



RESUMO DA PESQUISA

TÍTULO: Determinação simultânea de Paracetamol, Cafeína e Diclofenaco em medicamentos comerciais através de análise de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e Calibração Multivariada.

OBJETIVOS

O objetivo da pesquisa foi realizar a determinação de paracetamol, cafeína e diclofenaco em medicamentos comerciais, utilizando reflectância difusa na região do infravermelho próximo (NIR) e calibração multivariada (PLS), além de discutir métodos alternativos de análise multivariada que também poderiam ser aplicados nos dados coletados.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparo das amostras

Para a realização dos experimentos foi necessário preparar um conjunto de amostras de calibração, validação e de diversos medicamentos comerciais. Porém, antes de se iniciar esta etapa preparou-se 200 g de placebo com a seguinte composição: 40% de celulose, 30% de lactose, 20% de amido e 10% de povidona. O conjunto de amostras de calibração foi preparado a partir de misturas entre placebo e o fármaco de interesse, com a composição do fármaco variando de 0 a 100% m/m e a de placebo de 100 a 0% m/m, respectivamente. Com isso, obteve-se 33 amostras de calibração, que foram divididas em três subconjuntos de 11 amostras de acordo com o fármaco utilizado no preparo. Cada amostra desse conjunto apresentava cerca de 2 g de massa.

Foram preparadas ao todo quinze amostras de validação a partir da mistura entre os fármacos e placebo. As composições dessas misturas foram pré determinadas baseando-se nas concentrações dos componentes presentes nos medicamentos (valores retirados das bulas). As composições estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Composições das amostras de validação.

Amostra	Massas pré estabelecidas dos fármacos e placebo (g)				Massa total (g)
	Paracetamol	Diclofenaco	Cafeína	Placebo	
1	0,40	0,80	0,80	-	2,00
2	-	0,80	0,80	0,40	2,00
3	0,60	-	-	1,40	2,00
4	-	0,80	-	1,20	2,00
5	0,93	-	0,38	0,68	2,00
6	0,38	0,56	0,36	0,70	2,00
7	1,90	-	-	0,10	2,00
8	-	0,40	0,80	0,80	2,00
9	1,20	-	0,80	-	2,00
10	-	0,30	0,30	1,40	2,00
11	1,33	0,19	0,19	0,30	2,00
12	0,93	0,38	-	0,68	2,00
13	0,78	0,36	0,56	0,30	2,00
14	-	-	0,80	1,20	2,00
15	1,20	0,80	-	-	2,00

Por fim, para a realização dos experimentos foram escolhidos quinze medicamentos comerciais, dos quais foram preparadas amostras a partir do pó fino obtido através de trituração e peneiração dos comprimidos.

Obtenção dos espectros NIR e pré-processamento

Com o fim da etapa de preparo de amostras, as mesmas foram analisadas no espectrofotômetro NIR, em triplicata, e os espectros obtidos foram tratados no software Matlab. No Matlab os espectros, primeiramente, foram transformados para absorbância, uma vez que os mesmos foram obtidos em porcentagem de transmitância, através da relação: $A = \frac{(-\log R)}{100}$. Em seguida, os dados espectrais foram pré-processados através dos procedimentos da primeira e segunda derivada que, por sua vez, corrigiram o deslocamento e a inclinação da linha de base dos espectros, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este trabalho foi motivado por resultados anteriores obtidos pelo nosso grupo de pesquisa para a quantificação destes três fármacos em medicamentos comerciais por espectroscopia no Ultravioleta-visível (UV-Vis) [1]. Foi proposta uma simplificação da calibração multivariada empregando curvas contendo cada um dos fármacos com a posterior organização de todas elas em uma matriz maior (o que é chamado de 'matriz aumentada'), ao invés do preparo de misturas dos três fármacos para a calibração. Isto simplificaria muito a etapa de calibração e atualizações de modelos. No trabalho

empregando espectroscopia UV-vis, a validação deste procedimento com misturas mostrou que a estratégia era válida devido à aditividade da Lei de Beer e ausência de interações entre os componentes de mistura. No presente trabalho, o objetivo foi de avaliar se a espectroscopia NIR forneceria os mesmos resultados, com a vantagem de não necessitar solventes para o preparo da amostra.

Os espectros originais (antes do pré-processamento) das amostras de calibração, validação e dos medicamentos são mostrados na Figura 1.

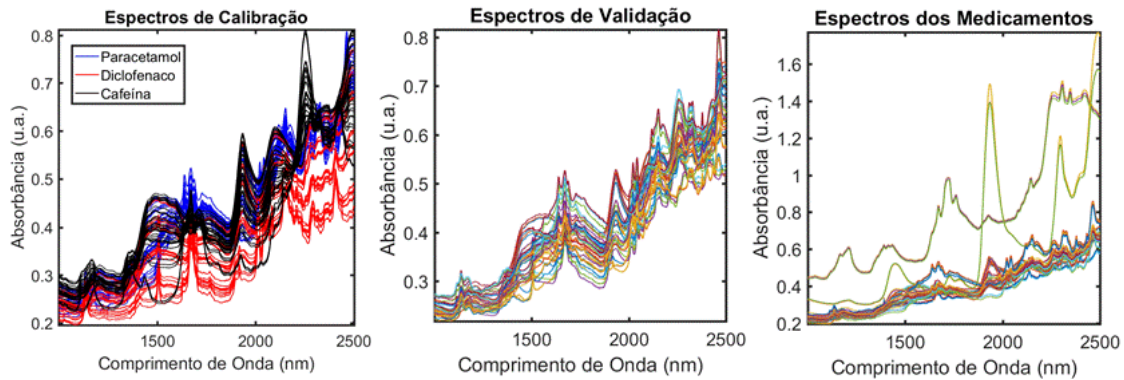


Figura 1: Espectros NIR originais das amostras de calibração, validação e medicamentos.

A partir dos dados espectrais pré-processados, as matrizes X e o vetor y (concentrações) foram organizados conforme mostrado na Figura 2.

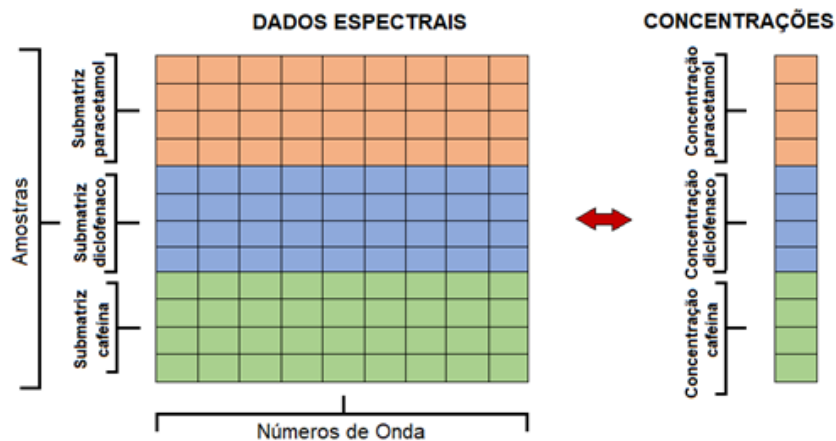


Figura 2: Organização da matriz de dados X (espectros) em uma matriz aumentada e vetor y (concentrações) para a calibração.

Foram então criados três modelos matemáticos (um para cada fármaco) de previsão de concentração empregando o método de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês “Partial Least Squares Regression”). O PLS baseia-se no uso

da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês “Principal Component Analysis”) para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados espectrais, tornando possível a observação de uma correlação entre os espectros e as propriedades químicas de interesse, relacionando tais propriedades com a concentração [2].

Inicialmente as concentrações das amostras pertencentes ao próprio conjunto de calibração foram previstas, de maneira a verificar a linearidade na variação do sinal com a concentração. A Figura 3 mostra a relação entre as concentrações experimentais e àquelas previstas pelos três modelos PLS.

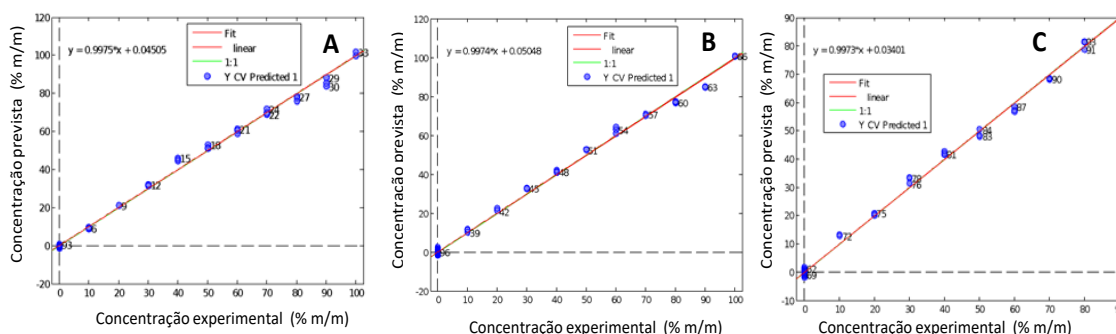


Figura 3: Gráficos de concentrações experimentais vs concentrações previstas para: A) paracetamol; B) diclofenaco e C) caféina.

Como é possível observar na Figura 3, a previsão do PLS foi adequada para as amostras de calibração. Em seguida, os modelos foram testados na previsão da concentração de paracetamol, caféina e diclofenaco nas amostras de validação. Os resultados, no entanto, não foram satisfatórios, sendo que as concentrações previstas se apresentaram distantes dos valores de concentração real, com erros de previsão elevados. Cabe lembrar que as amostras de validação continham misturas dos dois ou três analitos, enquanto a calibração foi feita de maneira individual, com uma matriz aumentada contendo os três analitos. Os resultados de validação demonstraram que, para a espectroscopia NIR, não é possível realizar a simplificação da calibração como foi feito no UV-Vis, isto devido à complexidade dos sinais de reflectância – neste caso todos os componentes absorvem (ao contrário dos espectros de UV-Vis) e o espectro torna-se complexo, sendo os sinais não aditivos. Isto indica que a calibração para a espectroscopia NIR deve de fato ser realizada com misturas.

Para os medicamentos comerciais, o método PLS não foi capaz de prever a concentração correta dos fármacos pois cada medicamento continha um conjunto de excipientes diferentes, resultado este já esperado para este método. Para tentar contornar este problema, foi avaliado o uso do método MCR (“Multivariate Curve

Resolution”, MCR), o qual realiza uma extração matemática dos sinais dos compostos puros da matriz de espectros dos medicamentos. Os resultados de calibração se apresentaram lineares também, os resultados de validação se apresentaram um pouco superiores aos do PLS, porém para os medicamentos os resultados foram exatos para um conjunto de medicamentos enquanto para outros os erros foram altos. Possivelmente o MCR não conseguiu extrair os sinais dos componentes puros na mistura complexa dos medicamentos com composição tão variada.

CONCLUSÕES

Considerando as concentrações de fármaco previstas nas amostras de validação, foi possível perceber que os modelos não forneceram bons resultados de previsão e isto pode ser explicado pelas diferenças de composição entre os conjuntos de amostras de calibração e validação. Algumas amostras de validação possuíam até quatro componentes (três fármacos mais placebo) variando em concentração, enquanto que, nas amostras de calibração somente variavam as concentrações do fármaco de interesse e do placebo. Este resultado mostrou que a simplificação da calibração que foi alcançada em um trabalho anterior empregando espectroscopia UV-Vis e PLS não é possível na espectroscopia NIR. A construção de modelos a partir de outros métodos, como por exemplo o PLS2 poderia contribuir na resolução dos problemas encontrados e está sendo avaliada. Pelo método do PLS2 obtém-se um único modelo para os três fármacos, ou seja, ao invés de um vetor y tem-se uma matriz Y . Tal acréscimo de informação pode vir a gerar um aumento na eficiência de previsão.

Para as amostras de medicamentos pôde-se apontar como o principal fator de influência na previsão da concentração dos fármacos a diferença de composição entre os placebos das amostras de calibração e de medicamentos. Para contornar este problema foi utilizado o método MCR, o qual apresentou bons resultados para alguns medicamentos e não para outros, fato que ainda está sendo estudado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Pinto, L.; Stechi, F.; Breitzkreitz, M.C.; *Microchemical Journal* 246 (2019) 202 - 209.
- [2] Souza, A. M.; Breitzkreitz, M. C.; Filgueiras, P. R.; Rohwedder, J. J. R.; & Poppi, R. *J. Química Nova*, 36 (2013) 1057-1065.