
	100	96,87±0,73	104,95±4,32	97,48±4,70
	120	96,30±1,93	98,36±3,48	91,78±2,71
B	80	99,92±0,61	105,15±6,43	não contém
	100	98,01±1,34	99,41±3,65	não contém
	120	96,27±2,97	104,30±4,71	não contém

Conclusões

O método apresentado mostrou-se rápido, eficiente, reprodutível e com valores de recuperação dentro da faixa aceitável (95-105%) para fármacos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e Fapesp pelo apoio financeiro.

¹ Alves, J. L. C. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Estadual de Campinas. 2009.

² Cope, M. J.; Davidson, I. E. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 1986, 19, 763.

³ Anvisa. RE 899. Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, 2003a.