

Universidade do Vale do Paraíba  
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Lucas Ferreira Lyra

**ANÁLISE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS QUE CONTENHAM  
PARACETAMOL POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO  
(FTIR-UATR) ACOPLADA A ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS**

**QUALITY ANALYSIS OF MEDICINES CONTAINING PARACETAMOL USING  
INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR-UATR) COUPLED WITH MULTIVARIATE  
STATISTICAL ANALYSIS**

São José dos Campos, SP  
2024

Lucas Ferreira Lyra

**ANÁLISE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS QUE CONTENHAM  
PARACETAMOL POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO  
(FTIR-UATR) ACOPLADA A ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Kumiko Koibuchi Sakane

São José dos Campos, SP  
2024

## TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DIVULGAÇÃO DA OBRA

### Ficha catalográfica

Lyra, Lucas Ferreira

Análise de qualidade de medicamentos que contenham Paracetamol por meio da espectroscopia no infravermelho (FTIR-UATR) acoplada a análises estatísticas multivariadas / Lucas Ferreira Lyra; orientadora, Kumiko Koibuchi Sakane. - São José dos Campos, SP, 2024.

1 CD-ROM, 98 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Inclui referências

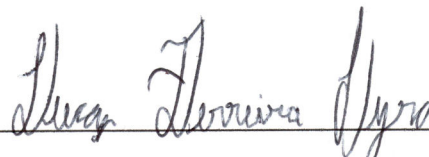
1. Engenharia Biomédica. 2. Medicamentos genéricos. 3. Controle de qualidade. 4. Espectroscopia no infravermelho. I. Sakane, Kumiko Koibuchi, orient. II. Universidade do Vale do Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica. III. Título.

Eu, Lucas Ferreira Lyra, autor(a) da obra acima referenciada:

Autorizo a divulgação total ou parcial da obra impressa, digital ou fixada em outro tipo de mídia, bem como, a sua reprodução total ou parcial, devendo o usuário da reprodução atribuir os créditos ao autor da obra, citando a fonte.

Declaro, para todos os fins e efeitos de direito, que o Trabalho foi elaborado respeitando os princípios da moral e da ética e não violou qualquer direito de propriedade intelectual sob pena de responder civil, criminal, ética e profissionalmente por meus atos.

São José dos Campos, 4 de Abril de 2024.

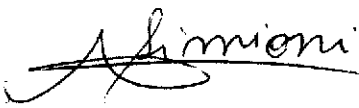

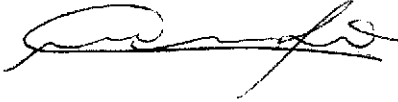



Autor(a) da Obra

LUCAS FERREIRA LYRA

**“ANÁLISE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS QUE CONTENHAM PARACETAMOL POR MEIO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (FTIR-UATR) ACOPLADA A ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS”.**

Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba - Univap, pela seguinte banca examinadora:

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| Prof.ª Dr.ª Andreza Ribeiro Simioni   |  |
| Prof.ª Dr.ª Kumiko Koibuchi Sakane    |  |
| Prof.ª Dr.ª Juliana Ferreira Strixino |  |
| Prof.ª Dr.ª Andrea Santos Liu         |  |

Prof.ª Dr.ª Lúcia Vieira

Diretora do IP&D – Univap

São José dos Campos, 27 de fevereiro de 2024.

## DEDICATÓRIA

À minha mãe que sempre me apoiou e nunca mediu esforços para que eu chegasse até aqui.

## AGRADECIMENTOS

À minha tia Hilcéa, por todo o amor, carinho e incentivo, inigualáveis e insubstituíveis.

À minha avó Dicéa e aos meus primos Rafael e Bruna pelo amor, exemplo e torcida.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Kumiko Koibuchi Sakane, pela paciência, profissionalismo, competência e carinho, por estar sempre disposta a me ajudar, sendo o maior e melhor exemplo, do que significa ser um pesquisador acadêmico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por confiar no meu projeto e conceder a bolsa de mestrado – Código de Finanças 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte na aquisição do espectrofotômetro Spectrum Two e do software Spectrum (versão 10.6.0), ambos da PerkinElmer e ambos utilizados nas análises deste estudo (Número de Processo FAPESP: 2017/04013-0).

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Maiara Lima Castilho, por gentilmente fornecer o princípio ativo, para ser utilizados no presente estudo.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Heidi Korzenowsky, por gentilmente fornecer os medicamentos de referência vencidos, para serem utilizados no presente estudo.

À minha colega do Laboratório de Espectroscopia, Camila Monteiro Santos Marques, por todo carinho e parceria.

A todos os professores do programa de pós-graduação em Engenharia Biomédica por todo aprendizado.

A todos os funcionários que compõem a UniVap, pelo auxílio e por manter a universidade funcionando mesmo diante das dificuldades do período.

A todos aqueles que posso ter me esquecido, mas que foram importantes para eu atingir mais este objetivo. Muito obrigado.

*“Só se pode alcançar um grande êxito quando  
nos mantemos fiéis a nós mesmos”  
(Friedrich Nietzsche)*

## RESUMO

O Paracetamol (PCT) é um medicamento anti-inflamatório não esteroide, extensamente utilizado pela população brasileira, em todas as faixas etárias, tendo destaque no tratamento infantil, sendo um fármaco de primeira escolha por possuir, relativamente, poucos efeitos colaterais tóxicos. Em comparação a várias técnicas analíticas utilizadas para a avaliação da autenticidade e da qualidade de preparações farmacêuticas, como as técnicas cromatográficas, as técnicas espectroscópicas destacam-se, por serem relativamente mais seguras, ecológicas e menos custosas, pois não necessitam de solventes para que sejam realizadas. A união de técnicas espectroscópicas a métodos quimiométricos, como por exemplo, as análises estatísticas multivariadas, como a análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise por componentes principais (PCA), é cada vez mais frequente, pois resulta em uma ferramenta analítica ainda mais poderosa. O presente estudo teve como objetivo demonstrar a capacidade da utilização da espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier, com tecnologia de refletância total atenuada universal (FTIR-UATR), acoplada às análises multivariadas HCA e PCA, como uma análise de qualidade preliminar rápida e eficiente, que direcione o uso de técnicas demoradas e trabalhosas, complementando o controle de qualidade de medicamentos que contenham PCT. Neste estudo, o uso do FTIR-UATR, não só possibilitou a construção e utilização de curvas padrão, para selecionar a melhor banda analítica dos espectros obtidos do medicamento de referência (MR) e dos medicamentos genéricos (MGs), do PCT, que estão localizadas em  $1439\text{ cm}^{-1}$ , mas também permitiu a aquisição das intensidades relativas dessas bandas analíticas, assim como sua comparação, que por sua vez, foi capaz de demonstrar a intercambialidade entre o MR e seus MGs. Juntamente ao uso do FTIR-UATR, a utilização da HCA e da PCA, mostrou-se de extrema importância, pois ao analisar e comparar as regiões de  $1700\text{ a }530\text{ cm}^{-1}$  e de  $1470\text{ a }1390\text{ cm}^{-1}$ , que são regiões importantes dos espectros, pois contêm a “impressão digital” de cada amostra e a banda analítica do PCT, respectivamente. Pode-se concluir também, que foram os recursos matemáticos e computacionais, da HCA e da PCA, que possibilitaram a diferenciação e a análise dessas regiões, permitindo demonstrar, com mais clareza, a intensidade e as alterações causadas nelas, pelas variações de quantidades e de tipos de excipientes utilizados no MR e em cada um dos MGs analisados, assim como, as variações geradas pelo vencimento do MR, pois em ambos os casos, nenhuma amostra apresentou uma região que fosse semelhante à de uma outra amostra, tanto nas comparações entre o MR e os MGs ou somente entre os MGs, como também, nas comparações entre um MR não vencido e todas as amostras, de MR, vencidas há mais de 1 mês. Por fim, a Metodologia Analítica para o uso do FTIR-UATR, acoplado às análises multivariadas HCA e PCA, desenvolvida neste estudo, apresenta grande utilidade e potencial na complementação do controle de qualidade de medicamentos, pois conseguiu demonstrar a capacidade do FTIR-UATR de detectar possíveis mudanças e degradações, nos excipientes e no princípio ativo, analisando ambos dentro de seus respectivos medicamentos, sem precisar extraí-los.

**Palavras-chave:** paracetamol; medicamentos genéricos; medicamentos vencidos; controle de qualidade; espectroscopia no infravermelho, FTIR-UATR; análise estatística multivariada; HCA; PCA.

## ABSTRACT

O Paracetamol (PCT) is a non-steroidal anti-inflammatory drug, widely used by the Brazilian population, in all age groups, with prominence on the treatment of children, where it is the drug of choice because it has relatively few toxic side effects. Compared to various analytical techniques used to evaluate the authenticity and quality of pharmaceutical preparations, such as chromatographic techniques, spectroscopic techniques stand out because they are relatively safer, more environmentally friendly and less expensive, as they do not require solvents to be performed. The combination of spectroscopic techniques and chemometric methods, such as multivariate statistical analyses, for example the hierarchical cluster analysis (HCA) and the principal component analysis (PCA), is increasingly frequent, as it results in an even more powerful analytical tool. The present study aimed to demonstrate the ability to use Fourier transform infrared vibrational spectroscopy with universal attenuated total reflectance technology (FTIR-UATR), coupled with HCA and PCA multivariate analyses, as a fast and efficient preliminary quality analysis, which directs the use of more extensive and laborious techniques, complementing the quality control of drugs containing PCT. In this study, the use of FTIR-UATR not only allowed the construction and use of standard curves, to select the best analytical band of the spectra obtained from the reference medicine (MR) and generic medicines (MGs) of the PCT, which are located at  $1439\text{ cm}^{-1}$ , but also allowed the acquisition of the relative intensities of these analytical bands, as well as their comparison. Together with the FTIR-UATR, the use of HCA and PCA proved to be extremely important, because when analyzing and comparing the regions from  $1700$  to  $530\text{ cm}^{-1}$  and from  $1470$  to  $1390\text{ cm}^{-1}$ , which are important regions of the spectra, as they contain the "fingerprint" of each sample and the analytical band of the PCT, respectively. It can also be concluded that it was the mathematical and computational resources of HCA and PCA that enabled the differentiation and analysis of these regions, allowing to demonstrate, more clearly, the intensity of the alterations caused in them, by the variations in quantities and types of excipients used in the MR and in each of the MGs analyzed, as well as, the variations generated by the expiration of the MR, because in both cases, no sample presented a region that was similar to that of another sample, both in the comparisons between the MR and the MGs or only between the MGs, as well as, in the comparisons between an unexpired MR and all the samples of MR, that were expired for more than 1 month. Finally, the analytical methodology for the use of FTIR-UATR, coupled with the multivariate analyses HCA and PCA, developed in this study, presents great utility and potential in complementing the quality control of drugs, as it was able to demonstrate the ability of FTIR-UATR to detect possible changes and degradations in the excipients and in the active ingredient, analyzing both within their respective drugs, without having to extract them.

**Keywords:** paracetamol; generic medicines; expired medications; quality control; infrared spectroscopy, FTIR-UATR; multivariate statistical analysis; HCA; PCA.

## LISTA DE FIGURAS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 1:  | Comparações entre os medicamentos de referência e os genéricos. ..   | 24 |
| Figura 2:  | Fórmula estrutural do Paracetamol.....   | 28 |
| Figura 3:  | O espectro eletromagnético. ....   | 31 |
| Figura 4:  | Exemplos de vibrações de estiramento (à esquerda da linha vertical) e de vibrações de deformação angular (à direita da linha vertical). ....   | 32 |
| Figura 5:  | Espectro infravermelho do ácido láctico, em transmitância. ....  | 33 |
| Figura 6:  | Espectro infravermelho do ácido láctico, em absorbância.....   | 34 |
| Figura 7:  | Espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer fechado. ....  | 43 |
| Figura 8:  | Espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer aberto sem o UATR. ....  | 44 |
| Figura 9:  | Acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer. ....   | 45 |
| Figura 10: | Espectrofotômetro Spectrum Two aberto com o UATR, sendo ambos da PerkinElmer. ....   | 45 |
| Figura 11: | Espectro infravermelho médio do brometo de potássio, em transmitância. ....  | 47 |
| Figura 12: | Espectro médio do Paracetamol sem excipientes em transmitância, com as bandas, que foram atribuídas, destacadas.....   | 50 |
| Figura 13: | Comparação visual dos espectros em absorbância do medicamento de referência (MR) e do Paracetamol sem excipientes (PCTSE).....   | 52 |
| Figura 14: | Comparação das bandas de $1564\text{ cm}^{-1}$ , $1506\text{ cm}^{-1}$ e $1439\text{ cm}^{-1}$ , nos espectros do medicamento de referência (MR) e no do Paracetamol sem excipientes (PCTSE). .... | 53 |
| Figura 15: | Curvas padrão para a banda $1564\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente. ....  | 55 |
| Figura 16: | Curvas padrão para a banda $1506\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente. ....  | 55 |
| Figura 17: | Curvas padrão para a banda $1439\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente. ....  | 56 |
| Figura 18: | Sobreposição dos espectros em absorbância normalizados na região de $1480\text{ a }1390\text{ cm}^{-1}$ , com diferentes quantidades de medicamento de referência. ....                            | 58 |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Figura 19: | Espectro médio do medicamento de referência (MR) em transmitância. ....   | 59 |
| Figura 20: | Espectro médio do medicamento genérico "A" em transmitância. ....   | 59 |
| Figura 21: | Espectro médio do medicamento genérico "B" em transmitância. ....   | 60 |
| Figura 22: | Espectro médio do medicamento genérico "C" em transmitância. ....   | 60 |
| Figura 23: | Espectro médio do medicamento genérico "D" em transmitância. ....   | 61 |
| Figura 24: | Espectro médio do medicamento genérico "E" em transmitância. ....   | 61 |
| Figura 25: | A região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros médios do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....   | 63 |
| Figura 26: | A região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros médios do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....  | 64 |
| Figura 27: | Dendrograma da região 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....  | 65 |
| Figura 28: | Dendrograma da região 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....   | 66 |
| Figura 29: | Scree Plot obtido pela PCA da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência e dos genéricos. ....  | 68 |
| Figura 30: | Scree Plot obtido pela PCA da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência e dos genéricos. ....   | 68 |
| Figura 31: | Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....                                      | 69 |
| Figura 32: | Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E".....  | 70 |
| Figura 33: | Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E". ....                                     | 71 |
| Figura 34: | Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E"..... | 72 |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Figura 35: | Gráfico de intervalos das intensidades relativas médias das bandas analíticas dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.....                               | 74 |
| Figura 36: | A região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros médios de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.....   | 76 |
| Figura 37: | A região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros médios de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....   | 77 |
| Figura 38: | Dendrograma da região 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....   | 78 |
| Figura 39: | Dendrograma da região 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....  | 79 |
| Figura 40: | Scree Plot obtido pela PCA da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....   | 81 |
| Figura 41: | Scree Plot obtido pela PCA da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....  | 81 |
| Figura 42: | Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.....  | 82 |
| Figura 43: | Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1700 a 530 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ....  | 83 |
| Figura 44: | Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.....                                       | 84 |
| Figura 45: | Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1470 a 1390 $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. .... | 85 |
| Figura 46: | Histograma das intensidades relativas médias das bandas analíticas dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos. ...   | 87 |

## LISTA DE TABELAS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Materiais e características de ERIs comumente usados. ....   | 38 |
| Tabela 2 - | Número de onda e descrição aproximada do espectro do Paracetamol.....  | 51 |
| Tabela 3 - | Intensidades relativas médias, com desvio padrão, das bandas analíticas dos espectros dos medicamentos comerciais.....                           | 73 |
| Tabela 4 - | Intensidades relativas médias, com desvio padrão, das bandas analíticas dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos..... | 86 |

## LISTA DE ABREVIações

|           |  |
|-----------|--|
| AINE      | Medicamento anti-inflamatório não esteroide  |
| ANVISA    | Agência Nacional de Vigilância Sanitária   |
| ERI       | Elemento de reflexão interna   |
| FIR       | Infravermelho distante   |
| FTIR      | Espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier  |
| FTIR-UATR | Espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier com tecnologia de refletância total atenuada universal |
| GC        | Cromatografia gasosa   |
| HCA       | Análise de agrupamento hierárquico   |
| HPLC      | Cromatografia líquida de alta eficiência   |
| IUPAC     | União internacional da Química Pura e Aplicada   |
| KRS-5     | Iodeto de tálio ou brometo de tálio  |
| MG        | Medicamento genérico   |
| MIR       | Infravermelho médio  |
| MR        | Medicamento de referência  |
| NIR       | Infravermelho próximo  |
| PCA       | Análise de componentes principais  |
| PCT       | Paracetamol  |
| PCTSE     | Paracetamol sem excipientes  |
| RENAME    | Relação Nacional de Medicamentos Essenciais  |
| UATR      | Tecnologia de refletância total atenuada universal   |
| ZnSe      | Seleneto de zinco  |

## SUMÁRIO

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>2</b>     | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>21</b> |
| 2.1          | OBJETIVO GERAL.....  | 21        |
| 2.2          | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 21        |
| <b>3</b>     | <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | <b>23</b> |
| 3.1          | ASPECTOS GERAIS DOS MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA E GENÉRICO.....                       | 23        |
| 3.2          | OS POSSÍVEIS RISCOS À SAÚDE GERADOS PELO CONSUMO DE MEDICAMENTOS VENCIDOS .....      | 25        |
| 3.3          | PARACETAMOL.....   | 28        |
| 3.4          | ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) ..... | 29        |
| 3.5          | REFLETÂNCIA TOTAL ATENUADA (ATR) .....   | 35        |
| 3.6          | ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA.....  | 39        |
| <b>3.6.1</b> | <b>Análise de agrupamento hierárquico (HCA)</b> .....                                | <b>39</b> |
| <b>3.6.2</b> | <b>Análise de componentes principais (PCA)</b> .....                                 | <b>40</b> |
| 3.7          | ESTADO DA ARTE E APLICAÇÕES DE TÉCNICAS DE FTIR .....                                | 41        |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | <b>43</b> |
| 4.1          | LOCAL DE ESTUDO.....   | 43        |
| 4.2          | EQUIPAMENTOS E SOFTWARES .....   | 43        |
| 4.3          | MEDICAMENTOS UTILIZADOS.....   | 46        |
| <b>4.3.1</b> | <b>Obtenção das amostras</b> .....   | <b>46</b> |
| <b>4.3.2</b> | <b>Preparação das amostras para as curvas padrão</b> .....                           | <b>46</b> |
| 4.4          | ANÁLISE DE DADOS.....  | 47        |
| <b>4.4.1</b> | <b>Obtenção dos espectros no infravermelho</b> .....                                 | <b>47</b> |
| <b>4.4.2</b> | <b>Processamento dos espectros obtidos</b> .....                                     | <b>48</b> |
| <b>4.4.3</b> | <b>Análise qualitativa dos espectros processados</b> .....                           | <b>48</b> |
| <b>4.4.4</b> | <b>Análise quantitativa dos espectros processados</b> .....                          | <b>48</b> |
| <b>5</b>     | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | <b>50</b> |
| 5.1          | ATRIBUIÇÃO DE BANDAS DO PARACETAMOL .....  | 50        |
| 5.2          | CURVA PADRÃO .....   | 52        |
| <b>5.2.1</b> | <b>Seleção de possíveis bandas analíticas</b> .....                                  | <b>52</b> |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>5.2.2</b> | <b>Construção e comparação das curvas padrão .....</b>  | <b>54</b> |
| <b>5.2.3</b> | <b>Obtenção e comparação visual dos espectros infravermelhos do medicamento de referência e dos genéricos.....</b>  | <b>58</b> |
| 5.3          | UTILIZAÇÃO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS NOS ESPECTROS INFRAVERMELHOS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA E DOS GENÉRICOS .....                              | 62        |
| <b>5.3.1</b> | <b>Análises de agrupamentos hierárquicos dos espectros do MR e dos MGs .....</b>  | <b>62</b> |
| <b>5.3.2</b> | <b>Análises de componentes principais dos espectros do MR e dos MGs .</b>   | <b>67</b> |
| 5.4          | COMPARAÇÃO DAS INTENSIDADES RELATIVAS MÉDIAS DAS BANDAS ANALÍTICAS DO PARACETAMOL NOS ESPECTROS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA E DOS GENÉRICOS.....               | 72        |
| 5.5          | UTILIZAÇÃO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS NOS ESPECTROS INFRAVERMELHOS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA DENTRO E FORA DO PRAZO DE VALIDADE .....           | 75        |
| <b>5.5.1</b> | <b>Análises de agrupamentos hierárquicos dos espectros do MR dentro e fora do prazo de validade .....</b>   | <b>75</b> |
| <b>5.5.2</b> | <b>Análises de componentes principais dos espectros do MR dentro e fora do prazo de validade .....</b>  | <b>80</b> |
| 5.6          | COMPARAÇÃO DAS INTENSIDADES RELATIVAS MÉDIAS DAS BANDAS ANALÍTICAS DO PARACETAMOL NOS ESPECTROS DE MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA NÃO VENCIDOS E DOS VENCIDOS ..... | 86        |
|              | <b>CONCLUSÕES .....</b>   | <b>88</b> |
|              | <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>89</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Até 05 de agosto de 2019, no Brasil, 85,6% dos medicamentos genéricos (MGs), com registro válido, foram produzidos dentro do território brasileiro, sendo que o restante, aproximadamente, 8,3% foram produzidos na Índia, 1,1% na Alemanha, 0,7% no Canadá, 0,3 na Itália e 0,3% nos Estados Unidos da América (Costa *et al.*, 2022).

O desconhecimento a respeito do que realmente são os MGs, pode levar muitas pessoas a rejeitarem o uso desses medicamentos, devido à baixa compreensão do conceito que os envolve (Malheiros *et al.*, 2021). Mesmo seguindo uma legislação rigorosa e de qualidade desde que surgiram, os MGs enfrentam muita desconfiança sobre sua eficácia e segurança por parte dos prescritores e consumidores. Pesquisas demonstram que os maiores fatores de resistência à utilização do MG, são a falta de conhecimento dos consumidores e o baixo estímulo dos prescritores (Rodrigues *et al.*, 2015; Silva, 2020).

A Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos, relatou que, em 2019, a indústria farmacêutica ocupou o 6º lugar do mercado financeiro, com crescimento de 10% ao ano, chegando a aproximadamente US\$ 200 bilhões de faturamento anual (Borgonovi, 2019). Além disso, em 2019, após sua introdução por lei em 1999, os MGs geraram uma economia de R\$ 120 bilhões à saúde pública no Brasil, em apenas 20 anos (Borgonovi, 2019).

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; 2018; Tescarollo, 2020). O Paracetamol (PCT), é extensamente utilizado pela população brasileira, para combater sintomas como dor de cabeça, enxaqueca leve, dor musculoesquelética, dismenorreia 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 (Brunton; Hilal-Dandan; Knollmann, 2018; Gonçalves Junior, 2023; Hejaz *et al.*, 2020; Nascimento, 2019; Rang *et al.*, 2016; Tescarollo, 2020).

O PCT é de grande relevância no cenário farmacológico brasileiro, pois, de acordo com o Conselho Federal de Farmácia, entre os meses de janeiro e março de 2019, 11.150.452 caixas do medicamento foram vendidas no Brasil, enquanto, no

mesmo período do ano de 2020, este número subiu para 19.774.819, gerando um aumento expressivo de 77,35% (Wu; Lombardo; Eserian, 2022).

O crescimento de fármacos adulterados é um grande problema de saúde pública e está resultando em um aumento proporcional no número de amostras que os laboratórios de controle de medicamentos devem testar (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021). Assim, tanto a necessidade de métodos de triagem preliminar simples e acessíveis a serem usados pelos inspetores para decidir em campo, se coletam ou não uma amostra, para uma análise laboratorial mais detalhada, como também o fato de que cada vez mais produtos adulterados estão penetrando no mercado aberto, uma abordagem de autenticação de produto que possa identificar e rastrear o produto, a qualquer hora e em qualquer lugar, é cada vez mais necessária (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021).

Historicamente, existem muitas técnicas analíticas utilizadas para a avaliação da autenticidade de preparações farmacêuticas levando em consideração o nível de conteúdo do(s) princípio(s) ativo(s). As técnicas mais envolvidas são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção ultravioleta, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas e a cromatografia gasosa (GC) (Al Lawati *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2017; Hemdan; Tawakol, 2018; Lin *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2018; Wilson; Masse, 2016; Xie *et al.*, 2019).

Porém, mesmo que a maioria das técnicas cromatográficas, como a HPLC ou a GC, ofereçam mais informações sobre as amostras estudadas e sejam muito úteis para a identificação do material examinado, essas técnicas são demoradas, necessitam de equipamentos caros e de um processo cuidadoso de preparação das amostras, pois, geralmente, utilizam solventes altamente tóxicos, que geram resíduos capazes de causar sérios danos ao meio ambiente e de proporcionar um ambiente de trabalho insalubre (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021; Veloso, 2018).

As possíveis periculosidades relacionadas à utilização de métodos cromatográficos, podem ser exemplificadas, utilizando-se um dos três solventes mais utilizados em HPLCs, sendo eles:

- A acetonitrila ou o cianeto de metila, é o solvente orgânico mais utilizado atualmente em HPLCs, apesar de possuir toxicidade aguda, de ser carcinogênica e prontamente absorvida, quando em contato com a pele, espalhando-se por todo o corpo rapidamente (Cassini; Antunes; Keller, 2013; Lanças, 2009; Veloso, 2018).

- O metanol ou álcool metílico, segundo solvente orgânico mais utilizado na HPLC, pode causar intoxicação por meio das vias respiratórias, digestivas e cutâneas, sendo rapidamente absorvido e distribuído por todos os tecidos, e concentrando-se nos tecidos com alto conteúdo hídrico, como por exemplo os fluidos cérebro-espinhal e intraocular (Cardoso, 2011; Veloso, 2018). Quando inalado, promove distúrbios locais como irritação, coceira na pele, dermatite e eczema de pele, dor de cabeça, fadiga, insônia, vertigens, entre outras, podendo chegar a causar cegueira (Cardoso, 2011; Veloso, 2018).
- O Tetrahydrofurano, o terceiro solvente orgânico mais utilizado na HPLC, possui toxicidade aguda para via oral, dérmica ou por inalação e pode promover danos graves aos olhos, como irritação grave, podendo causar danos irreparáveis (Veloso, 2018). Além disso, o Tetrahydrofurano, é carcinogênico e causa irritação dérmica, dermatite e edemas, em casos de contato prolongado (Veloso, 2018)

É importante salientar que, além dos perigos de se utilizar os solventes previamente mencionados, estima-se que, a quantidade total de resíduos gerados por instrumentos de HPLC, em todo o mundo, é de 34 milhões de litros por ano, fazendo com que mesmo uma melhoria incremental, cause uma redução significativa na quantidade total de resíduos gerados (Gaber *et al.*, 2011; Lucena, 2020).

Portanto, pode-se concluir que a utilização de solventes tóxicos na HPLC, principalmente para análises de rotina, como por exemplo, o controle de qualidade de medicamentos, pode acarretar enormes prejuízos ao meio ambiente e à saúde de todos envolvidos em sua realização (Veloso, 2018).

Em comparação às técnicas cromatográficas, as técnicas espectroscópicas destacam-se, pois, na maioria dos casos, são mais seguras, ecológicas e relativamente menos custosas, uma vez que, não necessitam de solventes, para que sejam realizadas. Levando em conta essas vantagens, uma técnica espectroscópica, torna-se uma melhor escolha para uma análise rápida de diferentes amostras, porém, esse tipo de técnica não consegue fornecer todas as informações sobre a composição química da amostra e apontar para os seus marcadores químicos característicos. Portanto, é preciso acoplar as técnicas espectroscópicas aos métodos quimiométricos, como por exemplo, a análises estatísticas multivariadas, como a análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise por componentes principais

(PCA), para torná-las em uma ferramenta analítica mais poderosa (Kucharska-Ambrożej; Karpinska, 2020).

A espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando infravermelho médio (MIR) ou infravermelho próximo (NIR), são técnicas analíticas comumente usadas para a discriminação e a autenticação de preparações farmacêuticas. As principais vantagens do uso de técnicas de FTIR na análise de amostras, são que essas técnicas são sensíveis, não destrutivas e necessitam apenas de uma preparação mínima e de pequenas quantidades de amostras para sua determinação e análise, o que faz com que sejam técnicas úteis e de grande aplicabilidade na triagem de amostras de medicamentos (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021; Custers *et al.*, 2015; 2016; Dégardin *et al.*, 2016; Hsu *et al.*, 2015; Sacré *et al.*, 2010).

Uma das características essenciais do FTIR é a possibilidade de determinar simultaneamente diferentes componentes na mesma amostra a partir de uma única medição instrumental. O benefício significativo da tecnologia de refletância total atenuada universal (UATR) é a capacidade de medir uma ampla variedade de amostras sólidas e líquidas sem exigir preparações complexas, e quando comparada aos procedimentos cromatográficos, a análise espectral, é mais eficiente e não requer processos trabalhosos de preparação de amostras (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021). Mesmo a espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier e tecnologia de refletância total atenuada universal (FTIR-UATR), não sendo tão popular quanto os métodos cromatográficos como a HPLC ou a GC, o seu processo não invasivo, rápido e que necessita apenas de uma preparação simples de amostras, torna-a um método analítico valioso e complementar aos métodos cromatográficos (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021).

Além de suas vantagens inerentes, quando um método espectroscópico, como a FTIR-UATR, é comparado a um método cromatográfico, como a HPLC, certas vantagens importantes precisam ser destacadas. Em termos de custos para a realização de uma análise, a HPLC requer a preparação da solução da amostra, de uma fase móvel, que tem uma composição específica, e de uma coluna, que atuará como uma fase estacionária, enquanto o FTIR-UATR, geralmente, necessita apenas de uma amostra homogênea para realizar sua análise. Portanto, um método de análise utilizando o FTIR-UATR, é mais direto, rápido, eficiente e ecológico,

particularmente, quando comparado ao da HPLC, que envolve muitos solventes para separação (Nugrahani; Manosa; Chintya, 2019).

A escolha adequada de um método permite respostas rápidas e precisas às questões referentes à qualidade da amostra e sua composição química. Os métodos espectroscópicos certamente apresentam muitas vantagens, principalmente para a detecção de medicamentos adulterados, pois o espectro de uma amostra pode ser comparado ao do produto genuíno (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021).

Portanto, em um mundo que necessita cada vez mais de produtos de alta qualidade e, conseqüentemente, de métodos que consigam garantir esse nível de excelência, especialmente em produtos como medicamentos, sem desacelerar as linhas de produção e gerando o mínimo de resíduo possível, as técnicas de FTIR-UATR, acopladas às análises estatísticas multivariadas, encontram-se em uma posição ideal para auxiliar no aumento da eficiência do controle de qualidade de tais produtos, sem sacrificar os níveis de cuidado e de segurança, que já são esperados e exigidos pelos seus consumidores, além de diminuir a quantidade de resíduos gerados por tais processos, algo de suma importância para o planeta e de grande interesse aos consumidores (Borgonovi, 2019; Bunaciu; Aboul-Enein, 2021; Kucharska-Ambrozej; Karpinska, 2020; Nugrahani; Manosa; Chintya, 2019; Tescarollo, 2020).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Demonstrar que técnicas de FTIR-UATR, acopladas às análises estatísticas multivariadas HCA e PCA, podem ser utilizadas diretamente em comprimidos de medicamentos contendo PCT, como uma análise de qualidade preliminar, que sirva para direcionar o uso de técnicas de análise de qualidade, mais extensas e custosas, diminuindo assim, o custo do controle de qualidade desses medicamentos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Obter amostras do medicamento de referência (MR) do PCT, vencidas e não vencidas, dos medicamentos genéricos, de diferentes marcas, e do Paracetamol sem excipientes (PCTSE).
- II. Utilizar o FTIR-UATR para obter os espectros do PCTSE e do MR.
- III. Realizar a atribuição de bandas utilizando o espectro do PCTSE.
- IV. Selecionar as possíveis bandas analíticas para o PCT no MR.
- V. Construir curvas padrão, utilizando os espectros do PCTSE e do MR, para fundamentar a escolha da banda analítica selecionada e analisar a viabilidade da utilização do FTIR-UATR diretamente em comprimido, sem precisar da extração do princípio ativo.
- VI. Utilizar o FTIR-UATR para obter os espectros dos medicamentos genéricos.
- VII. Realizar uma comparação visual entre os espectros do MR e dos MGs.
- VIII. Utilizar as análises estatísticas multivariadas HCA e PCA, para examinar e comparar a região característica e a banda analítica do PCT, nos espectros do MR e nos dos MGs, para determinar e analisar os graus de similaridade entre seus espectros.
- IX. Utilizar o FTIR-UATR para obter os espectros dos MRs vencidos.
- X. Realizar uma comparação visual entre os espectros dos MRs vencidos e do não vencido.
- XI. Utilizar as análises estatísticas multivariadas HCA e PCA, para analisar e comparar a região característica e a bandas analíticas do PCT, nos

espectros do MR não vencido e nos dos MRs vencidos, para determinar e analisar os graus de similaridade entre seus espectros.

- XII. Realizar uma comparação das intensidades relativas das bandas analíticas do MR e dos MGs, para demonstrar e assegurar sua intercambialidade.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

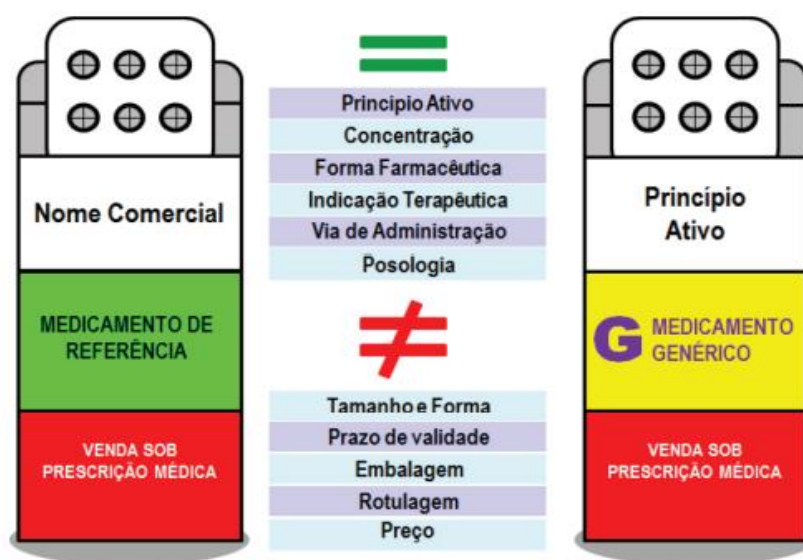
#### 3.1 ASPECTOS GERAIS DOS MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA E GENÉRICO

A produção de medicamentos genéricos (MGs) começou nos Estados Unidos na década de 1960, sendo o primeiro a adotar uma legislação sobre esses medicamentos. Posteriormente, o Canadá, a Alemanha, o Japão, a Grã-Bretanha, a Dinamarca e a Holanda, entre outros, também adotaram essa mesma política (Rosenberg *et al.*, 2010). No Brasil, em 1976, as indústrias farmacêuticas foram autorizadas a produzir e comercializar medicamentos idênticos aos de referência (Brasil, 1976). A legislação brasileira permitia que as próprias empresas definissem qual seria o medicamento de referência (MR) para o registro de seus produtos alternativos. Porém, não havia a exigência de uma comprovação da equivalência terapêutica do medicamento alternativo em relação ao produto considerado como referência (Brasil, 1976). Era também permitido o registro de formas farmacêuticas e dosagens diferentes em relação ao MR, podendo haver, casos de formulações distintas, o que levou ao registro de muitas especialidades farmacêuticas contendo o mesmo fármaco, vendidas com diversos nomes comerciais por diferentes laboratórios (Brasil, 1976; Pereira Coutinho Júnior *et al.*, 2018).

Para se contrapor a este cenário, a Presidência da República publicou uma legislação que passou a ser conhecida como a Lei dos Genéricos (Brasil, 1999) como parte da Política Nacional de Medicamentos, que era direcionada ao estímulo da concorrência e, por consequência, a uma maior variedade de oferta desses produtos no mercado brasileiro, e que também buscava melhorar a qualidade de todos os medicamentos, reduzir preços e, principalmente, facilitar o acesso da população aos tratamentos medicamentosos (Bertoldi *et al.*, 2004; Brasil, 1999). Toda nomenclatura empregada atualmente para medicamentos genéricos foi definida nesta Lei, pois nela, foram estabelecidas as definições de medicamentos de referência e genéricos. Um MR é um produto inovador, detentor de patente registrada no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, com eficácia e segurança comprovada durante o seu desenvolvimento, por meio de ensaios clínicos, como o estudo de biodisponibilidade, realizados previamente à solicitação de registro para comercialização. Pode-se citar o Tylenol® como um exemplo desse MR, sendo analgésico e antitérmico que apresenta o Paracetamol (PCT) como seu princípio

farmacologicamente ativo (Brasil, 1999). Já os medicamentos genéricos possuem os mesmos princípios ativos, nas mesmas concentrações e com a mesma posologia, via de administração, forma farmacêutica e indicações terapêuticas que o MR, podendo diferir em características como veículos e excipientes, tamanho, embalagem, prazo de validade e forma do produto (Brasil, 1999). Os medicamentos genéricos são intercambiáveis aos de referência, e precisam ser submetidos aos mesmos testes de qualidade, eficácia e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) (Figura 1) (Brasil, 1999).

Figura 1: Comparações entre os medicamentos de referência e os genéricos.



Fonte: Santana *et al.*, 2020.

Os medicamentos genéricos não apresentam nome comercial e são divulgados a partir da Denominação Comum Brasileira do(s) princípio(s) ativo(s) ou, na ausência dela, pela Denominação Comum Internacional, como por exemplo, o MG do Tylenol® é denominado Paracetamol, sendo obrigatório que o MG possua uma embalagem diferenciada que contenha uma tarja amarela com a letra "G" em destaque, para que haja fácil identificação do tipo de medicamento, (Figura 1) (Silva; Rocha, 2016). Os medicamentos genéricos puderam ser produzidos somente após o fim da proteção de uma patente ou de outro direito de exclusividade do MR e, segundo a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC nº 135, de 2003, sobre o regulamento técnico para medicamentos genéricos (Brasil, 2003), MGs precisam ser submetidos e aprovados em testes com o objetivo de comprovar que o MG que será

disponibilizado, apresenta todas as propriedades do MR, garantindo assim, que o MG é de fato intercambiável com o MR (Bertoldi *et al.*, 2004; Brasil, 1999; 2003).

De acordo com a Resolução da ANVISA nº 301, de 2019, das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos e a Resolução da ANVISA nº 135, a intercambialidade entre um MR e seus respectivos MGs, corresponde à substituição de produtos com a mesma eficácia e segurança, sem interferir com o sucesso do tratamento, e baseia-se no conceito de equivalência farmacêutica, que, em regra, é assegurado pela comprovação da equivalência terapêutica e da bioequivalência, entre um MR e seus respectivos MGs (Brasil, 2019). A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa) na mesma dosagem e forma farmacêutica, sendo que isso pode ser avaliado por meio de metodologias analíticas e testes *in vitro* (Paumgarten; Oliveira, 2017).

A determinação da bioequivalência consiste na demonstração de equivalência farmacêutica entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo uma composição idêntica de princípios ativos e que possuam comparável biodisponibilidade (Bate *et al.*, 2016). A biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina; medicamentos bioequivalentes são equivalentes farmacêuticos que, ao serem administrados na mesma dose molar e condições experimentais, não apresentam diferenças significativas em relação à biodisponibilidade (Araújo *et al.*, 2010; Bertoldi *et al.*, 2004; Brasil, 1999).

Como um MG utiliza o seu respectivo MR como base para sua fabricação, não há gastos em pesquisas e publicidades, o que proporciona, na maioria das vezes, sua comercialização com preços menores, sendo, geralmente, até 35,5% mais baratos, resultando em uma crescente participação dos MGs no mercado brasileiro, pois representam uma alternativa aos MRs, que geralmente são caros, principalmente, quando são importados (Bertoldi *et al.*, 2004).

### 3.2 OS POSSÍVEIS RISCOS À SAÚDE GERADOS PELO CONSUMO DE MEDICAMENTOS VENCIDOS

A garantia da estabilidade de um fármaco é promovida por meio do controle de qualidade, que com as técnicas analíticas, como as técnicas de espectroscopia vibracional no infravermelho, visa garantir que o medicamento seja seguro, eficaz e estável para consumo, além de determinar por quanto tempo é propício ao uso (Facci *et al.*, 2020; Neiva; Trevisan, 2021).

O uso de medicamentos vencidos, pode causar desde uma diminuição na efetividade do tratamento médico à indução de intoxicações, efeitos colaterais ou até mesmo, o desencadeamento de eventos adversos (Fernandes *et al.*, 2020; Neiva; Trevisan, 2021). Tais riscos à saúde podem se manifestar, pois, após o período proposto de validade de um fármaco, as reações depreciativas da qualidade e da estabilidade podem ser aceleradas e passar a prevalecer a forma tóxica do composto, repercutindo em danos à saúde, uma vez que, ao ter sua estrutura modificada, a interação fármaco-receptor é comprometida, interferindo na farmacocinética e no mecanismo de ação inicialmente proposto (Neiva; Trevisan, 2021; Olson, 2014).

Alguns tipos de medicamentos, precisam ser levados em consideração e destacados, devido ao seu alto índice de consumo e aos potenciais danos produzidos, quando utilizados de forma adulterada. Por exemplo, a tetraciclina, um antibiótico macrolídeo, que se utilizado após o seu vencimento, pode provocar acidose tubular renal, que é uma patologia decorrente de defeitos na reabsorção de bicarbonato ou na excreção de hidrogênio e, geralmente, está associada a lesão estrutural dos túbulos renais (Menegussi *et al.*, 2018; Neiva; Trevisan, 2021; Zilker; Sörgel; Holzgrabe, 2019). Além disso, a utilização de qualquer antibiótico fora do prazo de validade, pode facilitar o desenvolvimento da resistência bacteriana, uma vez que, após o prazo de validade, antibióticos começam a perder sua eficiência e, desta forma, também podem comprometer o sucesso do tratamento (Neiva; Trevisan, 2021; Oliveira *et al.*, 2021).

Além dos antibióticos vencidos, também se deve evitar o consumo de fármacos líquidos que já ultrapassaram seu prazo de validade, especialmente, quando já foram utilizados e, em seguida, foram armazenados de forma inadequada por muito tempo, pois podem estar contaminados por cepas bacterianas prejudiciais à saúde de quem vier a consumi-los (Klaassen; Watkins III, 2012; Neiva; Trevisan, 2021). Em casos como este, a contaminação microbiana pode causar infecções em pessoas cujo sistema imunológico se encontra enfraquecido e, conseqüentemente, torná-las mais suscetíveis a infecções. Outro fator de grande relevância, é a capacidade que alguns

micro-organismos têm de causar alterações nas propriedades organolépticas e perda de estabilidade e na atividade do princípio ativo do medicamento, diminuindo assim, sua eficácia. (De La Rosa; Medina; Vivar, 1995; Tótolí; Stain, 2011).

Também é importante destacar, que o consumo de medicamentos vencidos pode causar e/ou agravar duas síndromes graves conhecidas como a necrólise epidérmica tóxica e a síndrome de Stevens-Johnson, que apesar de terem uma incidência baixa de 0,4 a 6 casos por milhão de pessoas por ano, possuem taxas de mortalidade elevadas de 30% e de 5 a 12%, respectivamente (Lonjou *et al.*, 2008; Mccullough *et al.*, 2017; Neiva; Trevisan, 2021; Silva *et al.*, 2018; Tangamornsuksan *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2021).

A necrólise epidérmica tóxica é uma síndrome, geralmente, causada por uma reação adversa a medicamentos, que tem início com sintomas de febre e tosse e se agrava causando lesões na pele e mucosas, afetando mais de 30% da superfície do corpo. Fármacos ingeridos fora do seu prazo de validade, podem facilitar ou serem promotores deste agravamento, uma vez que, esta síndrome provém de reações alérgicas entre a droga e seu receptor e ainda de problemas relacionados a seu metabolismo (Denny; Cohen, 2022; Neiva; Trevisan, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

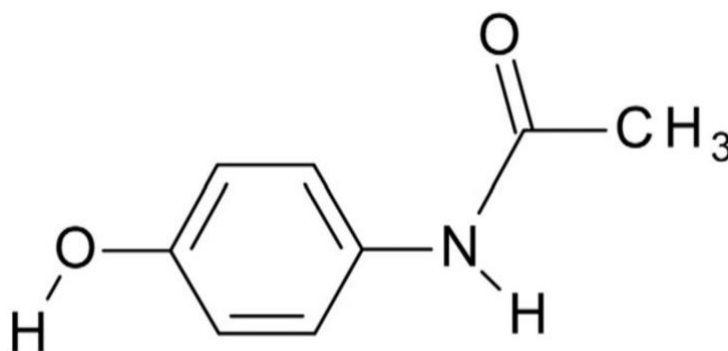
A síndrome de Stevens-Johnson apresenta sintomas semelhantes a necrólise epidérmica tóxica, sendo considerada como uma forma menos intensa da síndrome, pois causa lesões mais leves na pele e atinge uma porcentagem menor da superfície do corpo, de até aproximadamente 10% (Denny; Cohen, 2022; Neiva; Trevisan, 2021).

Os fármacos mais citados, com relação a necrólise epidérmica tóxica e a síndrome de Stevens-Johnson, são carbamazepina, fenobarbital, sulfonamidas, alopurinol e fenitoína, sendo que, as reações químicas, que podem ocorrer após o vencimento desses fármacos, também podem estar diretamente relacionadas com o processo envolvido no desenvolvimento das duas síndromes, uma vez que, essas reações são capazes de provocar alterações estruturais em fármacos vencidos (Neiva; Trevisan, 2021; Codagnoni Neto *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021). A resposta imune que ocorre de forma mais agressiva em ambas as síndromes, tem relação com os metabólitos originados por estes fármacos, que também podem ocorrer, quando se consome medicamentos vencidos, que por estarem com sua estabilidade alterada, podem produzir metabólitos tóxicos (Lonjou *et al.*, 2008; Mccullough *et al.*, 2017; Neiva; Trevisan, 2021).

### 3.3 PARACETAMOL

O Paracetamol (PCT) é uma amida aromática acilada, que foi introduzida pela primeira vez na medicina como antipirético/analgésico por Von Mering em 1893 e é um fármaco popular e de venda livre, frequentemente utilizado em muitos países como alternativa à aspirina e à fenacetina (Bosch *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2022). O PCT é classificado como um anti-inflamatório não esteroide (AINE) que atua inibindo a ciclo-oxigenase 2, impedindo a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas, podendo assim, ser utilizado por adultos, crianças e neonatos (Bosch *et al.*, 2006; Lopes; Matheus, 2012; Silva *et al.*, 2022; Tonon *et al.*, 2020). O PCT também é conhecido como acetaminofeno, N-acetil-p-aminofenol ou 4-acetamidofenol e sua fórmula estrutural está ilustrada na Figura 2 (Bosch *et al.*, 2006).

Figura 2: Fórmula estrutural do Paracetamol.



Fonte: Amado; Azevedo; Ribeiro-Claro, 2017.

A estrutura do PCT (Figura 2) contém diferentes grupos funcionais, incluindo o grupo hidroxila (OH), que forma um fenol, pois está ligado a um anel aromático, e a carbonila (C=O), que juntamente com a presença do nitrogênio (N), classificam o composto como uma amida (Mallah *et al.*, 2015).

O PCT é um princípio ativo importante em vários medicamentos para gripes e resfriados e em muitos analgésicos prescritos, já que é aceito como um tratamento muito eficaz para o alívio da dor de cabeça, dor musculoesquelética, dor gerada pela dismenorreia e consegue aliviar também a febre, pois consegue causar uma diminuição da temperatura corporal e possui uma alta ação analgésica, média ação

antipirética e baixa ação anti-inflamatória (Bosch *et al.*, 2006; Dutra; Junior; Fritzen, 2013; Hejaz *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2022).

Um outro fator que favorece a utilização do PCT em diversos medicamentos, é sua notável segurança, em uma dose padrão, pois não irrita o revestimento do estômago nem afeta a coagulação do sangue, rins ou o canal arterial fetal, porém, devido à sua ampla disponibilidade, overdoses deliberadas ou acidentais não são incomuns e podem causar danos ao fígado potencialmente fatais (Bosch *et al.*, 2006; Hejaz *et al.*, 2020; Sahle; Ayane; Wabe, 2012). Além de sua segurança em dose padrão, assim como os outros AINEs e ao contrário dos analgésicos opioides, o PCT não causa euforia ou alteração no humor e não apresentar risco de dependência, tolerância e abstinência (Bosch *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2022).

### 3.4 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria. As técnicas de espectroscopia vibracional no infravermelho são utilizadas para caracterizar amostras em várias formas e, conseqüentemente, além de estarem sempre evoluindo, conforme o avanço da ciência e da tecnologia, já são utilizadas em diversas áreas, como por exemplo, na biomédica, na ambiental, na de alimentos e na de agricultura (Burns; Ciurczak, 2007).

Quando uma amostra interage com a radiação infravermelha, os modos normais de vibração de suas moléculas, absorvem parte da energia dos fótons que possuem frequências iguais as suas, resultando em absorções e/ou transmissões de energia, que podem ser visualizadas por meio de espectros de absorção na região do infravermelho, permitindo a observação e o estudo de mais informações sobre os modos normais de vibração das moléculas e suas interações com a radiação infravermelha (Nandiyanto; Oktiani; Ragadhita, 2019).

As ondas eletromagnéticas são constituídas por campos elétricos e campos magnéticos oscilantes e perpendiculares entre si, sendo que, sua parte elétrica, é denominada de vetor elétrico (Bassi, 2001). A Equação 1 demonstra a relação diretamente proporcional entre a energia de um fóton “E” (J) e a sua frequência “v” (Hz), sendo que, “h” representa a constante de Planck ( $6,626068 \times 10^{-34}$  J.s) (Silverstein *et al.*, 2006).

Equação 1.

$$E = hv$$

Já a Equação 2, demonstra a relação inversamente proporcional entre a frequência de uma onda eletromagnética “ $\nu$ ” (Hz) e o seu comprimento de onda “ $\lambda$ ” (m), sendo que, “ $c$ ” representa a velocidade da radiação eletromagnética no vácuo ( $2,99793 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ ) (Silverstein *et al.*, 2006).

Equação 2.

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

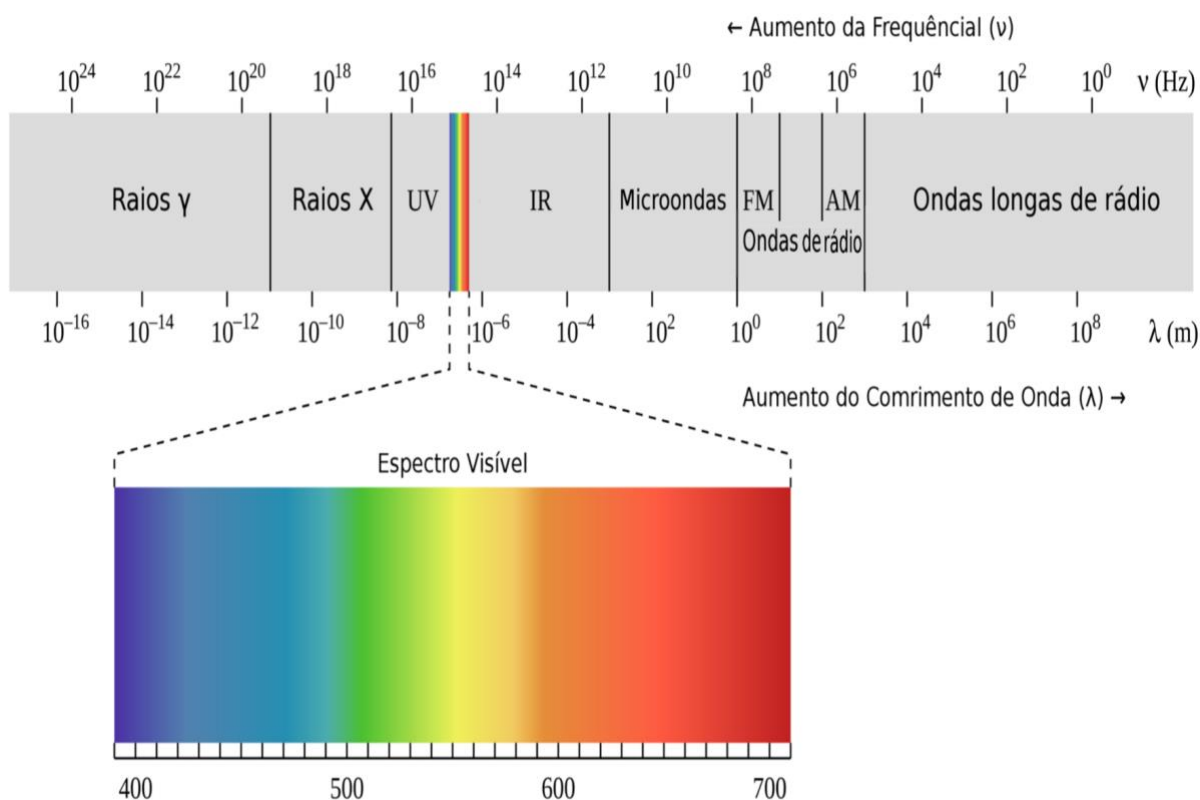
Por fim, a Equação 3 demonstra a relação inversamente proporcional entre o número de onda de uma onda eletromagnética “ $n$ ” ( $\text{m}^{-1}$ ) e o seu comprimento de onda “ $\lambda$ ” (m) (Silverstein *et al.*, 2006).

Equação 3.

$$n = \frac{1}{\lambda}$$

O espectro eletromagnético é designado como o conjunto de radiações eletromagnéticas, classificando as radiações de acordo com suas frequências e comprimentos de onda, e estende-se em uma faixa com frequências de  $10^{24}$  a  $10^0$  Hz, que contém várias regiões, que estão demonstradas na Figura 3 (Fontes *et al.*, 2022).

Figura 3: O espectro eletromagnético.



Fonte: Adaptada de Delecave, 2021.

Entre o intervalo de  $100 \text{ cm}^{-1}$  a  $14290 \text{ cm}^{-1}$  do espectro eletromagnético, pode se encontrar a energia conhecida como infravermelho, que apresenta três regiões (Barbosa, 2007; Silverstein et al., 2006):

- Infravermelho distante (*Far Infrared* – FIR), entre  $100 \text{ cm}^{-1}$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$ ;
- Infravermelho médio (*Middle Infrared* – MIR), entre  $400 \text{ cm}^{-1}$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ ;
- Infravermelho próximo (*Near Infrared* – NIR), entre  $4000 \text{ cm}^{-1}$  a  $14290 \text{ cm}^{-1}$ .

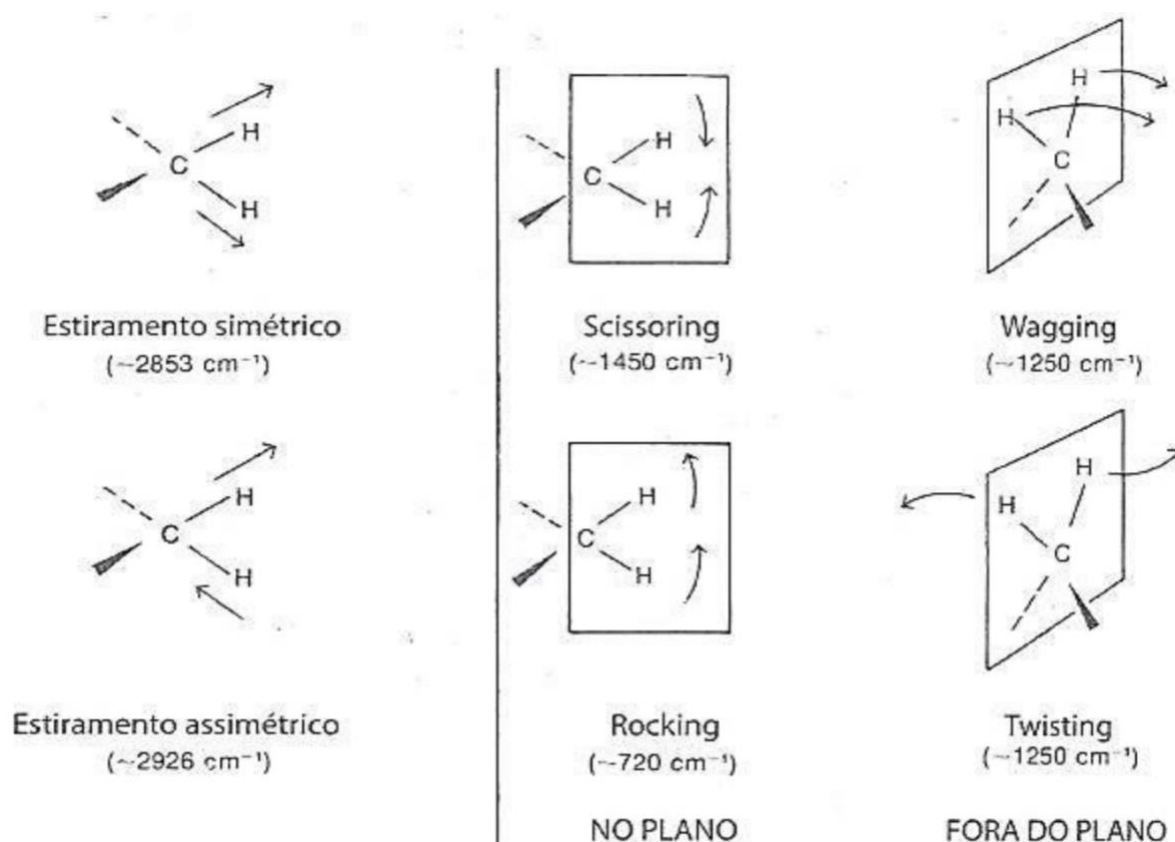
A região do infravermelho médio, também apresenta três regiões distintas, onde cada uma delas abrange bandas características (Leite; Prado, 2012). A primeira região do infravermelho médio vai de  $400$  a  $900 \text{ cm}^{-1}$ , onde se observam as vibrações de deformação angular entre os átomos C-H de compostos aromáticos. Na segunda região, que é de  $900$  a  $1400 \text{ cm}^{-1}$ , observam-se ligações simples ou grupamentos químicos como C-H, C-O, C-N e P-O. Por fim, na terceira e última região, que é de  $1400$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ , observam-se vibrações de estiramento de ligações como C-H, N-

H,  $C\equiv C$ ,  $C\equiv N$  e  $C=O$ , que são ligações constituídas por átomos de baixa massa molecular (Sablinskas; Steiner; Hof, 2003; Wang *et al.*, 2009).

A interação da radiação infravermelha com moléculas pode produzir alterações nas posições dos seus átomos, fazendo com que oscilem em dois modos vibracionais (Fontes *et al.*, 2022; Stuart, 2004). O primeiro modo vibracional, é o de estiramento, onde a distância, pelo eixo de ligação entre os átomos, varia. O segundo modo vibracional, é o de deformação angular, onde os ângulos de ligação entre os átomos variam (Barbosa, 2007).

Alguns exemplos de vibrações de estiramento, como o simétrico e o assimétrico, assim como, de vibrações de deformação angular, como a simétrica no plano (*scissoring*), a assimétrica no plano (*rocking*), a simétrica fora do plano (*wagging*) e a assimétrica fora do plano (*twisting*), estão ilustrados na Figura 4 (Holler; Skoog; Crouch, 2009; Pavia *et al.*, 2010).

Figura 4: Exemplos de vibrações de estiramento (à esquerda da linha vertical) e de vibrações de deformação angular (à direita da linha vertical).

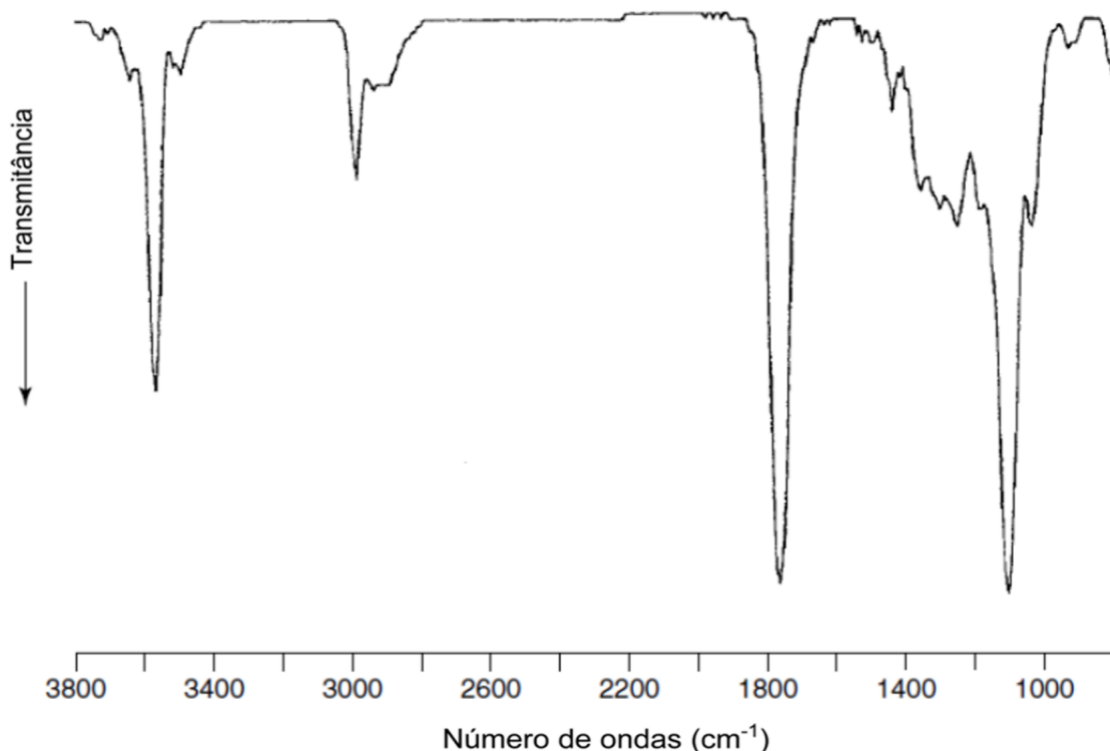


Fonte: Pavia *et al.* (2010).

Cada átomo possui 3 graus de liberdade, que correspondem às 3 coordenadas do sistema cartesiano (“x”, “y” e “z”). As 3 coordenadas do sistema cartesiano são necessárias para definir e acompanhar as posições dos átomos em um espaço tridimensional (Stuart, 2004). Para calcular o número de modos normais de vibração de moléculas lineares e moléculas não-lineares são utilizadas as seguintes fórmulas, respectivamente:  $(3N - 5)$  e  $(3N - 6)$ ; sendo “N” o número total de átomos presentes na molécula (STUART, 2004).

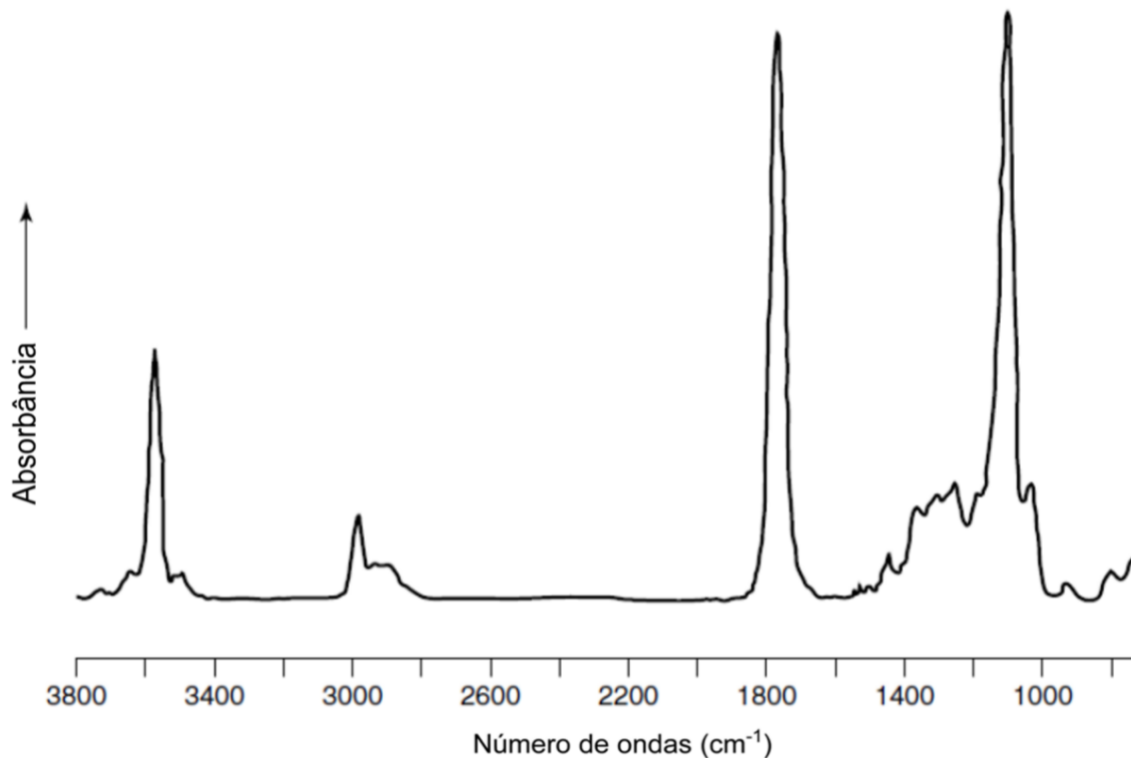
De acordo com a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC), o formato padrão de um espectro infravermelho, é a transmitância (%T) versus o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Forato *et al.*, 2010). Mesmo assim, os espectros também podem ser apresentados no formato de absorbância (A) versus o número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ), sendo ambos formatos exemplificados, utilizando os espectros do ácido láctico, nas Figuras 5 e 6, respectivamente (Barbosa, 2007; Stuart, 2004).

Figura 5: Espectro infravermelho do ácido láctico, em transmitância.



Fonte: Adaptada de Stuart, 2004.

Figura 6: Espectro infravermelho do ácido láctico, em absorbância.



Fonte: Adaptada de Stuart, 2004.

É importante especificar que a transmitância “T” é a razão entre a energia radiante transmitida pela amostra, como por exemplo, a radiação eletromagnética na região do infravermelho, que conseguiu atravessar a amostra e a energia radiante incidente. Já a absorbância “A”, é o logaritmo do inverso da transmitância e pode ser calculada utilizando a fórmula demonstrada na Equação 4.

Equação 4.

$$A = \log_{10} \frac{1}{T}$$

A intensidade das bandas, em um espectro infravermelho em absorbância, pode ser correlacionada às quantidade das matérias/substâncias em uma amostra. No entanto, não são só as quantidades das substâncias que definem as intensidades dos picos de absorção no espectro infravermelho da amostra, pois a regra de seleção para a espectroscopia vibracional no infravermelho estabelece, que são as variações dos momentos dipolares dos modos normais de vibração das moléculas da amostra, que ocorrem quando esses modos absorvem a energia de fótons (com frequências

iguais as suas), que são os fatores que mais influenciam as intensidades dos picos de absorção (Lins, 2017; Ricachenevsky *et al.*, 2020, Silva, 2011). Portanto, apesar de técnicas espectroscópicas no infravermelho detectarem muitos sinais, nem todas as bandas podem ser utilizadas para quantificar o princípio ativo. Uma banda que consegue indicar a relação entre a quantidade da amostra e a intensidade de seu pico de absorção no espectro infravermelho, é chamada de banda analítica e para ser selecionada como uma, precisa estar localizada em uma região livre da interferência de outras bandas, ter um formato aproximadamente simétrico e ser livre de desdobramentos e de superposições de outros modos vibracionais (Ricachenevsky *et al.*, 2020).

A identificação dos espectros não possui uma regra estabelecida a ser seguida, contudo o tratamento matemático das vibrações moleculares é muito complexo e considerado pouco prático, portanto, geralmente, interpreta-se o espectro a partir de comparações empíricas com outros espectros. Para realizar esse tipo de comparação, são utilizados dois espectros, um espectro é de uma substância conhecida e o outro é de uma substância desconhecida, como por exemplo, no caso de medicamentos, compara-se o espectro de um princípio ativo puro com o espectro de um medicamento (excipientes + princípio ativo), pois a posição exata dos picos e as alterações em seus contornos das bandas expõem importantes detalhes das estruturas moleculares de uma amostra, fazendo com que, uma correlação pico a pico, entre esses dois espectros, seja uma evidência muito importante para a caracterização de uma amostra (Silverstein *et al.*, 2010).

### 3.5 REFLETÂNCIA TOTAL ATENUADA (ATR)

Um acessório/módulo de refletância total atenuada (ATR) é utilizado em um método de amostragem de contato, para equipamentos de FTIR, e utiliza um tipo específico de cristal, chamado normalmente de um elemento de reflexão interna (ERI), que tem um alto índice de refração e excelentes propriedades de transmissão de infravermelho (Larkin, 2018).

Quando um feixe infravermelho viaja de um meio de alto índice de refração (por exemplo, um ERI de seleneto de zinco) para um meio de baixo índice de refração (a amostra), uma certa quantidade de luz é refletida de volta para o meio de baixo índice de refração e, em um determinado ângulo de incidência, quase todas as ondas de luz

são refletidas de volta para o ERI, sendo que este fenômeno é chamado de reflexão interna total (Subramanian; Rodriguez-Saona, 2009). Nessa condição, parte da energia da luz escapa do cristal e se estende por uma pequena distância (0,1 a 5 micrómetros) além da superfície na forma de ondas, essa onda invisível é chamada de onda evanescente e é neste ponto que a intensidade da luz refletida diminui, em um fenômeno chamado de refletância total atenuada. Quando uma amostra é posicionada sobre o cristal, uma certa quantidade de radiação infravermelha penetra além do cristal e é absorvida pela amostra e é essa absorção que é traduzida no espectro infravermelho da amostra (Subramanian; Rodriguez-Saona, 2009).

Um espectro, que foi obtido utilizando ATR, difere-se de um que tenha sido obtido utilizando métodos de transmissão clássicos, porque a luz penetra na amostra em uma profundidade proporcional ao comprimento de onda (Larkin, 2018). Os parâmetros importantes determinam a profundidade de penetração do ATR são: o comprimento de onda da luz incidente, o ângulo de incidência do ERI, o índice de refração do ERI e o índice de refração da amostra. O cristal deve ter um índice de refração maior do que a amostra. Portanto, quando comparado a um espectro de transmissão clássico, as absorbâncias em um espectro medido por ATR, as frequências mais baixas são proporcionalmente maiores do que em frequências mais altas e, quando um espectro infravermelho medido por ATR é diretamente comparado a um espectro de transmissão padrão, diferentes variações nas frequências de pico e no formato de banda também são esperadas (Larkin, 2018). Quando o índice de refração da amostra e o ERI se aproximam, a dispersão anômala pode causar distorção das características espectrais. Isso pode incluir simetrias de pico diminuídas, mudança de picos para frequências mais baixas, transições nítidas de pico de linha de base e distorção de intensidades de pico relativas, entretanto, algoritmos de correção, agora, amplamente disponíveis em softwares lidam especificamente com espectros obtidos utilizando o ATR, conseguem corrigir muitos desses problemas (Larkin, 2018).

As técnicas de amostragem, que utilizam o ATR, são uma das técnicas de amostragem mais utilizadas pelos analistas de FTIR, pois são capazes de analisar amostras sólidas, líquidas e, com acessórios próprios para esse tipo de amostra, gasosas, além de serem, rápidas, não destrutivas e, principalmente, por não requerem preparos de amostras trabalhosos, complexos ou caros, o que, em comparação, com o métodos de transmissão tradicionais ou com métodos que utilizem HPLC ou GC, faz

com que sejam técnicas muito mais convenientes e simples de serem utilizadas (Larkin, 2018; Subramanian; Rodriguez-Saona, 2009). Ao contrário das de transmissão, uma técnica de amostragem que utiliza o ATR, não é influenciada pela espessura da amostra, pois o ATR consegue capitalizar a informação espectral que pode ser obtida a partir de fenômenos de reflexão, permitindo que essa técnica seja utilizada para medir os espectros infravermelhos de superfícies ou de materiais que são espessos ou absorventes demais para serem analisados por métodos de transmissão. Porém, é importante notar que, como os espectros, que foram obtidos utilizando o ATR, são da superfície da amostra e podem ser fortemente afetados em relação às posições das bandas, formas e intensidades relativas, pela dispersão desigual do índice de refração na superfície da amostra, fazendo com que a qualidade dos espectros obtidos, seja dependente da homogeneidade da amostra, porém, quando as amostras a serem analisadas, são preparadas de uma maneira adequada, o ATR é capaz de gerar espectros que tenham características bem definidas (Larkin, 2018; Subramanian; Rodriguez-Saona, 2009).

Existem vários designs e configurações diferentes de acessórios para ATR, como por exemplo, um cristal com uma única reflexão, que é comumente utilizado para trabalhos com um micro ATR, e um cristal para ATR com múltiplas refletâncias, que é normalmente usado para amostras em maiores quantidades. Acessórios para ATR também podem utilizar diferentes materiais de cristal, sendo os mais comumente usados: seleneto de zinco (ZnSe); germânio; silício; diamante e iodeto de tálio ou brometo de tálio (KRS-5) (Larkin, 2018; Subramanian; Rodriguez-Saona, 2009). A Tabela 1 resume as características de alguns dos ERIs mais comumente usados.

Tabela 1 - Materiais e características de ERIs comumente usados.

| Material | Faixa do número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Índice de Refração | Comentários   |
|----------|--|--------------------|---|
| Germânio | 5000–850                                     | 4,00               | Duro e quebradiço, bom material para o ATR, mas sensível à temperatura.   |
| KRS-5    | 5000–275                                     | 2,38               | Relativamente mole, deforma, venenoso. Material convencional para o ATR. Insolúvel em água, mas reage com agentes complexantes.                           |
| ZnSe     | 5000–550                                     | 2,41               | Duro e quebradiço, bom material para o ATR. Insolúvel em água, mas é suscetível a possíveis degradações, quando na presença de ácidos e alcalinos fortes. |
| Diamante | 4500–2500<br>1600–35                         | 2,40               | Muito duro, inerte e é frequentemente utilizado como uma película protetora para ERIs como ZnSe ou como cristais para o micro ATR.                        |
| Silício  | 8300–1500                                    | 3,40               | O material é inerte, duro e quebradiço. Tem uma faixa de comprimento de onda limitada para o ATR.   |

Fonte: Larkin, 2018.

O diamante tem sido cada vez mais usado para espectroscopia ATR de rotina porque é um material quimicamente inerte, atóxico, extremamente duro e consegue suportar pressões muito altas, sendo esta, uma característica especialmente importante para o ATR, uma vez que, quanto maior for o contato entre o cristal do ATR e a amostra, melhor serão os espectros obtidos. Portanto, o uso de um micro ERI de diamante ou de um outro material, que tenha um revestimento protetor de diamante, permite que uma pressão muito maior seja usada para garantir que haja, ainda mais, contato entre o ERI e uma amostra, mesmo que a amostra seja constituída por materiais mais duros (Larkin, 2018).

Por fim, como o ATR requer um excelente contato entre a amostra e o cristal, seu uso é indicado para análises de líquidos ou sólidos macios e facilmente deformáveis, como por exemplo, no caso de produtos farmacêuticos, medicamentos na forma de pó, como os dentro de cápsulas ou como comprimidos, ou na forma líquida, como os em xaropes ou soros intravenosos (Larkin, 2018).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Quando um fenômeno depende de muitas variáveis, é necessário conhecer as informações que são fornecidas pelo conjunto das variáveis. Os resultados de um experimento normalmente envolvem uma grande quantidade de variáveis e muitas vezes, as relações existentes entre as variáveis não são facilmente percebidas, o que dificulta a interpretação dos resultados obtidos. Torna-se necessária a escolha de variáveis, entretanto esta escolha, frequentemente, é baseada em critérios subjetivos (Callao; Ruisánchez, 2018).

A denominação “Análise Estatística Multivariada” corresponde a vários métodos que usam simultaneamente todas as variáveis para interpretar o conjunto de dados obtidos em um experimento. Cada método tem sua faixa de aplicabilidade e fundamentação teórica, sendo que a implementação computacional dos fundamentos teóricos se torna essencial, por causa do extenso cálculo matemático que é necessário (Kumar; Singh; Mishra, 2013).

Quando o interesse é verificar como as amostras são relacionadas umas com as outras, ou seja, o quanto estas amostras são semelhantes segundo as variáveis usadas pelo experimento, destacam-se dois métodos que podem ser utilizados: a análise por agrupamento hierárquico (HCA) e a análise por componentes principais (PCA) (Roggo *et al.*, 2007).

#### 3.6.1 Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

A análise de agrupamento hierárquico consiste no tratamento matemático de cada amostra como um ponto no espaço multidimensional. Quando uma determinada amostra é considerada como um ponto no espaço das variáveis, torna-se possível calcular a distância deste ponto a todos os outros pontos, criando dessa maneira, uma matriz que descreve a proximidade entre todas as amostras estudadas (SOUZA; POPPI, 2012).

Há várias formas de calcular a distância entre dois pontos, a mais conhecida e utilizada é a distância euclidiana. É a aplicação do teorema de Pitágoras,  $d^2 = a^2 + b^2$  em que,  $d$  (que é a distância entre os dois pontos) é a hipotenusa do triângulo retângulo. A matriz de proximidades é construída e baseada nesta matriz, e assim, obtém-se um diagrama de similaridade conhecido como um dendrograma na forma

de árvore. Os agrupamentos hierárquicos são formados aglomerando matematicamente estes pontos no espaço multidimensional (Fontes *et al.*, 2022).

Existem vários algoritmos específicos que representam modos particulares de como os cálculos são feitos no computador que usa as informações da matriz de proximidade para gerar um dendrograma de similaridade. Quanto maior for a proximidade entre as medidas relativas e as amostras, maior será sua similaridade. O dendrograma hierarquiza esta similaridade de modo que seja possível ter uma visão bidimensional da similaridade de todo o conjunto de amostras (Fontes *et al.*, 2022).

### **3.6.2 Análise de componentes principais (PCA)**

A análise de componentes principais (PCA) é uma técnica estatística fundamental que pode ser usada para reduzir o número de variáveis. A PCA consiste em reescrever as variáveis originais em novas variáveis denominadas componentes principais, por meio de uma transformação de coordenadas baseada em Álgebra Linear. A projeção das amostras em um espaço descrito por componentes principais é obtida por uma matriz de transformação e conseqüentemente, são obtidas as direções de maior espalhamento dessas amostras (Kemsley, 1996; Rodrigues *et al.*, 2015; Wu; Massart; De Jong, 1997).

Cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais. As variáveis originais criam por meio de combinações lineares componentes principais, que são obtidos em ordem decrescente de máxima variância. Isto significa que a componente principal 1 contém mais informação estatística do que a componente principal 2 e a componente principal 2, mais que a componente principal 3 e assim por diante. A PCA permite interpretar a distribuição dos pontos em gráficos bidimensionais e tridimensionais, cujos eixos são componentes principais e identificar as contribuições de cada componente principal com maior peso nas informações estatísticas. Portanto, a função das componentes principais é descrever a variação entre os pontos usando o menor número de eixos, representados por componentes principais (Jain; Murty; Flynn, 1999).

### 3.7 ESTADO DA ARTE E APLICAÇÕES DE TÉCNICAS DE FTIR

Inicialmente, a técnica de FTIR tinha sua utilização reduzida basicamente para identificação e quantificação de poucas espécies químicas em casos muito específicos (Balan *et al.*, 2019; Ricachenevsky *et al.*, 2020). Segundo Kumar *et al.* (2018), a crescente aplicação da FTIR pode beneficiar o controle de qualidade, desde a indústria farmacêutica até a petroquímica, pois as análises realizadas com essa técnica são capazes de afirmar a autenticidade, qualidade e características do composto em estudo (Kumar; Bhatia; Rawal, 2018; Ricachenevsky *et al.*, 2020).

Na última década, o crescente desenvolvimento, tanto da instrumentação, quanto dos métodos quimiométricos, posicionou a técnica analítica qualitativa e quantitativa de espectroscopia vibracional no infravermelho, como o método mais difundido para determinar as estruturas químicas de moléculas (Balan *et al.*, 2019).

Atualmente, existem múltiplos bancos de dados de espectros de referência comercial para FTIR, em modos ATR ou transmissão, coletando milhares de espectros de infravermelho em formato digital, criando uma coleção cada vez mais abrangente de espectros de compostos puros, que são fornecidos por empresas ou instituições altamente respeitadas, oferecendo assim, aos seus usuários, total confiança nos resultados obtidos (Balan *et al.*, 2019).

Esses bancos de dados incluem diversos tipos de compostos, incluindo forense, farmacêuticos, aditivos poliméricos, solventes, bioquímicos, aldeídos e cetonas, álcoois e fenóis e assim por diante, sendo que, a escolha de um banco de dados adequado, depende da aplicação, dos acessórios, do instrumento, das condições de análise e da preparação da amostra (Balan *et al.*, 2019).

De acordo com dados da Literatura, até o momento, os sistemas vibracionais já são utilizados na medicina para o diagnóstico de câncer, como tumores de pele, mama, colo do útero, próstata e gastrointestinais, distúrbios neurológicos, diabetes, aterosclerose, hemácias infectadas por malária e para o monitoramento de osteoartrite e artrite reumatoide em modelos celulares, animais ou clínicos (Balan *et al.*, 2019). Portanto, as técnicas de espectroscopia vibracional podem não só fornecer uma "segunda opinião" no diagnóstico, como também, já são capazes de especificar novos meios de se entender a progressão e o risco de doenças (Balan *et al.*, 2019).

Aplicações de técnicas de FTIR em medicamentos, podem ser demonstradas utilizando os dois seguintes estudos:

No estudo realizado por Ricachenevsky *et al.* (2020), utilizando uma técnica de FTIR em amostras de cloridrato de fluoxetina vencidas e não vencidas, foi evidenciado que os medicamentos vencidos, com o passar do tempo, sofrem degradação na sua estrutura por vários fatores, pois foi possível evidenciar que as principais diferenças nos espectros infravermelhos dos medicamentos dentro e fora do prazo de validade foram as intensidades das bandas, uma vez que, foram observadas reduções das absorções em todos os espectros das amostras de cloridrato de fluoxetina vencidas, especialmente nas bandas marcadoras. Demonstrando assim, a viabilidade do uso de técnicas de espectroscopia infravermelha, por meio de cálculos de áreas de banda, para a análise quantitativa e o potencial de sua utilização na quantificação de princípios ativos em medicamentos comerciais (Ricachenevsky *et al.*, 2020).

No estudo realizado por Silva e Sakane (2017), foi possível utilizar o FTIR-UATR para identificar e analisar o princípio ativo de comprimido de clonazepam genéricos e de referência, apesar de serem comprimidos exibem uma pequena concentração de princípio ativo e grande concentração de excipiente, o que pode ser um obstáculo no controle de qualidade de medicamentos, e das alterações nos espectros infravermelhos de cada amostra, que são geradas pela variação de excipientes utilizados em cada tipo de medicamento. Além disso, Silva e Sakane (2017), também conseguiram utilizar a espectroscopia no infravermelho para demonstrar que todos os medicamentos genéricos analisados estavam dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA, comprovando assim, sua qualidade e segurança.

Existem também diversos estudos que utilizam a quimiometria para relacionar os dados espectroscópicos fornecidos pela FTIR, utilizando análises estatísticas multivariadas, como a HCA e a PCA (Rossi; Lima, 2018; Sabin; Ferrão; Furtado, 2004). Esse tipo de técnica pode ser demonstrado, utilizando o estudo realizado por Rossi e Lima (2018), pois nele, confirmou-se que ambas as técnicas multivariadas, HCA e PCA, combinadas com a técnica espectroscópica de FTIR, foram eficazes para avaliação dos fármacos topiramato e levotiroxina industrializados. Corroborando assim, que o FTIR, quando combinado com técnicas quimiométricas, tornou-se em uma importante ferramenta para o controle de qualidade dos fármacos como o topiramato e levotiroxina sódica (Rossi; Lima, 2018).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Espectroscopia vibracional no infravermelho, do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, da Universidade do Vale do Paraíba, na cidade de São José dos Campos, SP, Brasil.

### 4.2 EQUIPAMENTOS E SOFTWARES

- Espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer;
- Acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer;
- Software Spectrum 10.6.0 da PerkinElmer;
- Software OriginPro v. 9.9.0.225;
- Software Minitab v. 21.3.

A Figura 7 mostra o espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer fechado.

Figura 7: Espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer fechado.



Fonte: O Autor.

A Figura 8 mostra o espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer aberto e sem o acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer.

Figura 8: Espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer aberto sem o UATR.



Fonte: O Autor.

A Figura 9 mostra o acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer, sendo importante notar que o acessório UATR da PerkinElmer para o Spectrum Two, possui um braço de pressão (destacado na imagem por um círculo vermelho) que é capaz de medir a força (em newtons) aplicada sobre a amostra que está sendo analisada em tempo real e, portanto, possibilita ainda mais controle sobre as variáveis presentes durante o uso do Spectrum Two.

Figura 9: Acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer.



Fonte: O Autor.

Por fim, a Figura 10 mostra o espectrofotômetro Spectrum Two da PerkinElmer aberto e com o Acessório UATR Diamante/ZnSe (reflexão única) para o Spectrum Two da PerkinElmer.

Figura 10: Espectrofotômetro Spectrum Two aberto com o UATR, sendo ambos da PerkinElmer.



Fonte: O Autor.

### 4.3 MEDICAMENTOS UTILIZADOS

Os medicamentos examinados neste trabalho foram: comprimidos do medicamento de referência do PCT não vencidos e vencidos há 1 mês, há 5 meses, há 2,25 anos e há 4,75 anos; comprimidos de 5 medicamentos genéricos de PCT de diferentes laboratórios; 1 amostra de PCTSE, que foi obtida em uma farmácia de manipulação, propriamente autorizada e certificada. Todos os comprimidos de medicamentos, tanto os de referência, como os dos genéricos, possuíam 750 mg de PCT por comprimido.

#### 4.3.1 Obtenção das amostras

As amostras de medicamentos comerciais (MR e MGs) utilizadas no estudo foram adquiridas, dentro de seus respectivos prazos de validade, em redes farmacêuticas ou em farmácias de manipulação na cidade de São José dos Campos (SP, Brasil) e, exceto as amostras de MR vencido, todas amostras obtidas, ainda estavam dentro de seus respectivos prazos de validade quando foram analisadas.

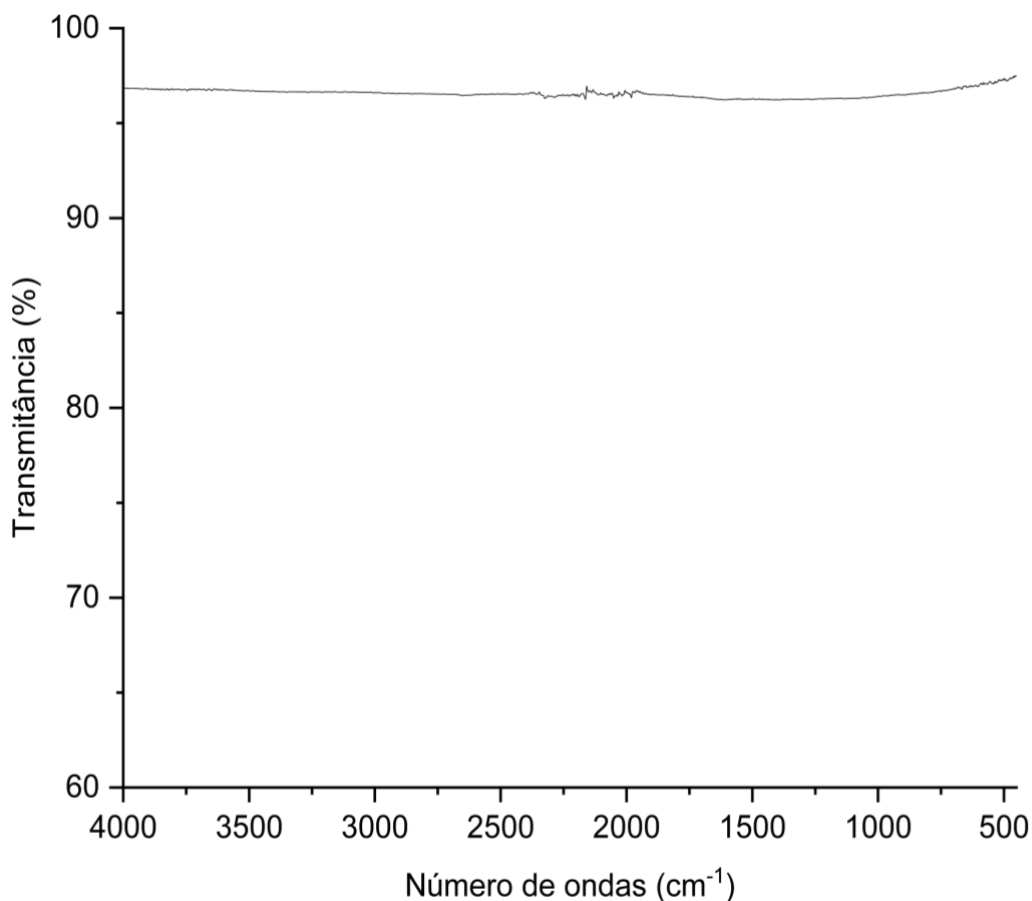
#### 4.3.2 Preparação das amostras para as curvas padrão

Para a construção das curvas padrão desse trabalho, foram preparadas cinco amostras de MR e cinco de PCTSE, sendo que, cada amostra tinha uma quantidade diferente de sua respectiva substância, ambas começando com 5 mg indo até 25 mg, em incrementos de 5 mg. Antes de se obter os seus espectros, as amostras foram, separadamente, maceradas em um pistilo de ágáar juntamente a 50 mg de brometo de potássio, tendo no final um total de dez misturas homogêneas (cinco de MR e cinco de PCTSE).

O brometo de potássio foi adicionado às amostras utilizadas para as curvas padrão, pois é um sal que não possui bandas que causariam interferência nas bandas estudadas, que ficam localizadas, aproximadamente, na região de  $1600\text{ cm}^{-1}$  a  $1400\text{ cm}^{-1}$ , como pode ser observado em seu espectro médio, na Figura 11. Portanto, foi a adição do brometo de potássio, que possibilitou a construção das curvas padrão utilizando FTIR-UATR, uma vez que, pode ser usado para controlar a quantidade de

amostra (MR e PCTSE) que fica depositada sobre o Diamante/ZnSe do UATR com mais precisão, sem causar interferência nas bandas estudadas nas curvas padrão.

Figura 11: Espectro infravermelho médio do brometo de potássio, em transmitância.



Fonte: O Autor

#### 4.4 ANÁLISE DE DADOS

##### 4.4.1 Obtenção dos espectros no infravermelho

Os espectros de absorção no infravermelho, foram todos obtidos na região de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , no modo transmissão, com 32 varreduras por espectro e a uma temperatura controlada de 20°C, sendo que, cada amostra analisada, teve seu espectro obtido seis vezes. O espectrofotômetro utilizado foi o Spectrum Two com Transformada de Fourier (FTIR) com a tecnologia de refletância total atenuada universal (UATR), sendo ambos da fabricante PerkinElmer.

#### **4.4.2 Processamento dos espectros obtidos**

Todos os espectros no infravermelho em transmitância e absorbância de todas as amostras estudadas foram obtidos e preliminarmente processados utilizando o software Spectrum 10.6.0 da PerkinElmer, a partir do qual, foram realizadas as operações aritméticas necessárias para gerar os espectros médios de cada amostra, a correção de linha de base, a suavização espectral (utilizando nove pontos do algoritmo Savitzky Golay), a conversão dos espectros em transmitância para espectros em absorbância e a normalização dos espectros em absorbância, nessa exata ordem.

#### **4.4.3 Análise qualitativa dos espectros processados**

A análise qualitativa dos espectros foi feita por meio de inspeção visual direta dos espectros médios das amostras separados e depois sobrepostos, com o intuito de avaliar se era possível detectar visualmente alguma diferença significativa nos espectros das amostras em transmitância ou em absorbância.

#### **4.4.4 Análise quantitativa dos espectros processados**

Para a análise quantitativa, todos os espectros médios, em transmitância, foram convertidos em espectros em absorbância, pois, de acordo com a Lei de Beer-Lambert, a absorbância é diretamente proporcional à concentração da matéria absorvente e, conseqüentemente, para se realizar uma análise quantitativa, é preciso utilizar-se de espectros em absorbância (Moreira; Santos; Costa Junior, 2016; Stuart, 2004). Em seguida, foram normalizados, considerando-se a intensidade do pico localizado em  $1651\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde ao estiramento da ligação C=O do PCT (Tabela 2), como sendo igual ao valor de uma única unidade e, desta forma, a intensidade relativa de todas as bandas em todos os espectros em absorbância foram calculadas, para que pudessem ser utilizadas nas análises quantitativas. Para a análise quantitativa, com o objetivo de analisar os espectros médios, agora, em absorbância e normalizados, o software OriginPro (versão 9.9.0.225) foi utilizado para

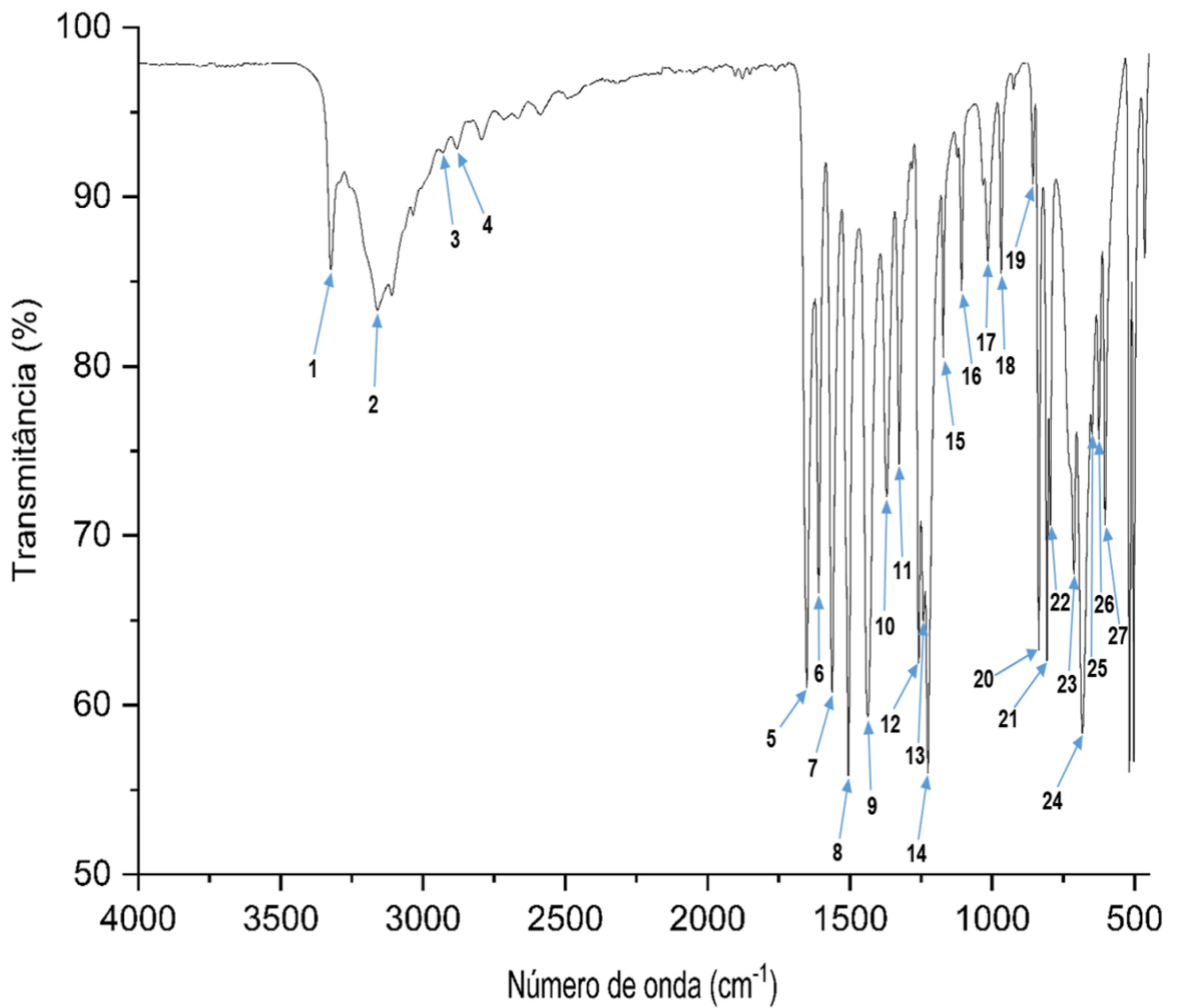
construir as curvas padrão e o software Minitab (versão 21.3) foi utilizado para realizar as técnicas de análise estatísticas multivariada HCA e PCA.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ATRIBUIÇÃO DE BANDAS DO PARACETAMOL

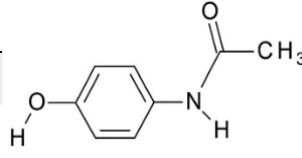
Para iniciar o estudo dos espectros, primeiramente foi obtido o espectro médio do PCTSE, em transmitância (Figura 12), com objetivo de analisar suas bandas e suas respectivas regiões, para que, em seguida, fossem realizadas as devidas atribuições de suas bandas, que foram demonstradas na Tabela 2.

Figura 12: Espectro médio do Paracetamol sem excipientes em transmitância, com as bandas, que foram atribuídas, destacadas.



Fonte: O Autor.

Tabela 2 - Número de onda e descrição aproximada do espectro do Paracetamol.

| Picos | Número de onda (cm <sup>-1</sup> ) | Atribuições aproximadas   |   |
|-------|------------------------------------|---|---|
| 1     | 3322                               | Estiramento da ligação N-H.   |  |
| 2     | 3159                               | Estiramento da ligação O-H.   |   |
| 3     | 2926                               | Estiramento assimétrico da ligação C-H do CH <sub>3</sub> .   |   |
| 4     | 2881                               | Estiramento simétrico da ligação C-H do CH <sub>3</sub> .   |   |
| 5     | 1651                               | Estiramento da ligação C=O.   |   |
| 6     | 1609                               | Estiramento da ligação C=C.   |   |
| 7     | 1523                               | Estiramento da ligação C=C.   |   |
| 8     | 1505                               | Estiramento da ligação C=C.   |   |
| 9     | 1435                               | Estiramento da ligação C=C que está sobreposta a absorção de deformação angular assimétrica CH do CH <sub>3</sub> .                               |   |
| 10    | 1370                               | Deformação angular simétrica CH do CH <sub>3</sub> .  |   |
| 11    | 1327                               | Deformação angular no plano da ligação O-H.   |   |
| 12    | 1258                               | Estiramento da ligação C-O.<br>O modo de vibração da ligação C-O acopla-se à vibração da ligação C-C adjacente e muitas vezes escrita como C-C-O. |   |
| 13    | 1242                               | Estiramento da ligação C-O.   |   |
| 14    | 1225                               | Estiramento da ligação C-O.   |   |
| 15    | 1171                               | Deformação angular no plano da ligação C-H do composto aromático.<br>O número e posição das bandas dependem do padrão de substituição do anel.    |   |
| 16    | 1107                               | Deformação angular no plano da ligação C-H do composto aromático.   |   |
| 17    | 1015                               | Deformação angular no plano da ligação C-H do composto aromático.   |   |
| 18    | 968                                | Deformação angular fora do plano da ligação C-H.  |   |
| 19    | 857                                | Deformação angular fora do plano da ligação C-H.  |   |
| 20    | 836                                | Deformação angular fora do plano da ligação C-H.  |   |
| 21    | 807                                | Deformação angular fora do plano da ligação C-H.  |   |
| 22    | 796                                | Deformação angular fora do plano da ligação C-H.  |   |
| 23    | 712                                | Deformação angular fora do plano da ligação O-H.  |   |
| 24    | 682                                | Deformação angular fora do plano da ligação O-H.  |   |
| 25    | 649                                | Deformação angular fora do plano da ligação O-H.  |   |
| 26    | 624                                | Deformação do anel ( <i>ring deformation</i> ).   |   |
| 27    | 603                                | Deformação do anel ( <i>ring deformation</i> ).   |   |

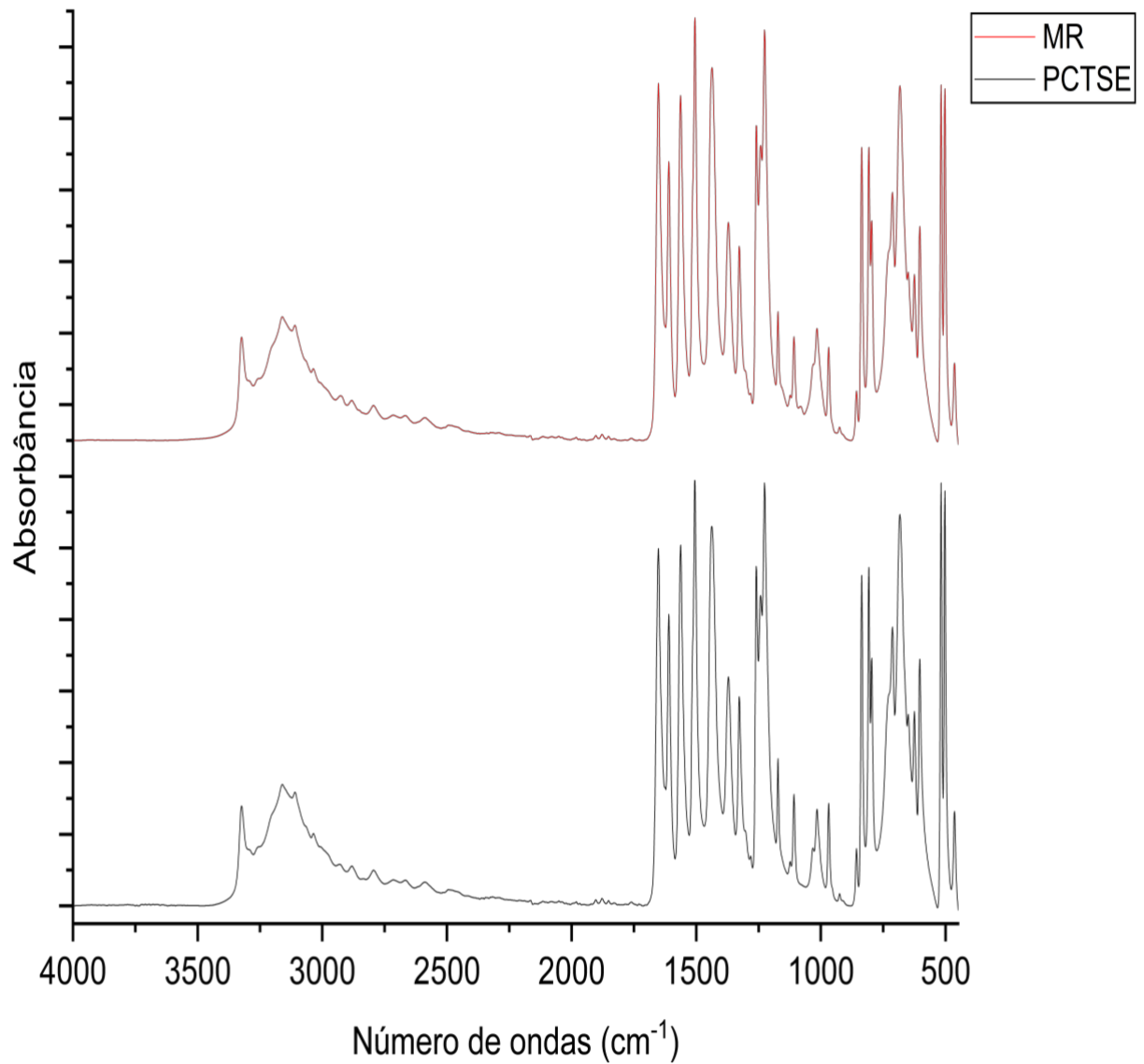
Fonte: Amado; Azevedo; Ribeiro-Claro, 2017; Habiba *et al.*, 2021; Zapata *et al.*, 2021.

## 5.2 CURVA PADRÃO

### 5.2.1 Seleção de possíveis bandas analíticas

Para seleccionar possíveis bandas analíticas, que sirvam tanto para o PCTSE, como para o MR, os espectros, em absorvância e normalizados, de ambos, foram comparados, visualmente, na Figura 13.

Figura 13: Comparação visual dos espectros em absorvância do medicamento de referência (MR) e do Paracetamol sem excipientes (PCTSE).

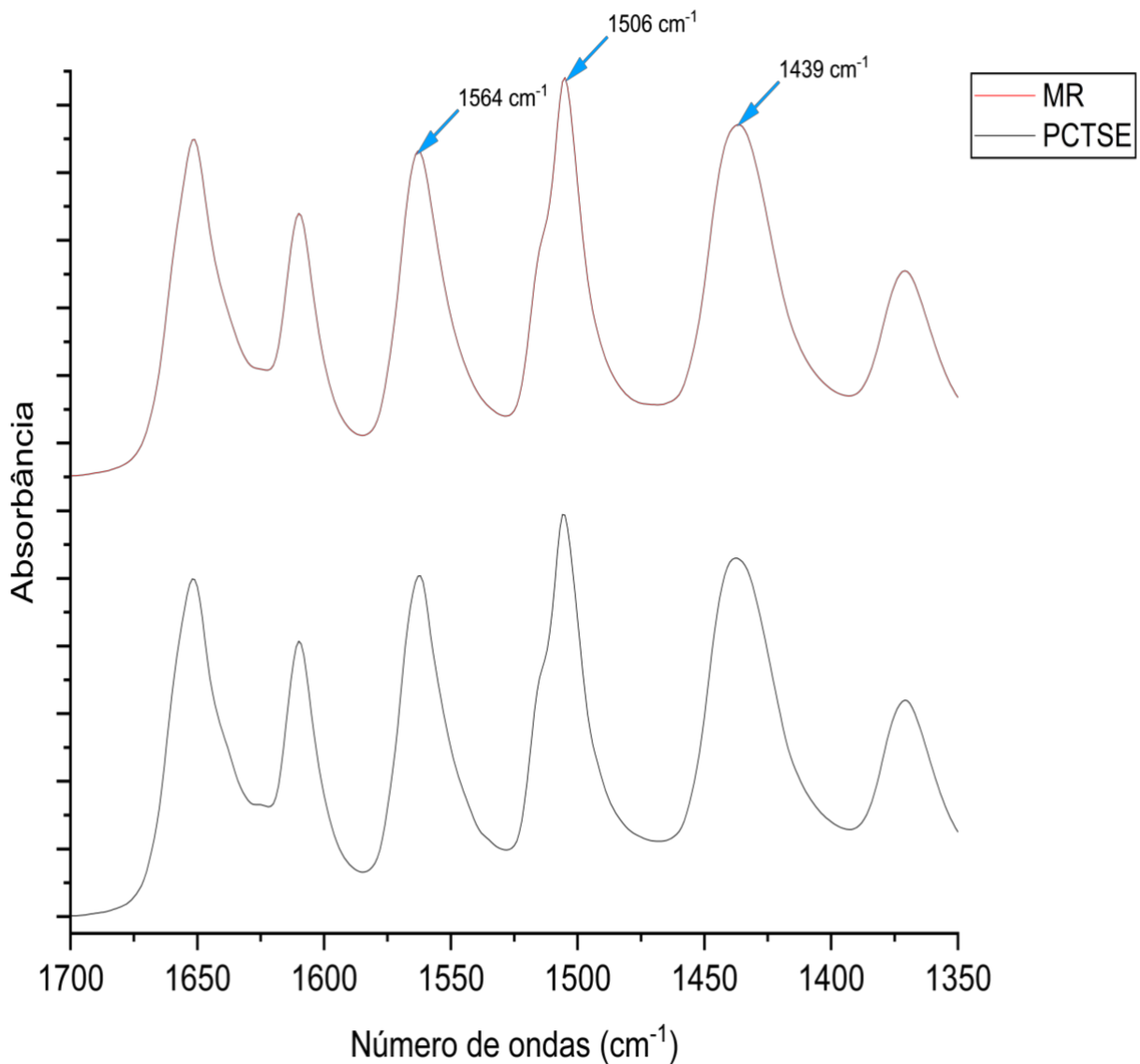


Fonte: O Autor.

Pode-se observar que, pelo menos, por meio de uma comparação visual, o espectro do MR e o do PCTSE, são semelhantes o suficiente, para que possam ter bandas analíticas, capazes de serem utilizadas em ambos, simultaneamente.

Baseando-se na comparação visual realizada na Figura 13, as três bandas seguintes foram pré-selecionadas como possíveis bandas analíticas:  $1564\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  e  $1439\text{ cm}^{-1}$ , sendo que, as três possíveis bandas analíticas foram comparadas, em maior detalhe, entre o espectro do MR e o do PCTSE, na Figura 14.

Figura 14: Comparação das bandas de  $1564\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  e  $1439\text{ cm}^{-1}$ , nos espectros do medicamento de referência (MR) e no do Paracetamol sem excipientes (PCTSE).



Fonte: O Autor.

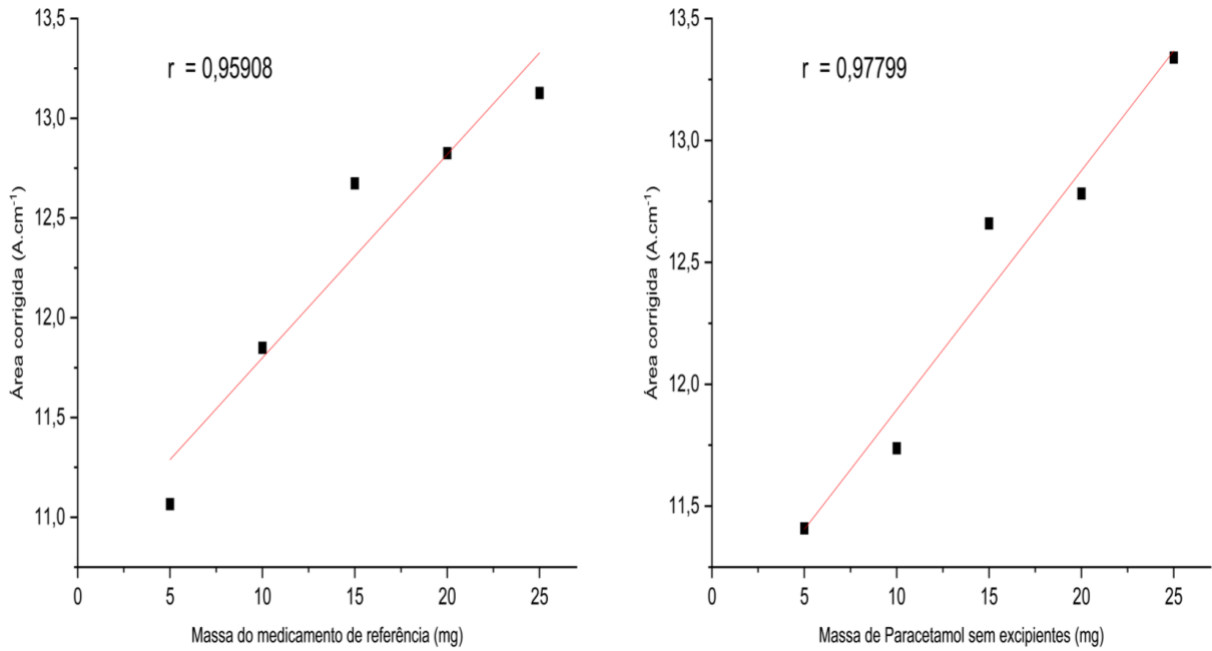
Como se pode observar na Figura 14, as bandas  $1564\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  e  $1439\text{ cm}^{-1}$ , puderam ser pré-selecionadas como possíveis bandas analíticas, pois são intensas, livres de interferências de bandas vizinhas e, não apresentaram, visualmente, nenhuma variação significativa no seu contorno de banda ou na sua posição.

### **5.2.2 Construção e comparação das curvas padrão**

A construção das curvas padrão, também conhecidas como curvas de calibração, foi de grande importância para este trabalho, pois tornaram possível determinar a concentração de uma substância dentro de uma amostra, uma vez que, conseguiram relacionar, a área de bandas analíticas de espectros em absorbância (e somente a de espectros em absorbância, pois como já foi mencionado, de acordo com a Lei de Beer-Lambert, a concentração de um analito absorvente está relacionada linearmente à absorbância), com as concentrações de suas respectivas substâncias (Moreira; Santos; Costa Junior, 2016; Stuart, 2004). Portanto, pode-se dizer, que uma curva padrão é uma interface gráfica entre os valores de absorbância e os de concentração, pois seus resultados demonstram a formação de uma “reta” que serve para ilustrar a linearidade entre ambos.

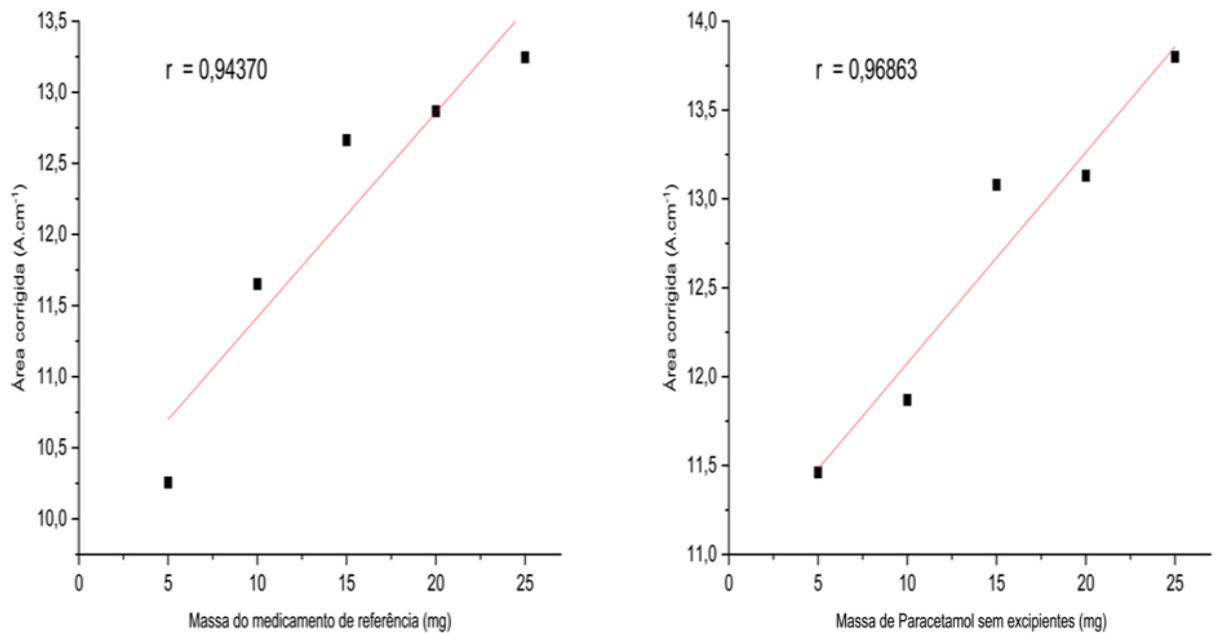
Duas curvas padrão, uma utilizando o MR e a outra PCTSE, foram construídas para cada uma das três possíveis bandas analíticas,  $1564\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  e  $1439\text{ cm}^{-1}$ , com o objetivo de determinar qual das bandas apresenta a maior linearidade nas duas curvas padrão, simultaneamente. As curvas padrão para as bandas  $1564\text{ cm}^{-1}$ ,  $1506\text{ cm}^{-1}$  e  $1439\text{ cm}^{-1}$ , estão apresentadas nas Figuras 15, 16 e 17, respectivamente.

Figura 15: Curvas padrão para a banda  $1564\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente.



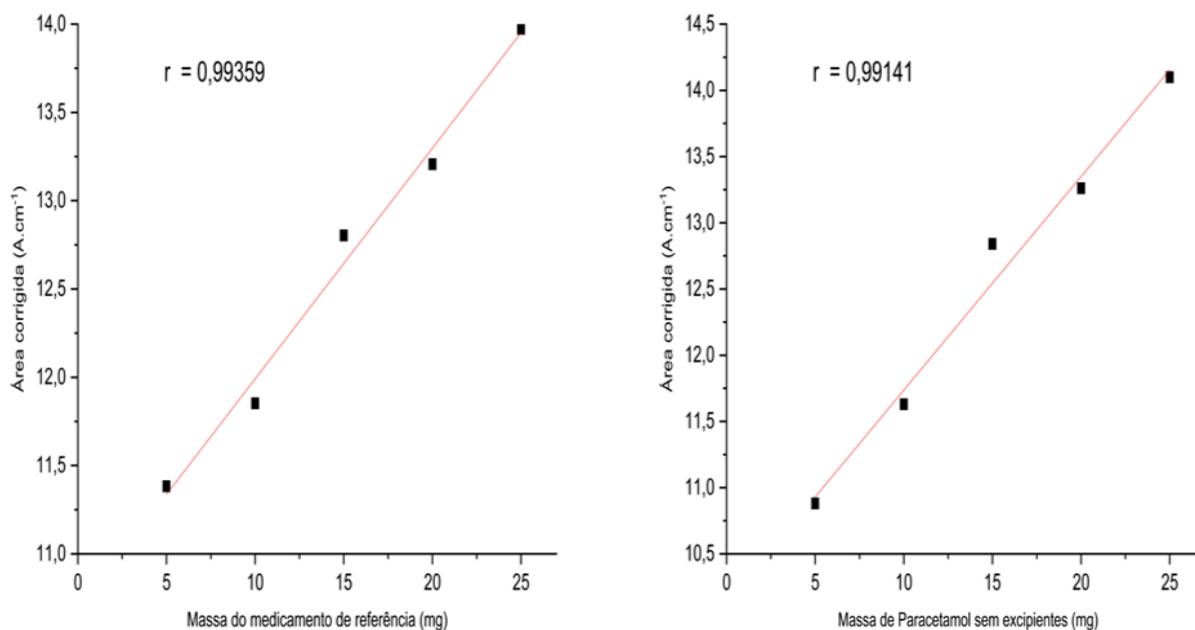
Fonte: O Autor.

Figura 16: Curvas padrão para a banda  $1506\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente.



Fonte: O Autor.

Figura 17: Curvas padrão para a banda  $1439\text{ cm}^{-1}$ , no medicamento de referência e no Paracetamol sem excipientes, respectivamente.



Fonte: O Autor.

O intervalo de quantidade de amostra, utilizado para a construção das curvas padrão, foi de 5 a 25 mg, para o MR e o PCTSE.

Antes de analisar as curvas padrão (Figuras 15, 16 e 17), é preciso considerar se o coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) (definido no intervalo de -1 a 1) possui um sinal negativo, os valores analisados são inversamente proporcionais e, se o sinal for positivo, os valores são diretamente proporcionais, além disso, quanto mais próximo for o valor de “ $r$ ” de -1 ou de 1, maior será a força da relação entre as valores analisados (Oliveira; Belchior, 2021).

Assim, ciente das informações previamente mencionadas a respeito do coeficiente de correlação de Pearson, os valores de “ $r$ ”, de 0,99359 e 0,99141, apresentados nas curvas padrão da banda  $1439\text{ cm}^{-1}$  (Figura 17), para o MR e PCTSE, respectivamente, indicam que existe uma forte correlação, diretamente proporcional, entre o modo vibracional da banda em  $1439\text{ cm}^{-1}$  e a quantidade de PCT presente nas amostras do MR e do PCTSE.

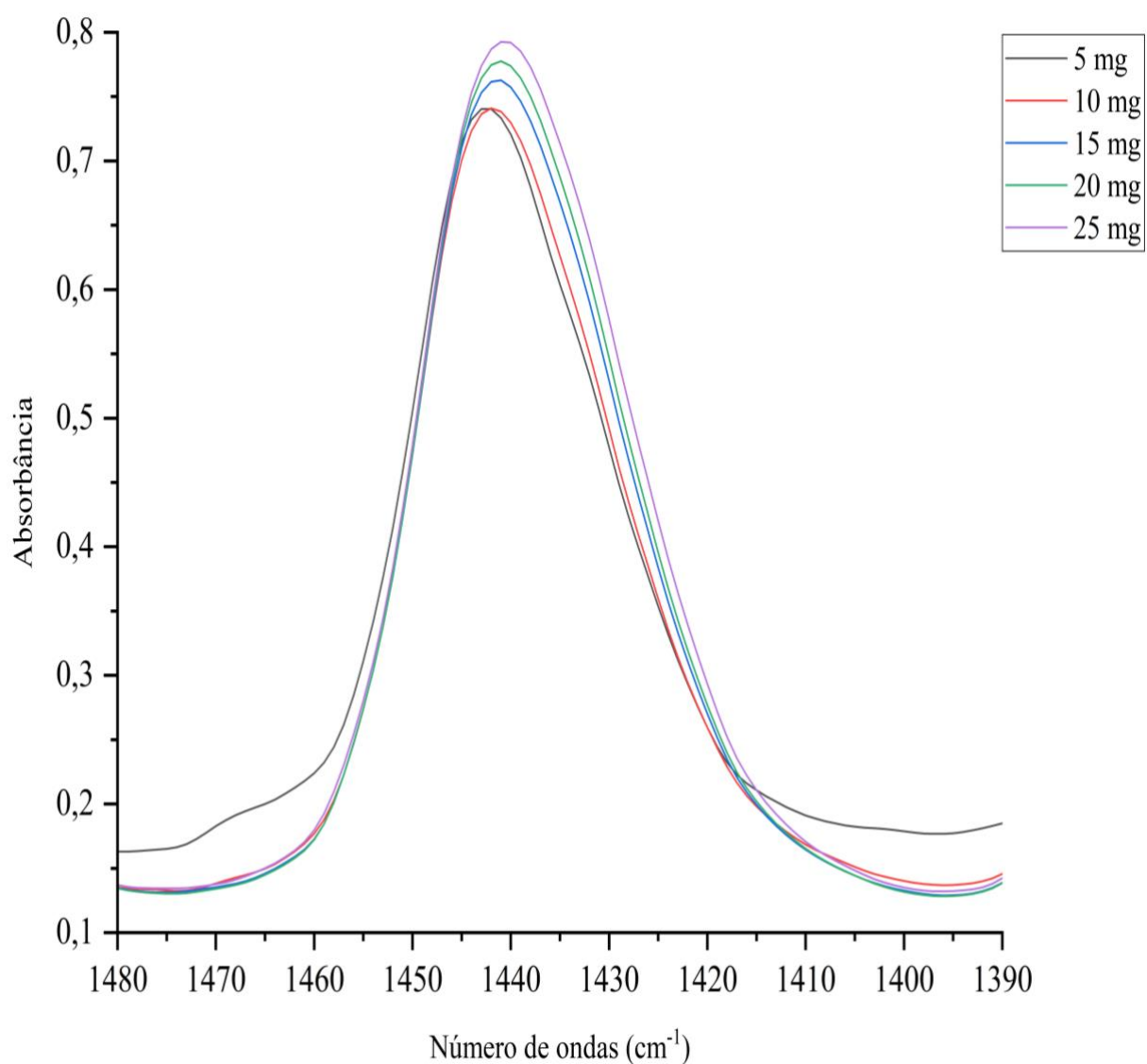
Portanto, os valores de “ $r$ ”, da Figura 17, justificam a escolha da banda de  $1439\text{ cm}^{-1}$  como a banda analítica desse trabalho, pois pode ser utilizada para a quantificação do PCT dentro do MR e demonstra que o FTIR-UATR é capaz de quantificar o PCT sem precisar extraí-lo do MR, o que diminui, em relação a outros

métodos, como o GC e o HPLC , não só os gastos econômicos, energéticos e materiais, mas também, a quantidade de tempo necessário e de resíduos gerados pela análise desse tipo de amostra (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021).

É importante também notar que, entre todas as bandas detectadas, apenas três foram pré-selecionadas como possíveis bandas analíticas e somente uma foi escolhida e efetivamente utilizada como uma, demonstrando que as técnicas espectroscópicas no infravermelho são técnicas seletivas, já que existem vários critérios e processos, para se selecionar a banda mais apta a ser utilizada como uma banda analítica.

Por fim, para demonstrar visualmente a correlação entre a área da banda  $1439\text{ cm}^{-1}$  e a quantidade de PCT no MR, a Figura 18 mostra uma sobreposição dos espectros (na região de  $1480$  a  $1390\text{ cm}^{-1}$ ) das amostras com as cinco diferentes quantidades de MR, em miligramas (mg).

Figura 18: Sobreposição dos espectros em absorbância normalizados na região de 1480 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , com diferentes quantidades de medicamento de referência.

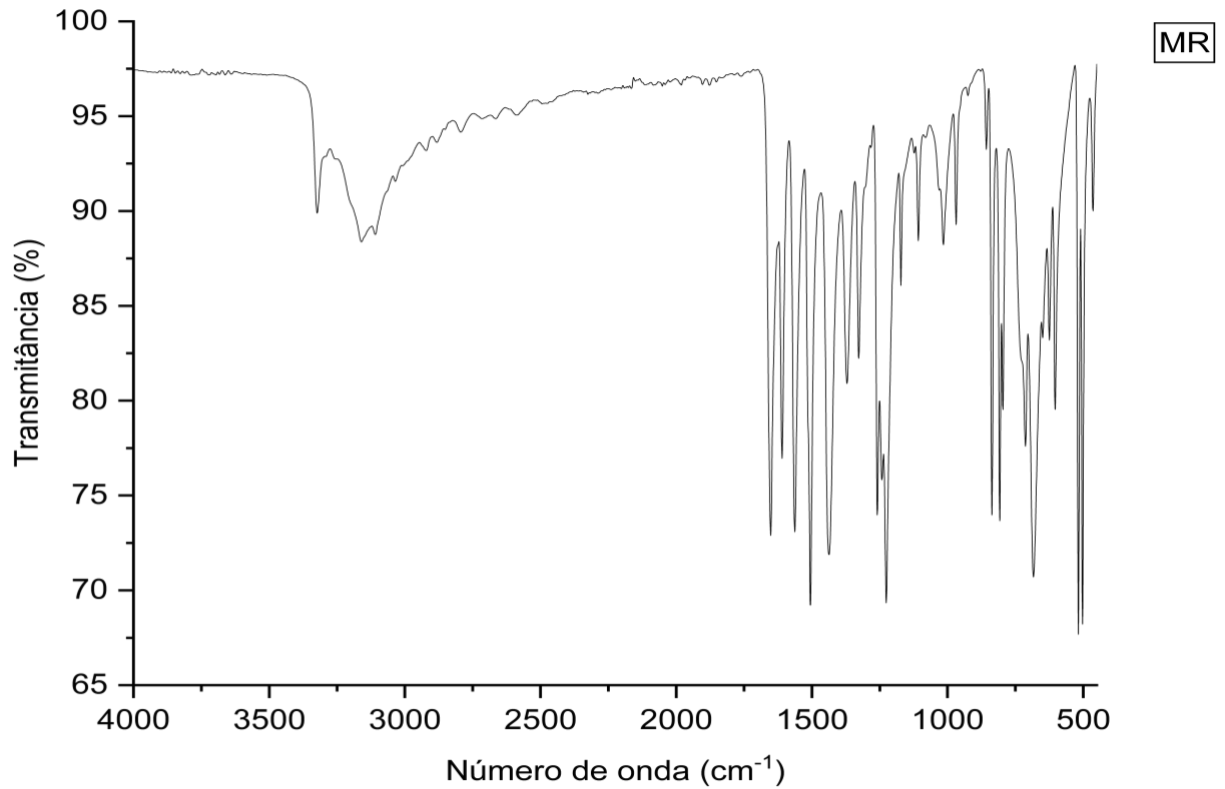


Fonte: O Autor.

### 5.2.3 Obtenção e comparação visual dos espectros infravermelhos do medicamento de referência e dos genéricos

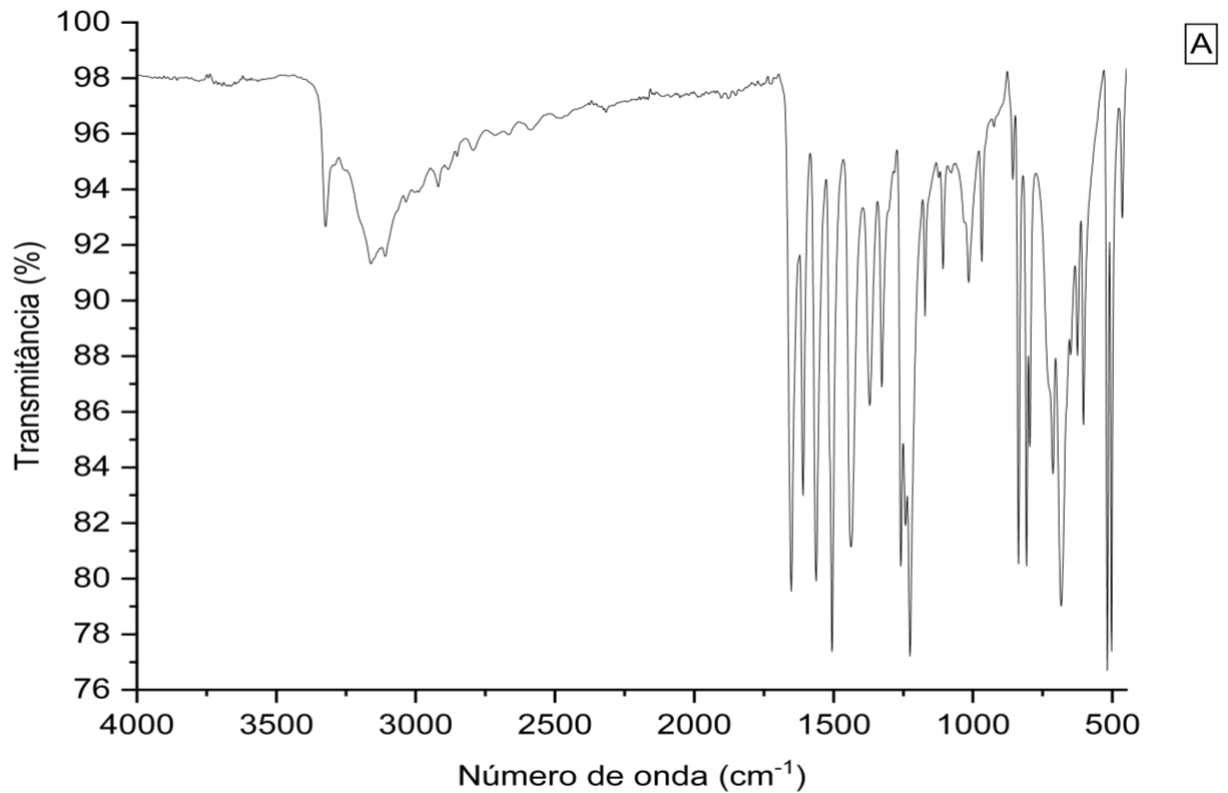
Para realizar uma comparação visual dos espectros do MR e dos MGs, seus espectros médios, em transmitância, foram obtidos e apresentados nas Figuras 19 a 24, sendo que, os medicamentos genéricos, a partir deste ponto, foram divididos nos grupos: "A", "B", "C", "D" e "E"; cuja letra representa uma marca diferente de MG.

Figura 19: Espectro médio do medicamento de referência (MR) em transmitância.



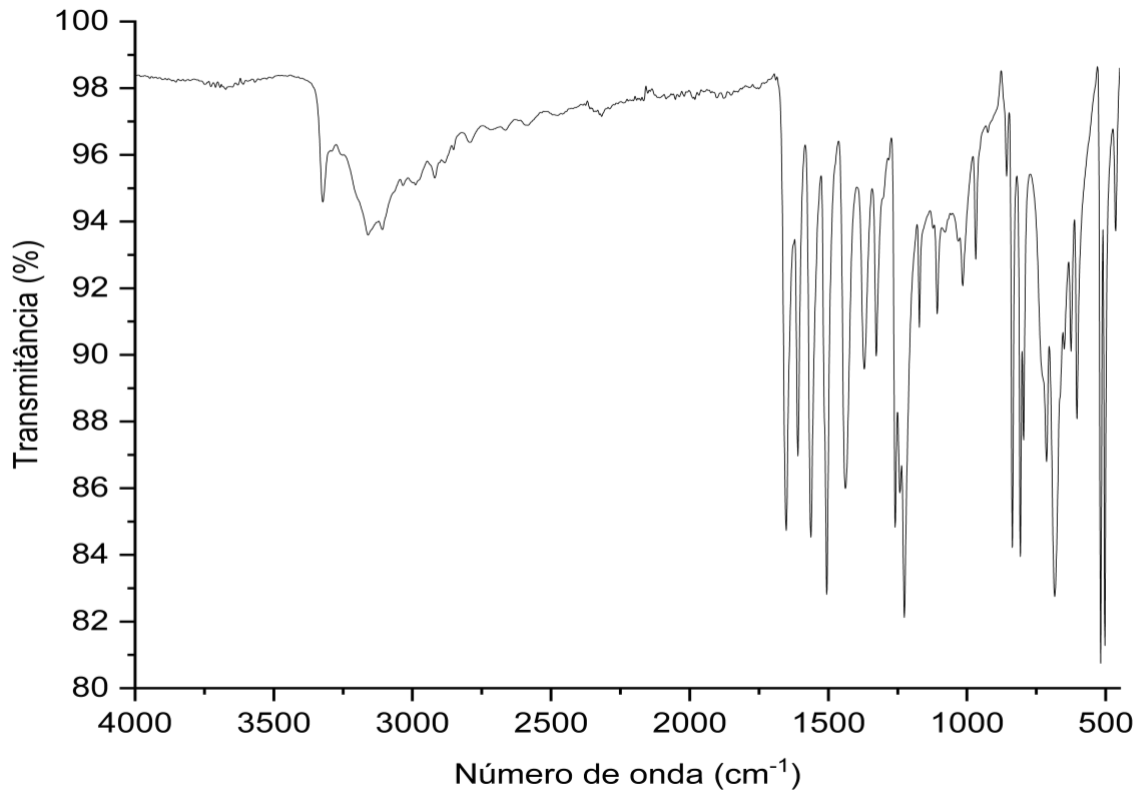
Fonte: O Autor

Figura 20: Espectro médio do medicamento genérico "A" em transmitância.



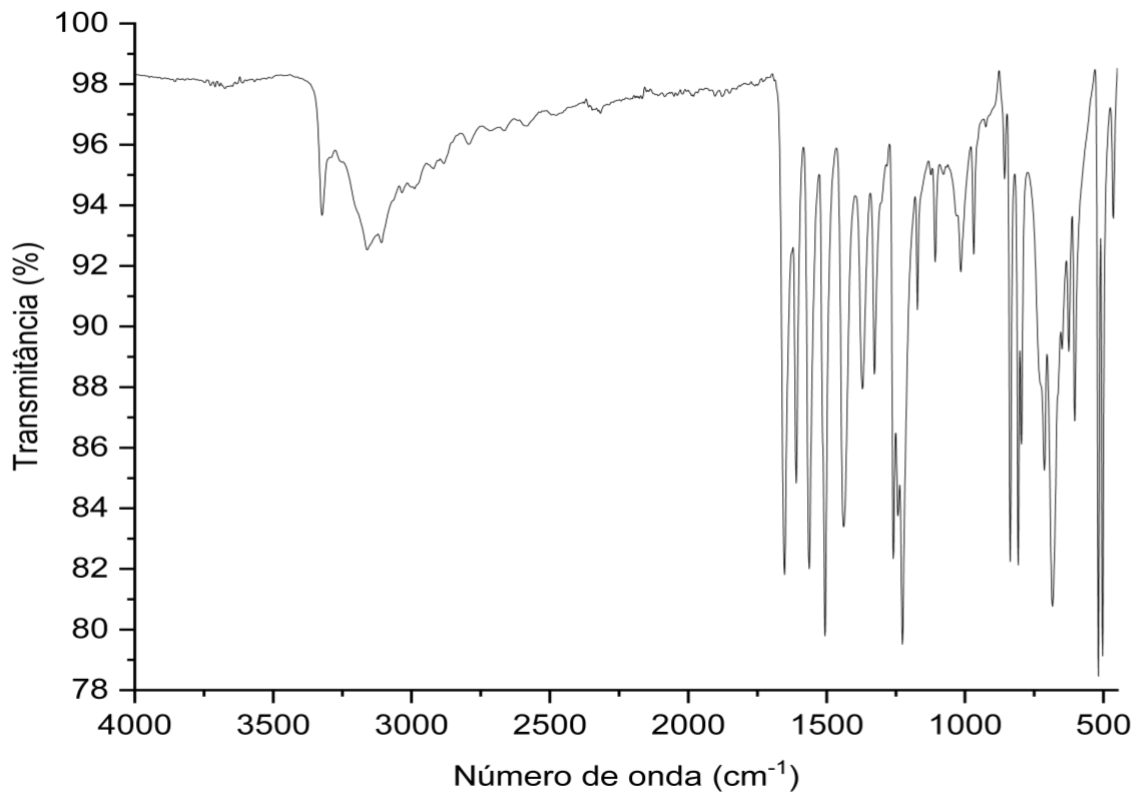
Fonte: O Autor

Figura 21: Espectro médio do medicamento genérico "B" em transmitância.



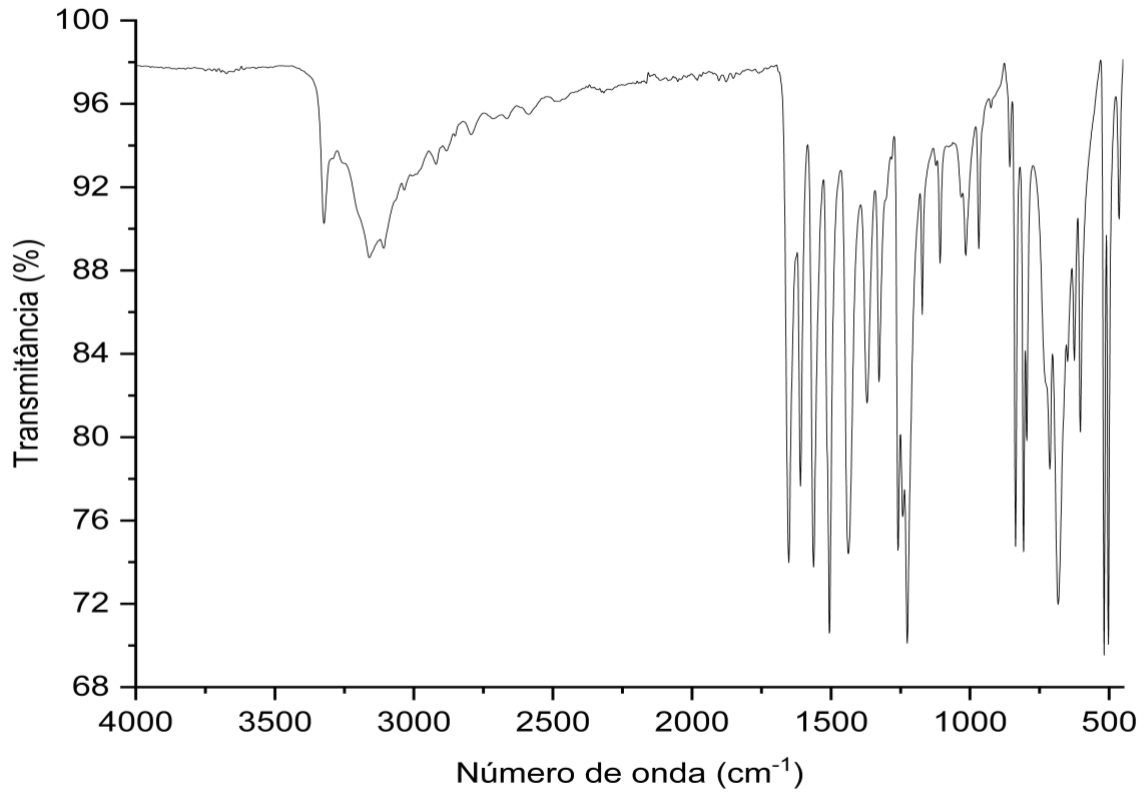
B

Figura 22: Espectro médio do medicamento genérico "C" em transmitância.



C

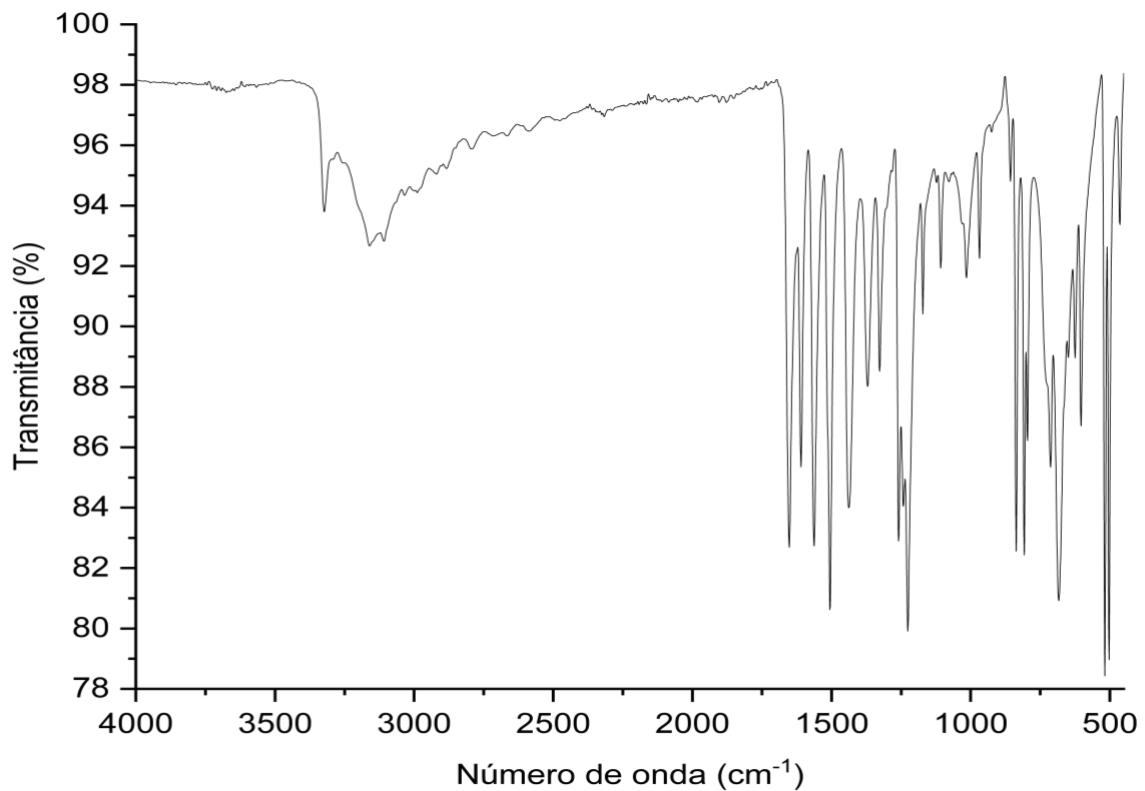
Figura 23: Espectro médio do medicamento genérico "D" em transmitância.



D

Fonte: O Autor

Figura 24: Espectro médio do medicamento genérico "E" em transmitância.



E

Fonte: O Autor

Após comparar visualmente os espectros do MR e dos MGs (Figuras 19 a 24), pode-se notar que os espectros de todas as amostras dos medicamentos comerciais possuem números de picos e contornos de bandas semelhantes, porém, observam-se algumas diferenças, como por exemplo, o deslocamentos e/ou inversão de intensidades das bandas. Portanto, torna-se difícil discutir as semelhanças e variações entre o espectro do MR e os dos MGs, utilizando apenas uma comparação visual, sendo necessário recorrer a cálculos matemáticos e estatísticos, como as análises estatísticas multivariadas, como a HCA e a PCA, para que se possa discutir o grau de similaridade e determinar se há realmente alguma diferença significativa, entre os espectros analisados.

Destaca-se que durante todo o desenvolvimento deste trabalho, em comparação a outras técnicas de análise mais trabalhosas, como o HPLC ou GC, o processo de aquisição de todos os espectros, necessitou apenas de uma pequena quantidade de amostra, e foi relativamente mais rápido, prático, econômico e ecologicamente viável, do que suas alternativas (Bunaciu; Aboul-Enein, 2021).

### 5.3 UTILIZAÇÃO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS NOS ESPECTROS INFRAVERMELHOS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA E DOS GENÉRICOS

#### 5.3.1 Análises de agrupamentos hierárquicos dos espectros do MR e dos MGs

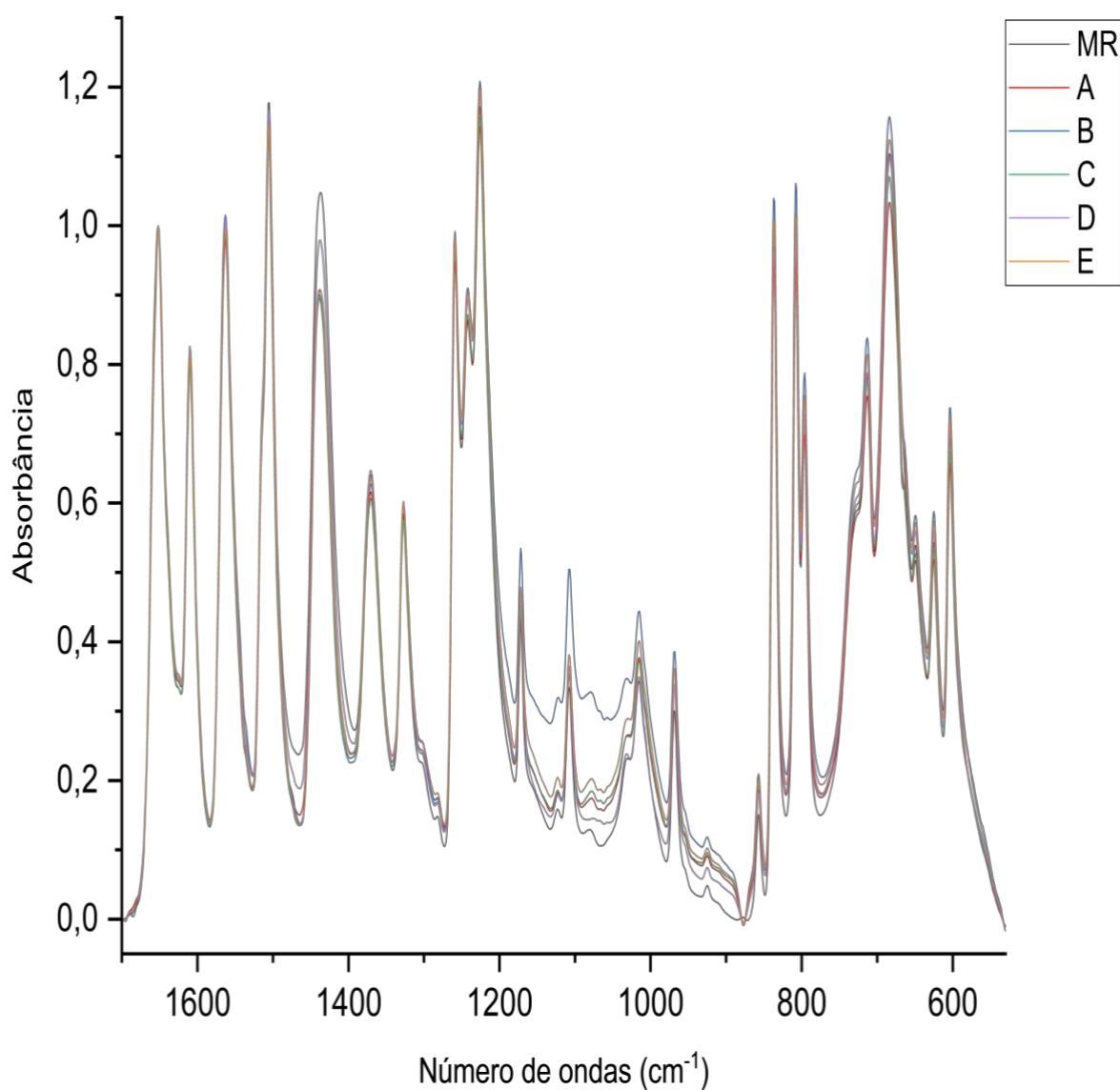
Para as análises de agrupamentos hierárquicos (HCA), foram utilizados cinco espectros de MR e cinco para cada um dos cinco MGs (“A”, “B”, “C”, “D” e “E”), sendo que, todos os espectros analisados já estavam em absorbância e normalizados.

Com o objetivo de utilizar a HCA, para analisar as possíveis interferências, que podem ser causadas pelas variações de quantidade e/ou tipos de excipientes, entre as amostras dos medicamentos comerciais, duas regiões dos espectros infravermelhos das amostras foram selecionadas. A primeira região selecionada, foi a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , que é considerada como a “impressão digital” das amostras, pois a absorção nesta região, é associada a vários modos vibracionais das ligações entre carbono, oxigênio e hidrogênio (C=O, C=C, C-C, C-H, C-O e O-H), conforme foi apresentado na Tabela 2, além disso, a região da “impressão digital” também contém todas as três possíveis bandas analíticas. A segunda região

selecionada, foi a região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , pois contém somente a banda analítica do PCT, que precisa ser analisada separadamente, por causa de sua importância ao método desenvolvido neste trabalho.

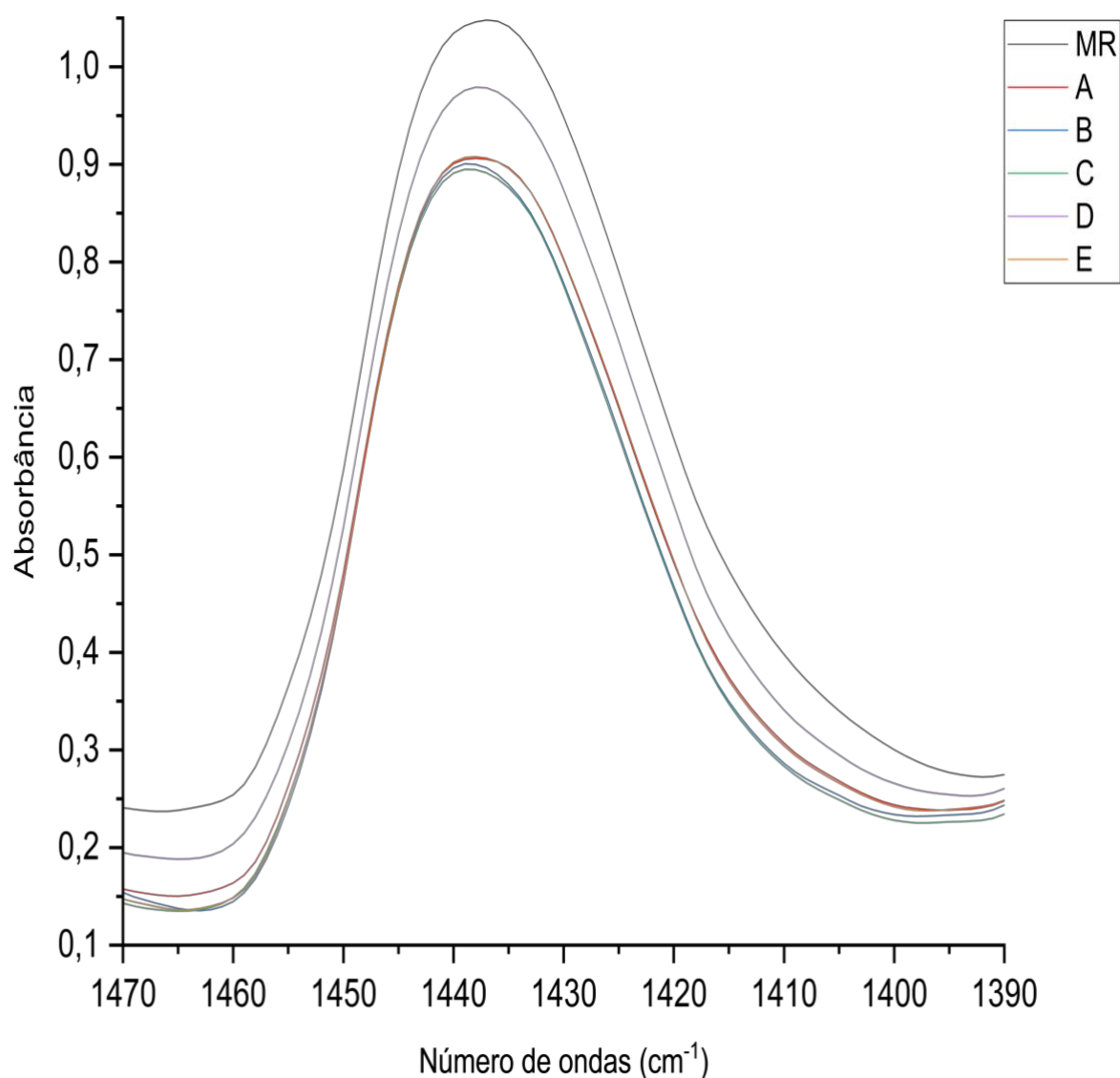
Portanto, essas duas regiões foram escolhidas, pois a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde a de impressão digital do composto, e a região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , contém as três possíveis bandas analíticas, sendo que, ambas as regiões estão representadas, utilizando os espectros médios do MR e dos MGs, nas Figuras 25 e 26, respectivamente.

Figura 25: A região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros médios do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E".



Fonte: O Autor.

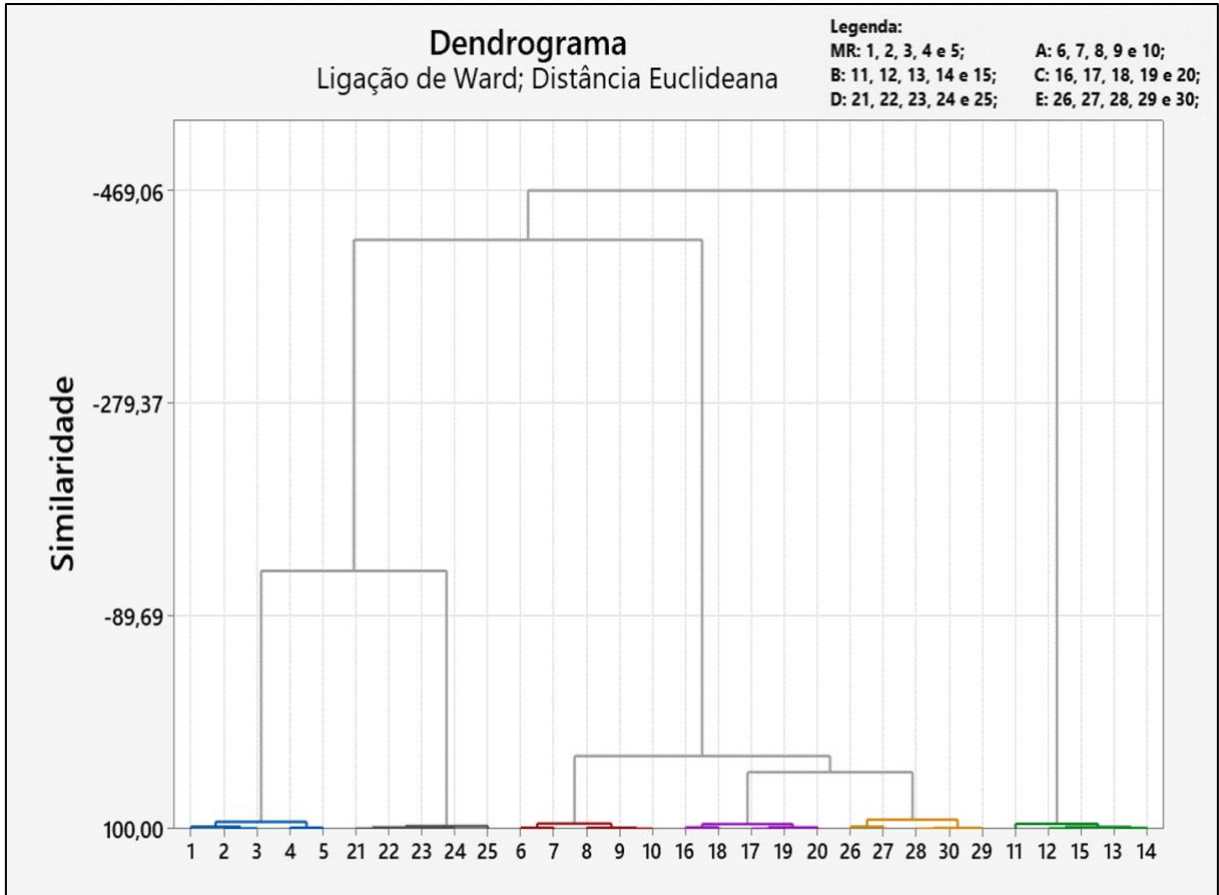
Figura 26: A região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros médios do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E".



Fonte: O Autor.

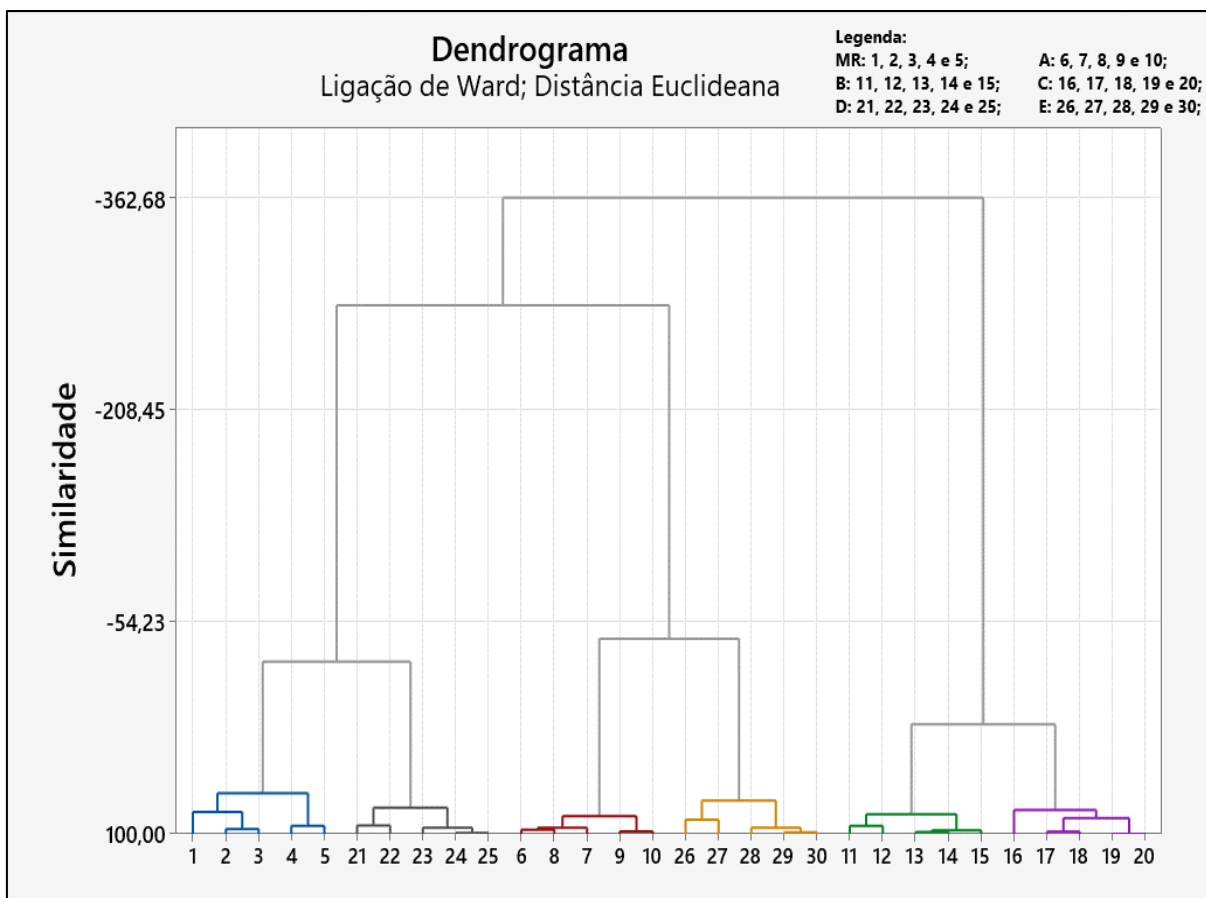
As comparações, utilizando a HCA, das regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros, em absorvância e normalizados, do MR e dos MGs, formaram os dendrogramas apresentados nas Figuras 27 e 28, respectivamente.

Figura 27: Dendrograma da região 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos "A", "B", "C", "D" e "E".



Em um dendrograma, como o na Figura 27, as linhas mais próximas ao eixo horizontal possuem um maior grau de similaridade entre os espectros em suas pontas e um grau de similaridade com um valor negativo, indica que não há semelhança entre os espectros ou seus respectivos agrupamentos, sendo assim, o dendrograma na Figura 27, mostra uma separação perfeita dos espectros, pois apresenta agrupamentos compostos por espectros de um único medicamento, sendo o maior grau de similaridade, entre os agrupamentos de medicamentos diferentes, o dos MGs "C" e "E", que é de 49,35%.

Figura 28: Dendrograma da região 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.



Fonte: O Autor.

No dendrograma apresentado na Figura 28, mais uma vez, temos uma separação perfeita dos espectros, sendo o maior grau de similaridade entre os agrupamentos de medicamentos diferentes, é o entre os MGs “B” e “C”, com o valor de 20,37%.

Lembrando que cada MG pode utilizar quantidades e tipos de excipientes diferentes, dos que são utilizados em seu MR ou em outros MGs, pode-se sugerir, que tais variações nos excipientes presentes em cada um dos medicamentos analisados, geraram alterações significativas em seus respectivos espectros, sendo assim, um dos principais motivos das separações perfeitas observadas nas Figuras 27 e 28 (Brasil, 1999).

Além disso, como o volume 2 da sexta edição da Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2019), permite que todos os medicamentos que contenham PCT, na forma de comprimido (inclusive os medicamentos de referência), contenham uma variação de no máximo  $\pm 5\%$  da quantidade de PCT em cada comprimido, em relação a

quantidade indicada na caixa do medicamento, a alteração e diminuição geral de todos os graus de similaridade, observados no dendrograma da região da banda analítica (Figura 28), torna-se mais fácil de se compreender, uma vez que, além das variações dos excipientes e, conseqüentemente, das suas possíveis interações com o PCT, pode-se ter também, a presença de uma variação de no máximo  $\pm 5\%$  da quantidade de PCT em cada um dos medicamentos analisados (inclusive no MR).

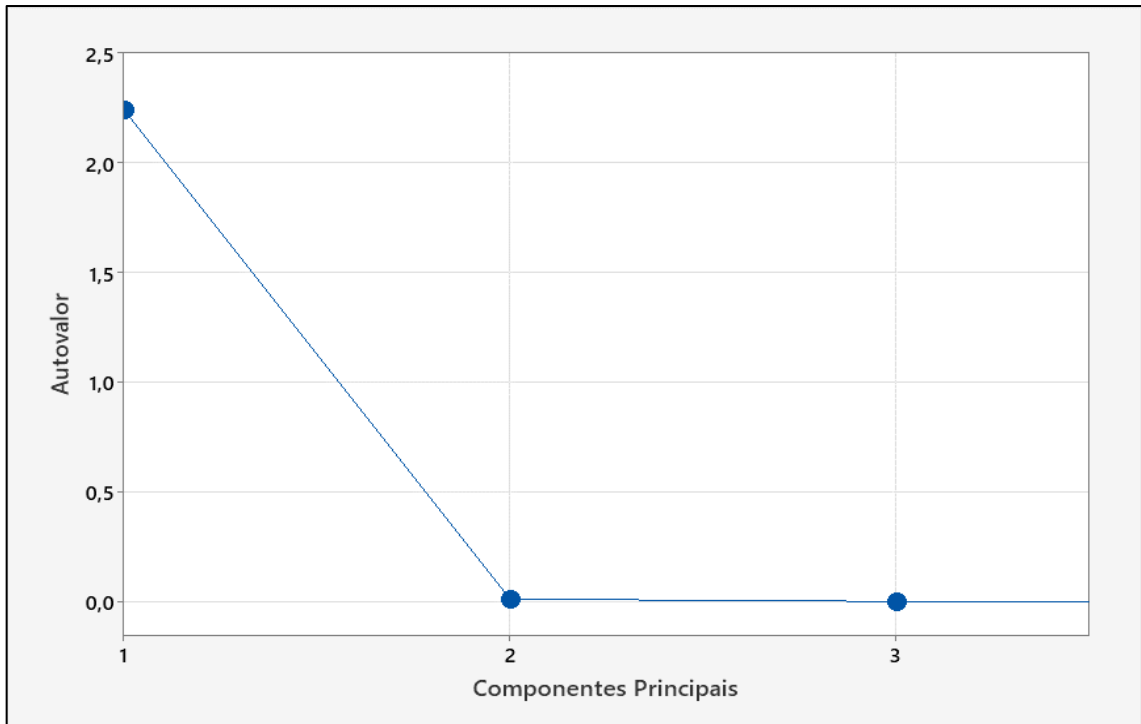
Portanto, baseando-se nas informações apresentadas nos dendrogramas, nas Figuras 27 e 28, conclui-se que, tanto na região da banda analítica, como na da impressão digital, os espectros dos medicamentos comerciais analisados, são matematicamente diferentes. Sendo assim, como nas regiões de  $1700$  a  $530\text{ cm}^{-1}$  e de  $1470$  a  $1390\text{ cm}^{-1}$ , os maiores graus de similaridade entre o agrupamento do MR e um agrupamento de um MG, foram de  $(-130,09\%)$  e de  $(-25,18\%)$ , respectivamente, e tendo em mente, que um grau de similaridade com um valor negativo, indica que não há semelhança entre os espectros ou seus respectivos agrupamentos, pode-se demonstrar com sucesso a capacidade do FTIR-UATR, com o auxílio da HCA, de detectar variações nos excipientes e, conseqüentemente, nas interações entre os excipientes e/ou com o PCT, em cada uma das amostras analisadas.

### **5.3.2 Análises de componentes principais dos espectros do MR e dos MGs**

Para corroborar os resultados obtidos pela HCA, a análise de componentes principais (PCA), também foi utilizada para analisar os mesmos espectros (que já estão em absorbância e normalizados), do MR e dos MGs, nas mesmas regiões de  $1700$  a  $530\text{ cm}^{-1}$  e de  $1470$  a  $1390\text{ cm}^{-1}$ .

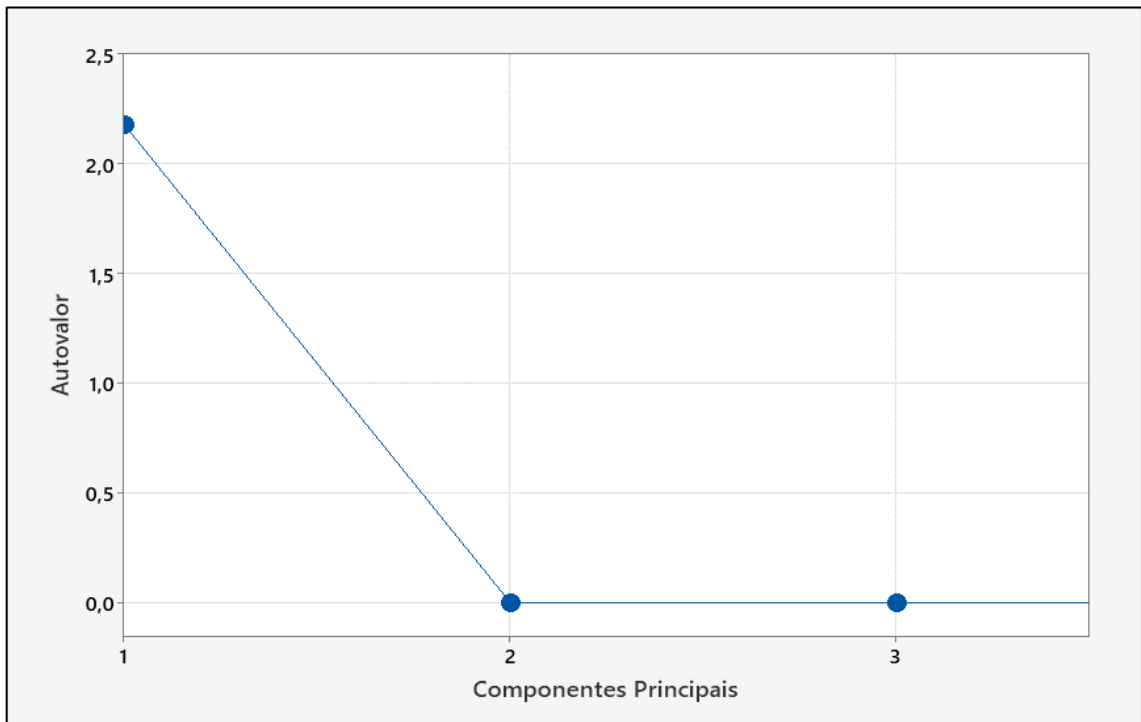
Os cálculos de componentes principais mostraram que, para a região de  $1700$  a  $530\text{ cm}^{-1}$ , o primeiro componente contribuiu com  $99,34\%$ , o segundo,  $0,57\%$  e o terceiro,  $0,09\%$ , e para a região de  $1470$  a  $1390\text{ cm}^{-1}$ , o primeiro componente contribuiu com  $99,87\%$ , o segundo,  $0,12\%$  e o terceiro,  $0,01\%$ , sendo que, essas informações estão demonstradas no *Scree Plot*, obtido para de cada região, pela PCA, nas Figuras 29 e 30, respectivamente.

Figura 29: *Scree Plot* obtido pela PCA da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência e dos genéricos.



Fonte: O Autor.

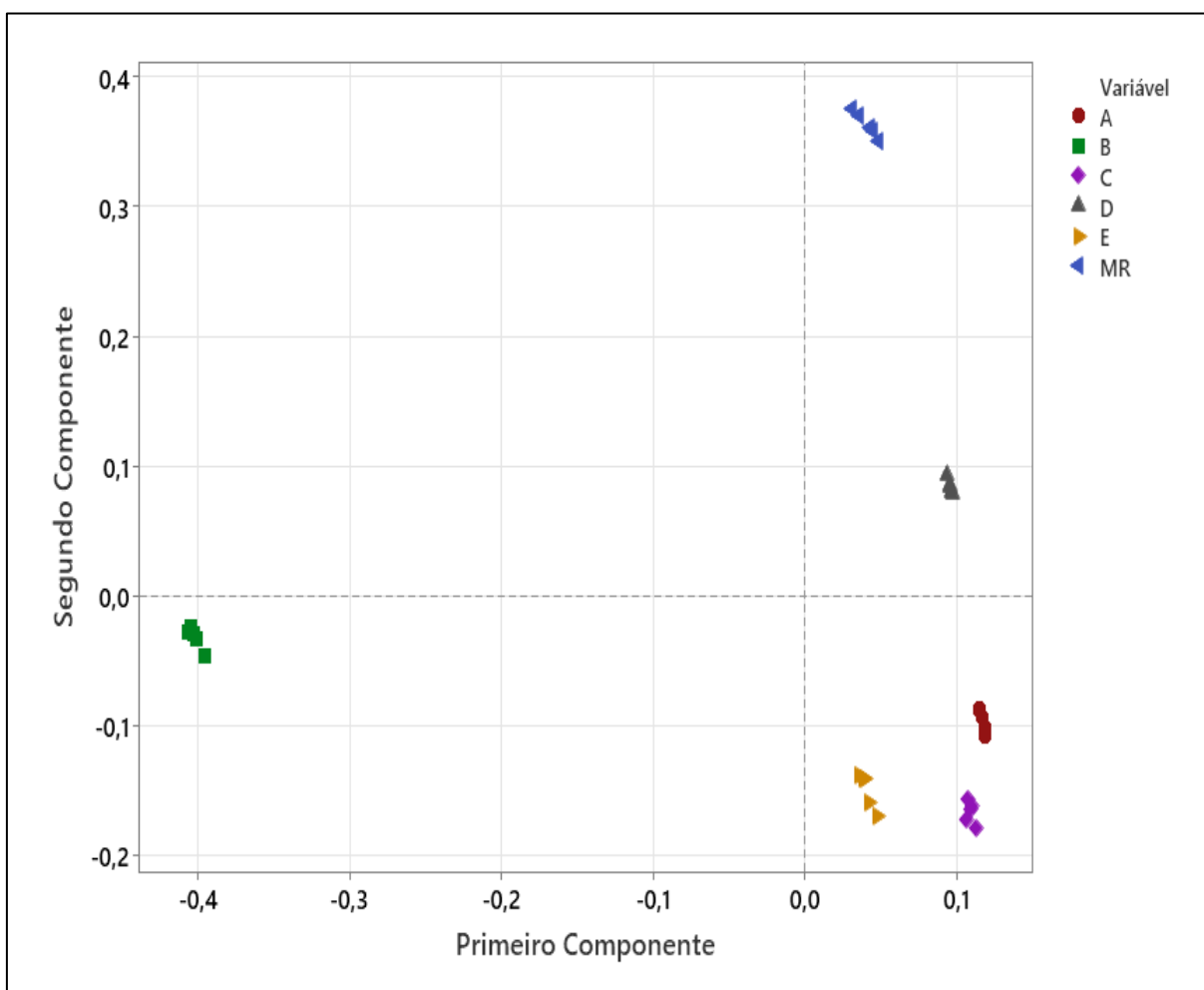
Figura 30: *Scree Plot* obtido pela PCA da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência e dos genéricos.



Fonte: O Autor.

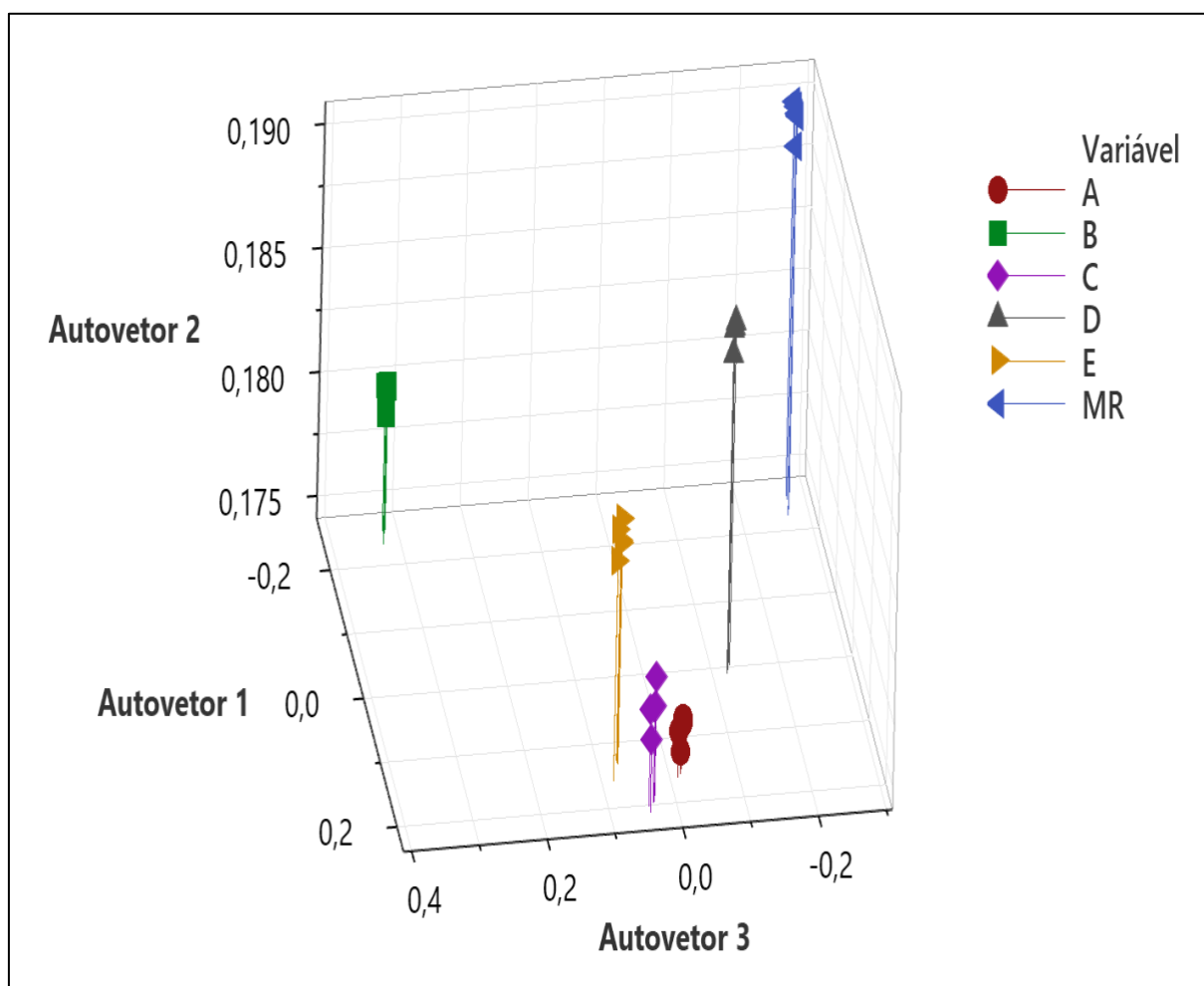
Utilizando as informações obtidas pela PCA, também foram montados os gráficos de escores dos componentes principais e os gráficos de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores 1, 2 e 3 (que também foram obtidos utilizando a PCA), para a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , que estão apresentados nas Figuras 31 e 32, respectivamente, já os para a região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , estão apresentados nas Figuras 33 e 34, respectivamente.

Figura 31: Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.



Fonte: O Autor.

Figura 32: Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.

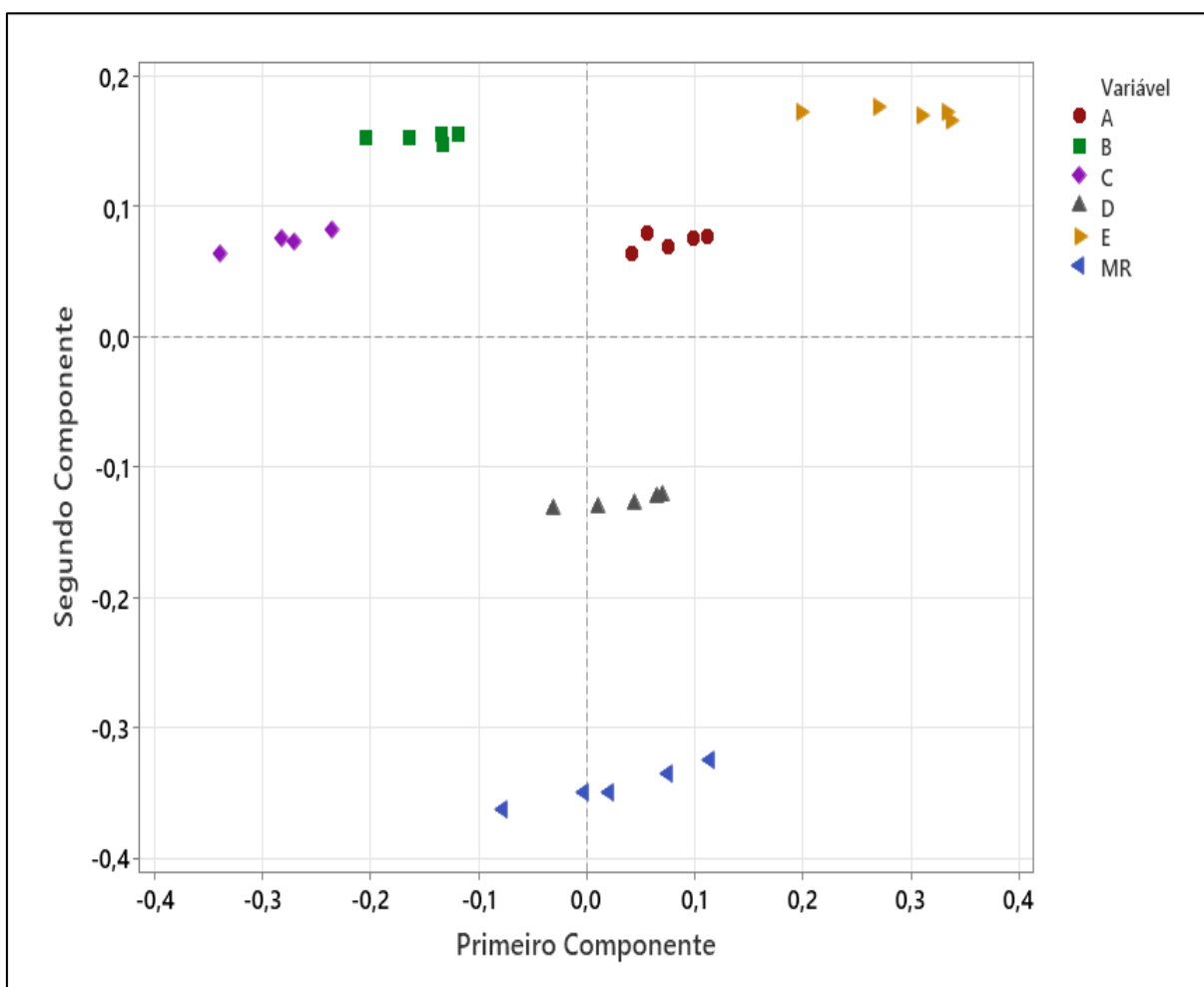


Fonte: O Autor.

Complementando e corroborando os resultados apresentados no dendrograma da Figura 27, nos gráficos apresentados nas Figuras 31 e 32, pode-se observar, visualmente, a similaridade entre as regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do MR e dos MGs, em um plano bidimensional e dentro de um espaço tridimensional, respectivamente, uma vez que, em ambos, quantos mais próximo estiver um ponto de outro, maior será a similaridade entre os dois. Portanto, utilizando os gráficos apresentados nas Figuras 31 e 32, pode-se demonstrar simultaneamente, em uma maneira mais didática e concisa, a similaridade entre as regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do MR e dos MGs, assim como, a similaridade entre cada um dos grupos formados.

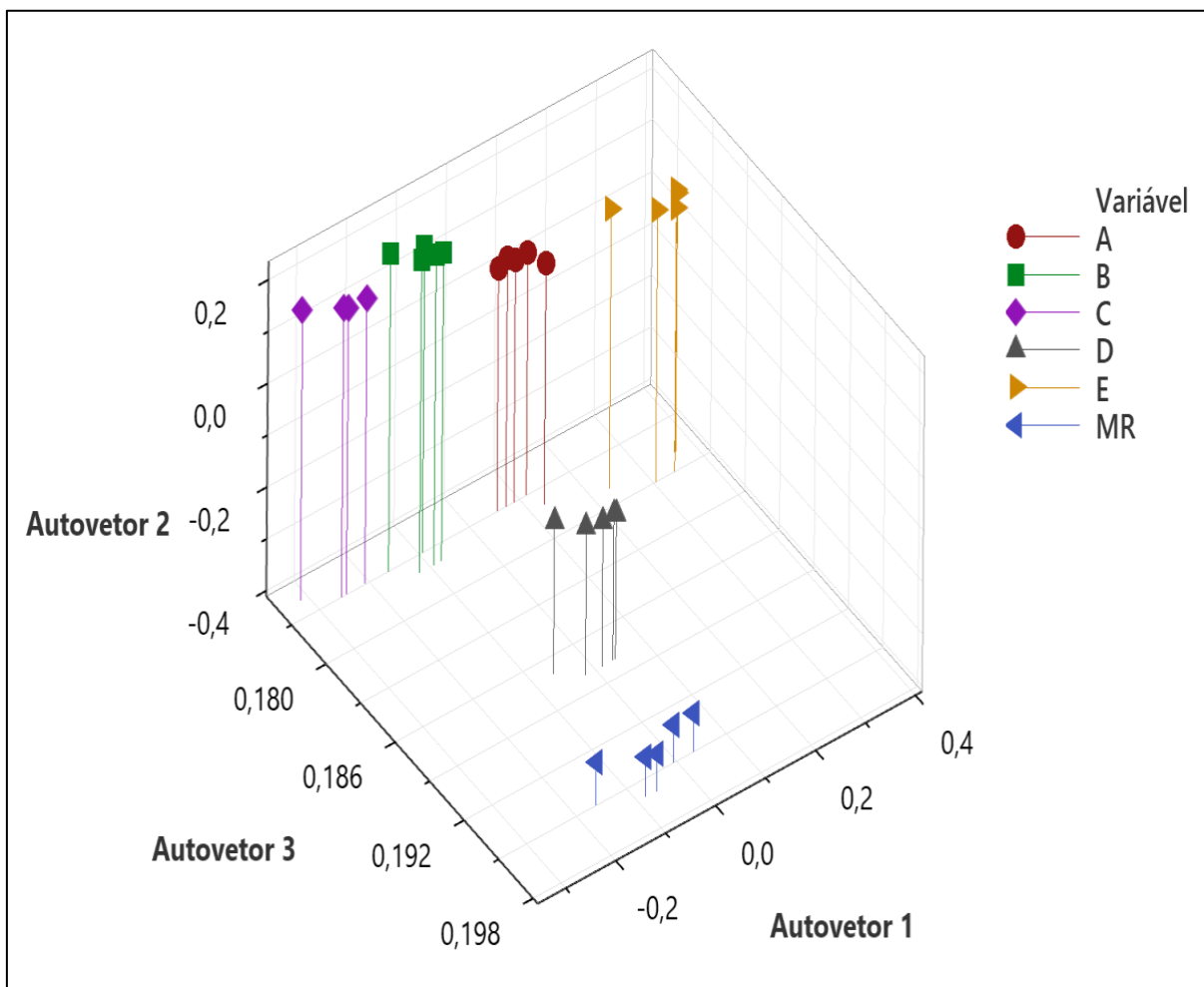
Pode-se observar, que assim como no dendrograma da Figura 27, houve uma separação perfeita dos grupos de espectros das amostras dos medicamentos comerciais analisados. Uma informação interessante que também pode ser observada, é que, assim como na Figura 27, pode-se notar que, tanto na Figura 31, como na Figura 32, as variáveis relacionadas aos espectros dos MGs “A”, “C” e “E”, continuaram mais próximas entre si, do que a das outras amostras, pois, apesar de serem matematicamente diferentes, possuem um maior grau de similaridade entre si, do que a outros grupos de amostra, porém, o mais importante é que isso pode ser observado nas três figuras, demonstrando a relação corroborativa e complementar entre a análise multivariada de grupos hierárquicos e a de componentes principais.

Figura 33: Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.



Fonte: O Autor.

Figura 34: Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.



Fonte: O Autor.

Utilizando os gráficos das Figuras 33 e 34, pode-se evidenciar a importância de se apresentar ambos, pois os dois apresentam informações necessárias para que se tenha uma visão completa dos resultados obtidos pela PCA e das relações de similaridade entre as regiões analisadas.

#### 5.4 COMPARAÇÃO DAS INTENSIDADES RELATIVAS MÉDIAS DAS BANDAS ANALÍTICAS DO PARACETAMOL NOS ESPECTROS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA E DOS GENÉRICOS

Tendo consciência do impacto, que a separação perfeita dos espectros dos medicamentos comerciais, demonstrada utilizando a HCA e PCA (Figuras 27 a 34),

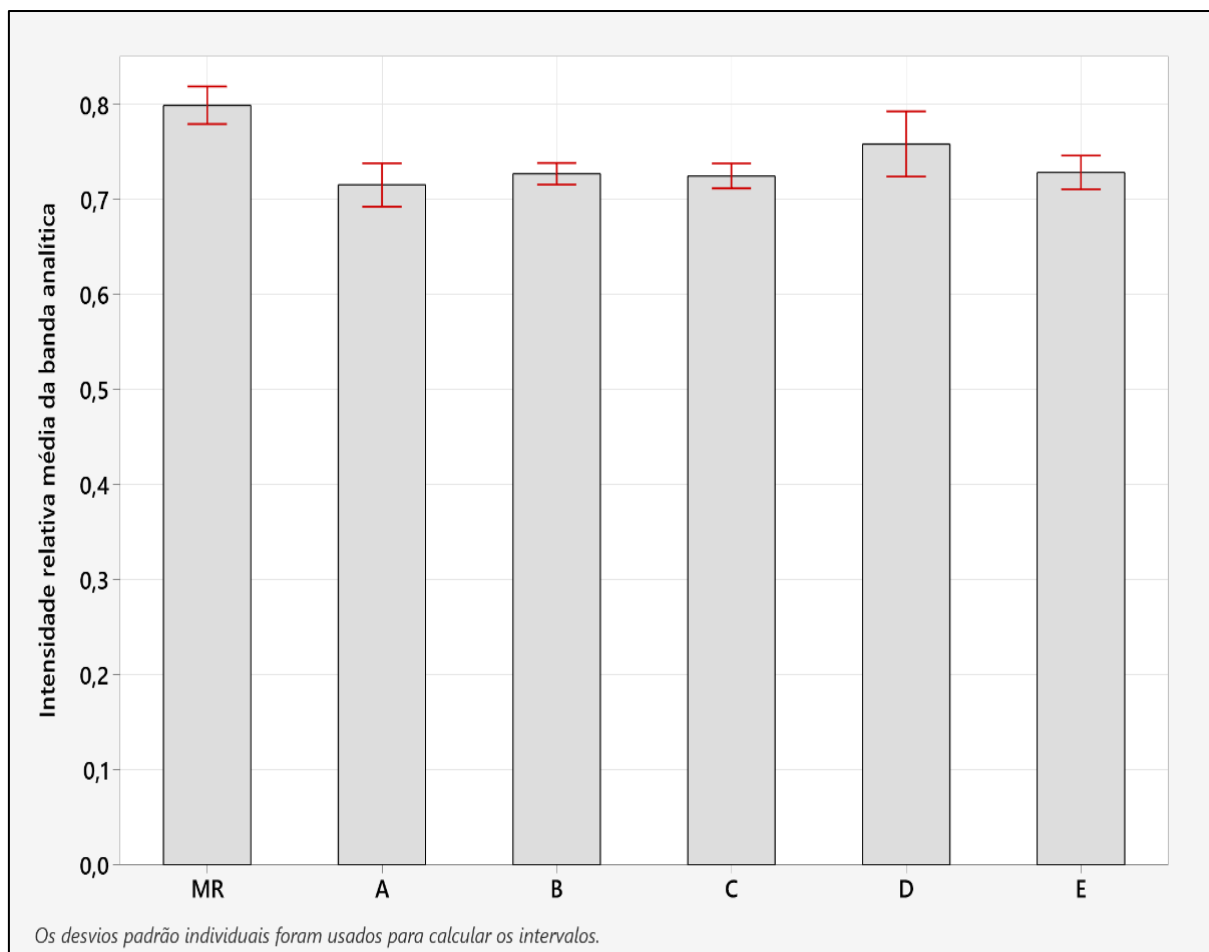
pode ter na maneira em que se vê a qualidade e a segurança entre medicamentos de referência e seus respectivos genéricos, as intensidade relativas médias das bandas analíticas do PCT, nos espectros, em absorbância e normalizados, dos medicamentos analisados foram obtidas e apresentadas na Tabela 3, juntamente a seus respectivos desvios padrão, e na Figura 35, na forma de um gráfico de intervalos, com o objetivo de demonstrar e assegurar intercambialidade entre o MR e seus MGs analisados.

Tabela 3 - Intensidades relativas médias, com desvio padrão, das bandas analíticas dos espectros dos medicamentos comerciais.

| Medicamento  | Média ± Desvio padrão |
|--------------|-----------------------|
| Referência   | 0,79900 ± 0,00796     |
| Genérico "A" | 0,71532 ± 0,00917     |
| Genérico "B" | 0,72698 ± 0,00462     |
| Genérico "C" | 0,72472 ± 0,00528     |
| Genérico "D" | 0,75824 ± 0,01383     |
| Genérico "E" | 0,72831 ± 0,00714     |

Fonte: O Autor.

Figura 35: Gráfico de intervalos das intensidades relativas médias das bandas analíticas dos espectros do medicamento de referência (MR) e dos genéricos “A”, “B”, “C”, “D” e “E”.



Fonte: O Autor.

Antes que se possa discutir os resultados apresentados na Tabela 3 e na Figura 35, é preciso ter em mente as seguintes informações:

- De acordo com o volume 2 da sexta edição da Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2019), a ANVISA permite a todos os medicamentos que contenham PCT na forma de comprimido (inclusive os medicamentos de referência), uma variação de  $\pm 5\%$  da quantidade de PCT em cada comprimido, em relação a quantidade indicada na caixa do medicamento;
- Baseando-se nas curvas padrão da banda analítica (Figura 17), pode-se sugerir que, as alterações entre os espectros dos medicamentos comerciais analisados, que foram detectadas pela HCA e pela PCA das bandas analíticas, são, principalmente, causadas pelas variações das interações

dos excipientes, entre si e/ou com o PCT, e pelas variações dos tipos de excipientes presentes em cada medicamento comercial.

- Todos os espectros obtidos têm uma resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e, devido a utilização de uma técnica de FTIR-UATR, possuem um erro de  $\pm 2\%$  (Sanchez *et al.*, 2008).

Levando todas essas informações em consideração, assim como, a proximidade dos intervalos dos valores das intensidades relativas das bandas analíticas (Tabela 3 e Figura 35), pode-se sugerir, que o MR e os MGs, possuem quantidades de PCT dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANVISA (Anvisa, 2019).

## 5.5 UTILIZAÇÃO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS MULTIVARIADAS NOS ESPECTROS INFRAVERMELHOS DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA DENTRO E FORA DO PRAZO DE VALIDADE

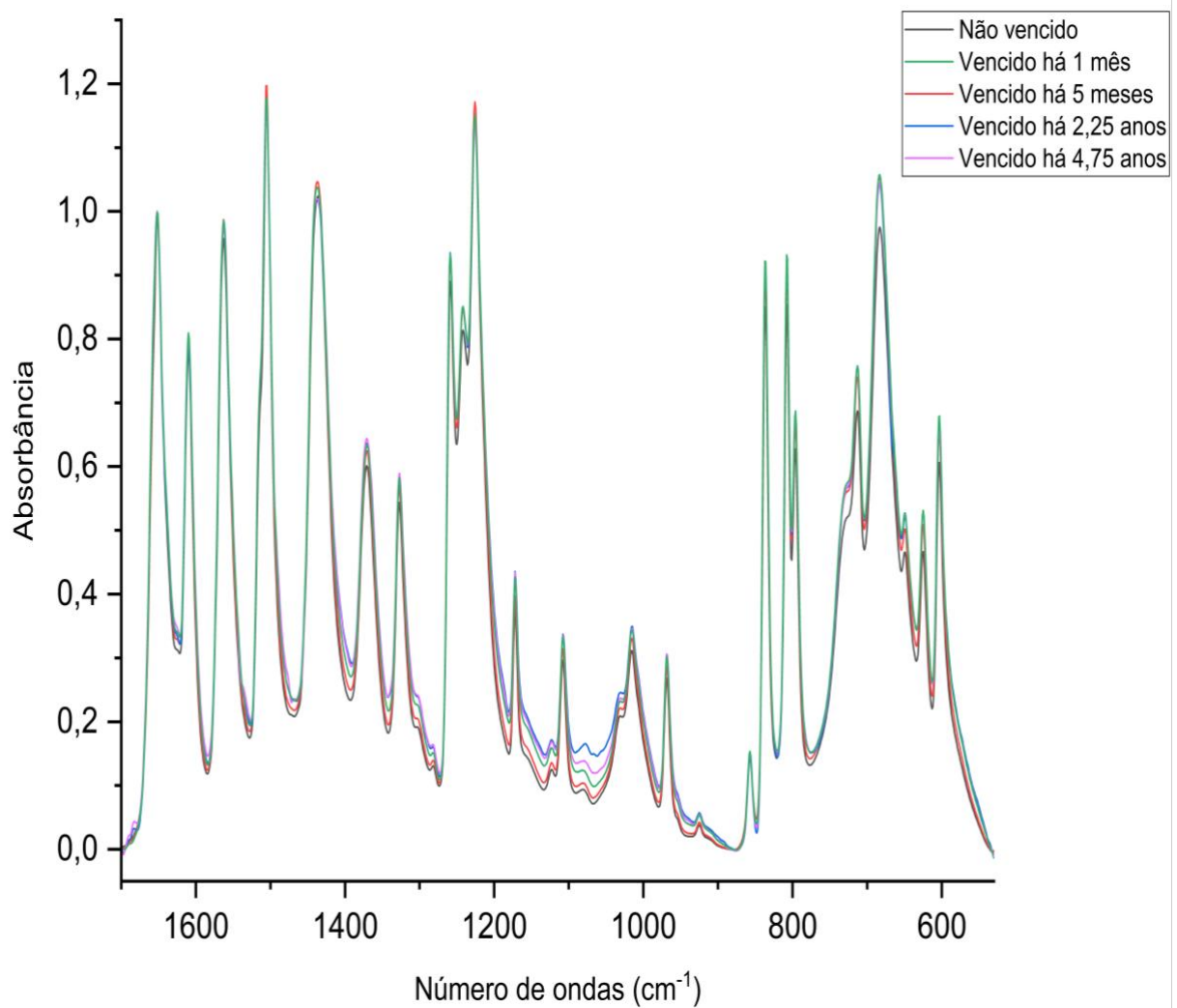
Levando em consideração que a determinação do prazo de validade de um fármaco faz parte de seu processo de controle de qualidade e a seriedade dos potenciais riscos à saúde, que podem ser gerados e/ou agravados pelo consumo de medicamentos vencidos, espectros do MR vencido, de 4 períodos diferentes, após seu prazo de validade, foram obtidos com o objetivo de avaliar se e quando, as técnicas de FTIR-UATR, acopladas às análises estatísticas multivariadas, desenvolvidas neste trabalho, são capazes de diferenciar um MR vencido de um não vencido, determinando e analisando os graus de similaridade entre seus espectros (Facci *et al.*, 2020; Neiva; Trevisan, 2021).

### 5.5.1 Análises de agrupamentos hierárquicos dos espectros do MR dentro e fora do prazo de validade

Para averiguar a possível existência e magnitude de alterações causadas pelo vencimento do MR, em seu espectro infravermelho, foram obtidos quatro espectros das seguintes amostras de MR: dentro de seu prazo de validade, vencido há 1 mês, vencido há 5 meses, vencido há 2,25 anos e vencido há 4,75 anos; sendo que, todos os comprimidos utilizados, pertencem a mesma marca de MR. Os espectros médios

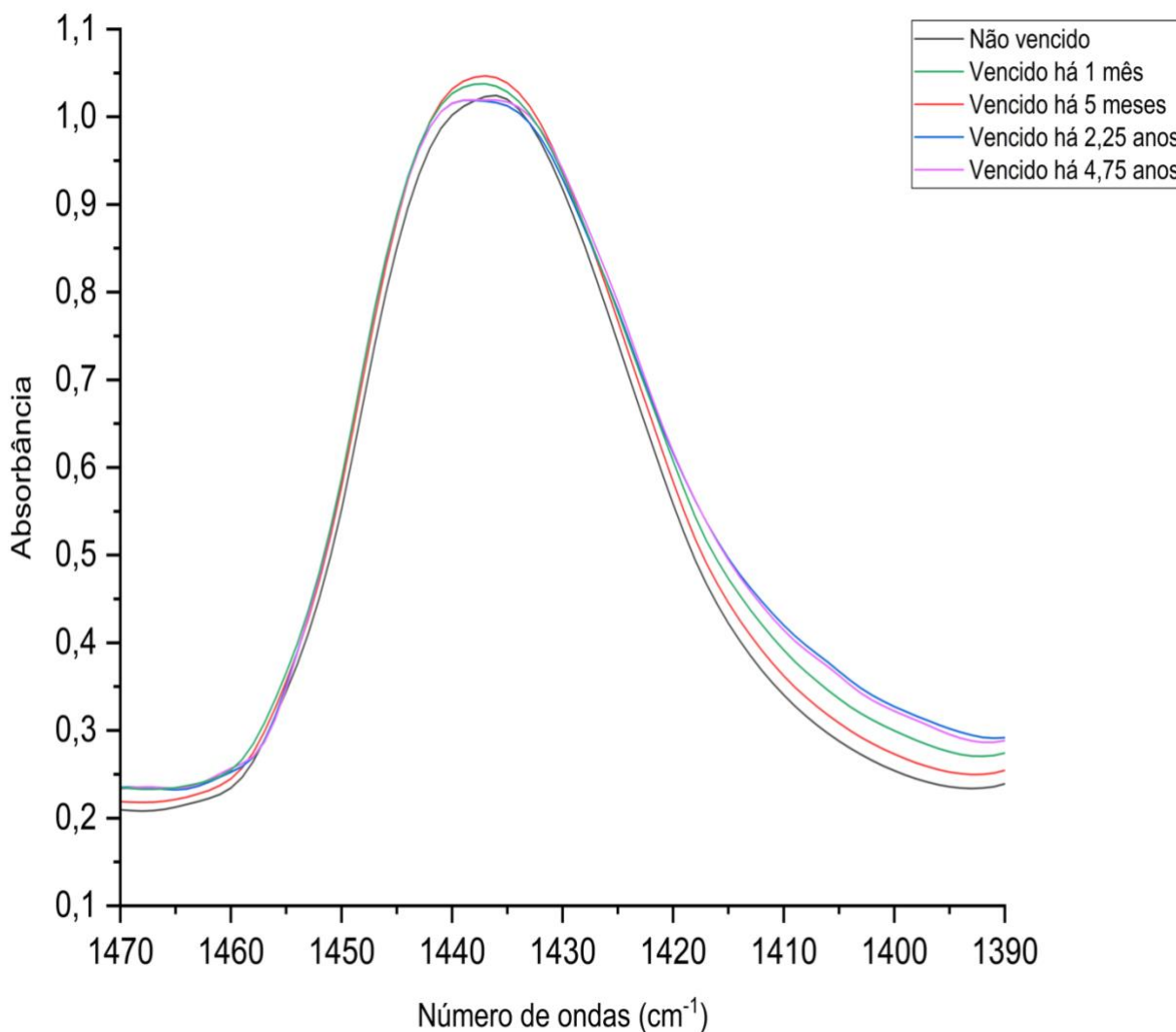
das amostras, estão apresentados na região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , nas Figuras Figura 36 e Figura 37, respectivamente.

Figura 36: A região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros médios de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Figura 37: A região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros médios de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

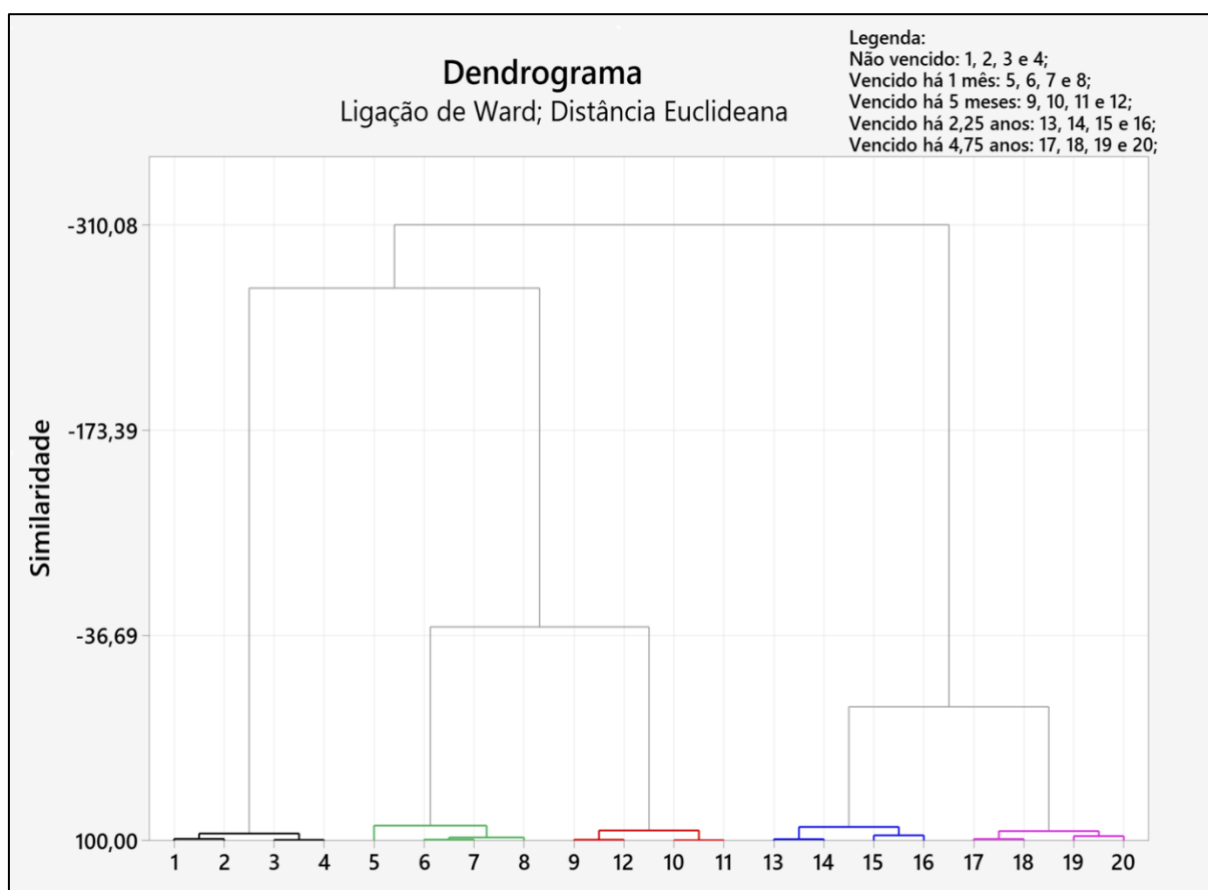
As duas regiões representadas nas Figuras Figura 36 e Figura 37, foram selecionadas para que se possa analisar as possíveis interferências que podem ser causadas pelo vencimento dos excipientes e do PCT, nas amostras do MR, sobre a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , pois, como já foi previamente mencionado, essas duas regiões contém o que é considerado a “impressão digital” do espectro infravermelho do MR e sua banda analítica, respectivamente, sendo importante estudo de ambas regiões, para avaliar possíveis alterações nos MRs vencidos.

Nas Figuras Figura 36 e Figura 37, pode-se observar duas informações importantes, a primeira é que o número de picos e o contorno de bandas, nos espectros dos MRs vencidos, ainda são semelhantes ao do MR não vencido e não

apresentam aparecimento ou desaparecimento de bandas, o que dificulta sua diferenciação utilizando apenas uma inspeção visual. A segunda informação importante, é que, visualmente, a diferença entre o espectro médio do MR vencido há 5 meses e o do vencido há 2,25 anos, aparenta ser maior que a diferença entre o MR vencido há 2,25 anos e o vencido há 4,75 anos, o que pode sugerir, que há uma menor variabilidade, nos espectros e, conseqüentemente, nos compostos presentes no MR, 2,25 anos após seu prazo de validade, porém, mais uma vez, torna-se necessário recorrer aos cálculos matemáticos e estatísticos para que se possa determinar as diferenças e os graus de similaridade entre as regiões, apresentadas nas Figuras Figura 36 e Figura 37, dos espectros dos MRs vencidos e do não vencido.

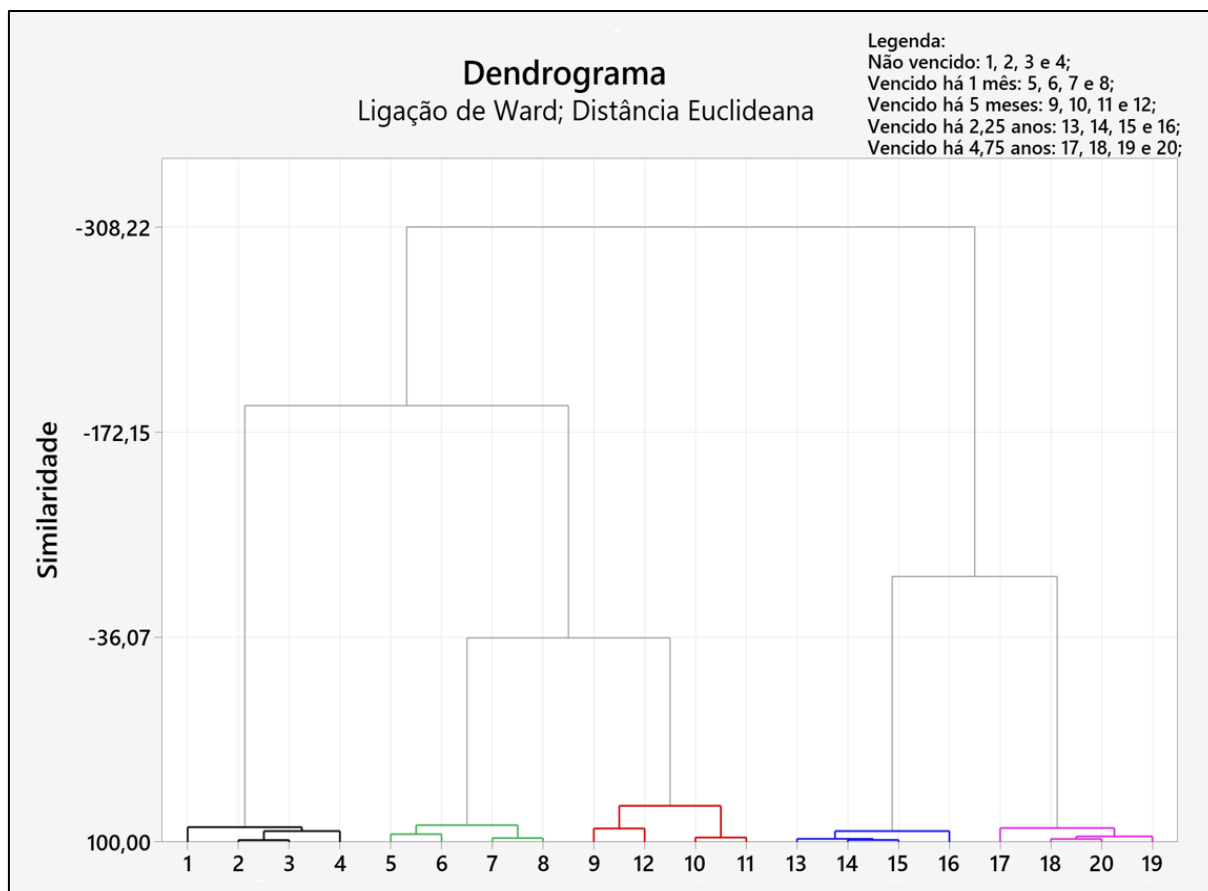
Portanto, utilizou-se novamente da HCA, para determinar o grau de similaridade entre as regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  e montar os seus dendrogramas, que estão apresentados nas Figuras Figura 38 e Figura 39, respectivamente.

Figura 38: Dendrograma da região 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Figura 39: Dendrograma da região 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Os dendrogramas, nas Figuras Figura 38 e Figura 39, demonstram que tanto na região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , como na de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , houve uma separação perfeita dos espectros em cinco agrupamentos, que contém apenas espectros de somente uma amostra, comprovando que há uma diferença significativa entre as regiões analisadas, do MR não vencido e os vencidos, inclusive, no vencido há apenas 1 mês, pois o grau de similaridade entre esses dois agrupamentos, nas regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , é (-267,93%) e (-189,70%), respectivamente, notando que, o grau de similaridade com um valor negativo, indica que não há semelhança entre os espectros do MR não vencido e os do vencido a 1 mês.

Portanto, baseando-se nos dendrogramas, nas Figuras Figura 38 e Figura 39, pode-se demonstrar, que utilizando um FTIR-UATR, foi possível obter espectros infravermelhos diretamente dos comprimidos vencidos do MR e, utilizando a HCA para comparar as regiões da “impressão digital” e da banda analítica deles, foi possível detectar diferenças significativas entre o agrupamento do MR não vencido e todos os

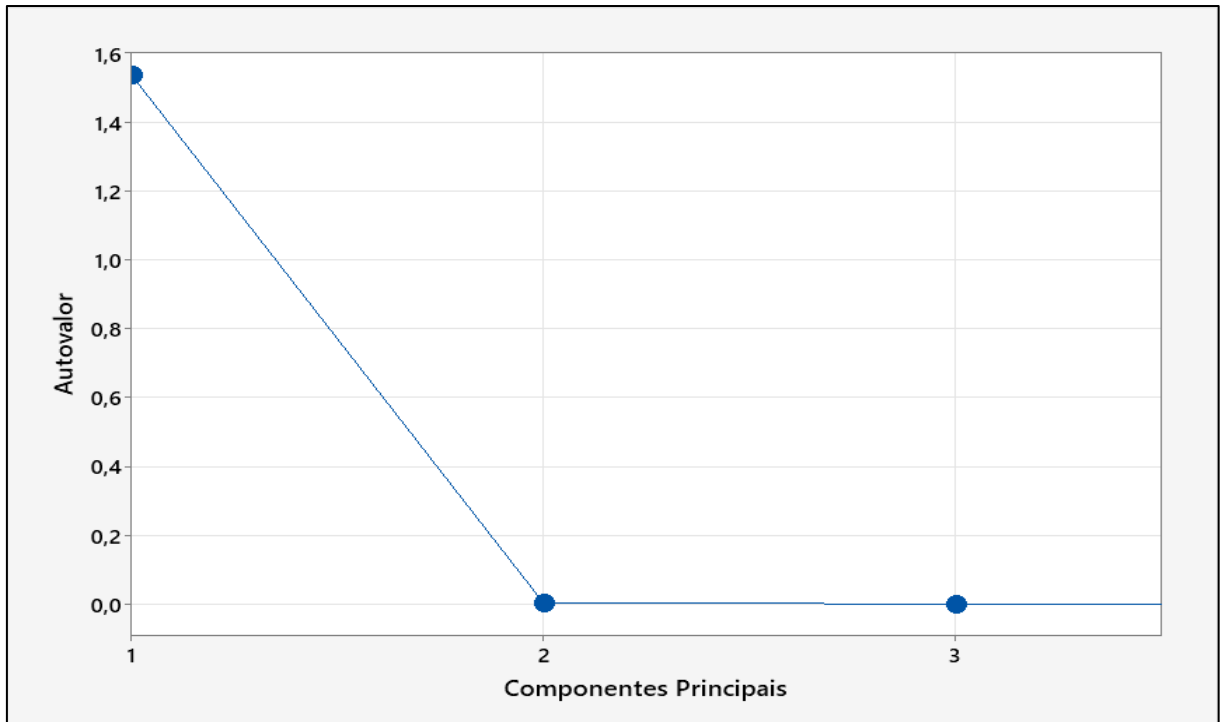
dos MRs vencidos, pois, em ambas regiões, todos os graus de similaridade, entre o agrupamento do MR não vencido e um dos MRs vencidos, possuem valores negativos, que indicam a diferença significativa entre as regiões analisadas dos espectros do MR não vencido e as dos MR vencidos, inclusive nas do MR vencido a apenas 1 mês.

### **5.5.2 Análises de componentes principais dos espectros do MR dentro e fora do prazo de validade**

Mais uma vez, para corroborar os resultados obtidos pela HCA, recorreu-se a análises de componentes principais, para analisar as regiões de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  e de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros, em absorbância e normalizados, das amostras dos MRs, nos seguintes estados: dentro de seu prazo de validade, vencido há 1 mês, vencido há 5 meses, vencido há 2,25 anos e vencido há 4,75 anos.

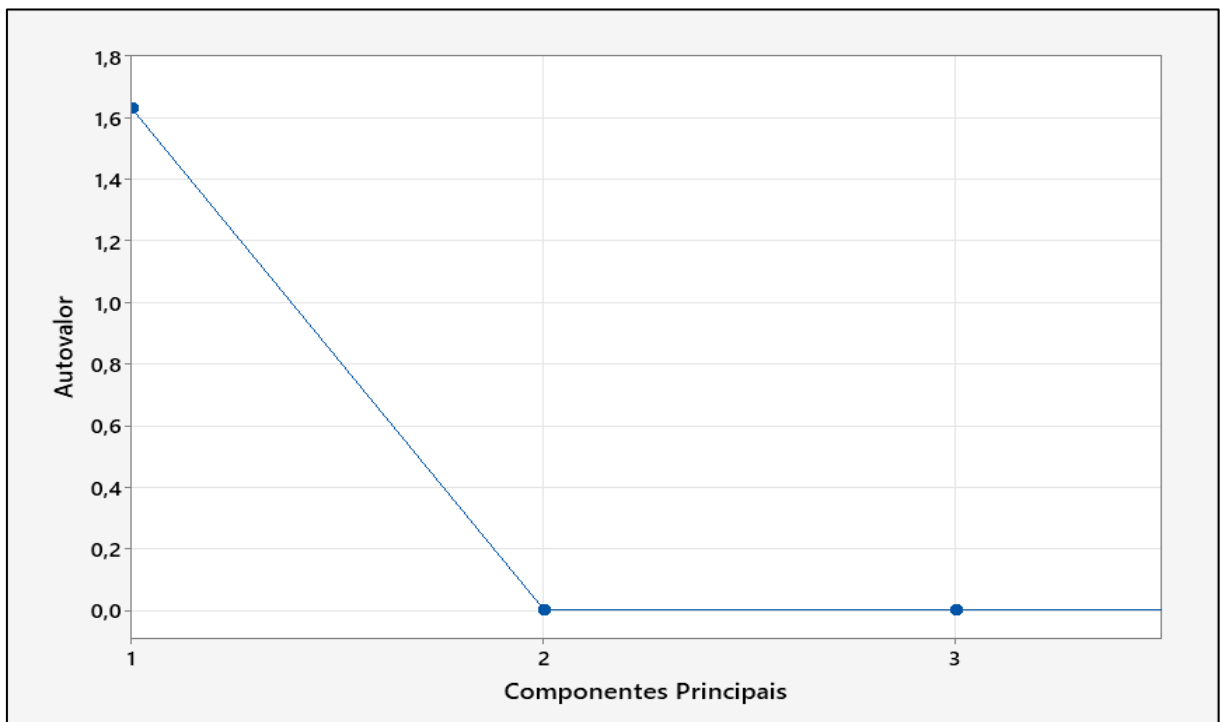
Os cálculos de componentes principais mostraram que, para a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , o primeiro componente contribuiu com 99,87%, o segundo, 0,10% e o terceiro, 0,03%, e para a região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , o primeiro componente contribuiu com 99,87%, o segundo, 0,12% e o terceiro, 0,01%, sendo que, essas informações estão demonstradas no *Scree Plot*, obtido para de cada região, pela PCA, nas Figuras Figura 40 e Figura 41, respectivamente.

Figura 40: *Scree Plot* obtido pela PCA da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

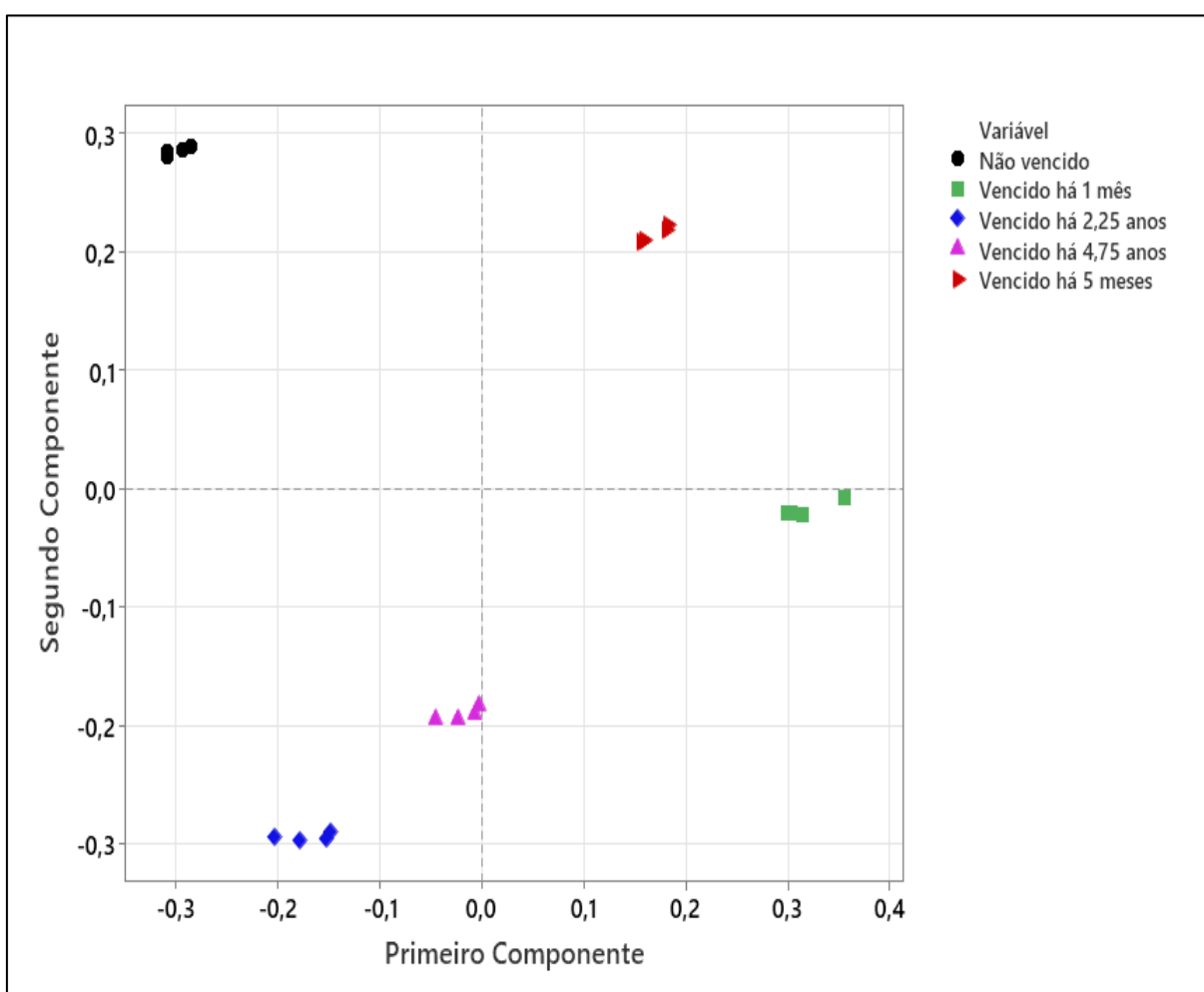
Figura 41: *Scree Plot* obtido pela PCA da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

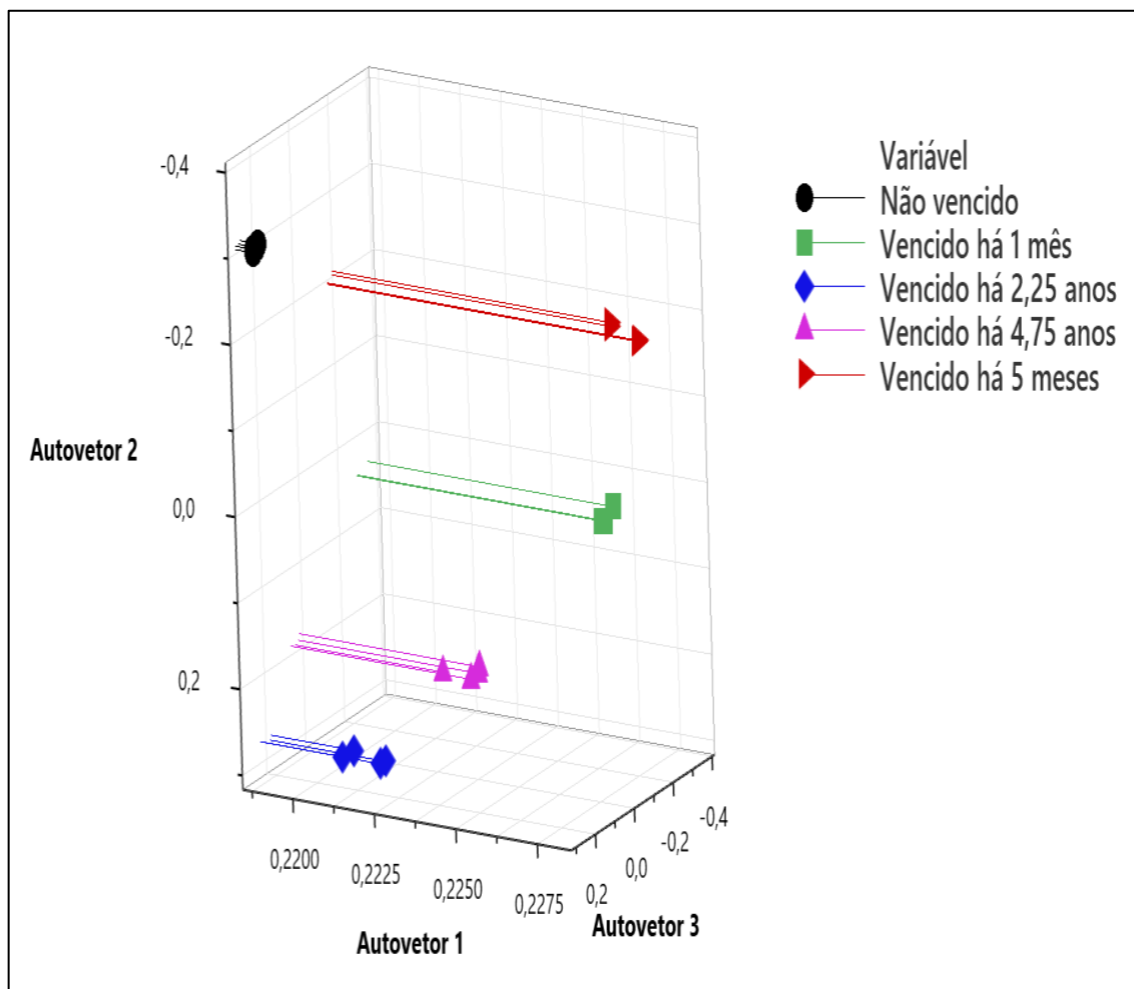
Utilizando as informações obtidas pela a PCA, foram montados os gráficos de escores das componentes principais e os gráficos de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores 1, 2 e 3 (que também foram obtidos utilizando a PCA), para a região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , que estão apresentados nas Figuras Figura 42 e Figura 43, respectivamente, e os para a região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , estão apresentados nas Figuras Figura 44 e Figura 45, respectivamente.

Figura 42: Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Figura 43: Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



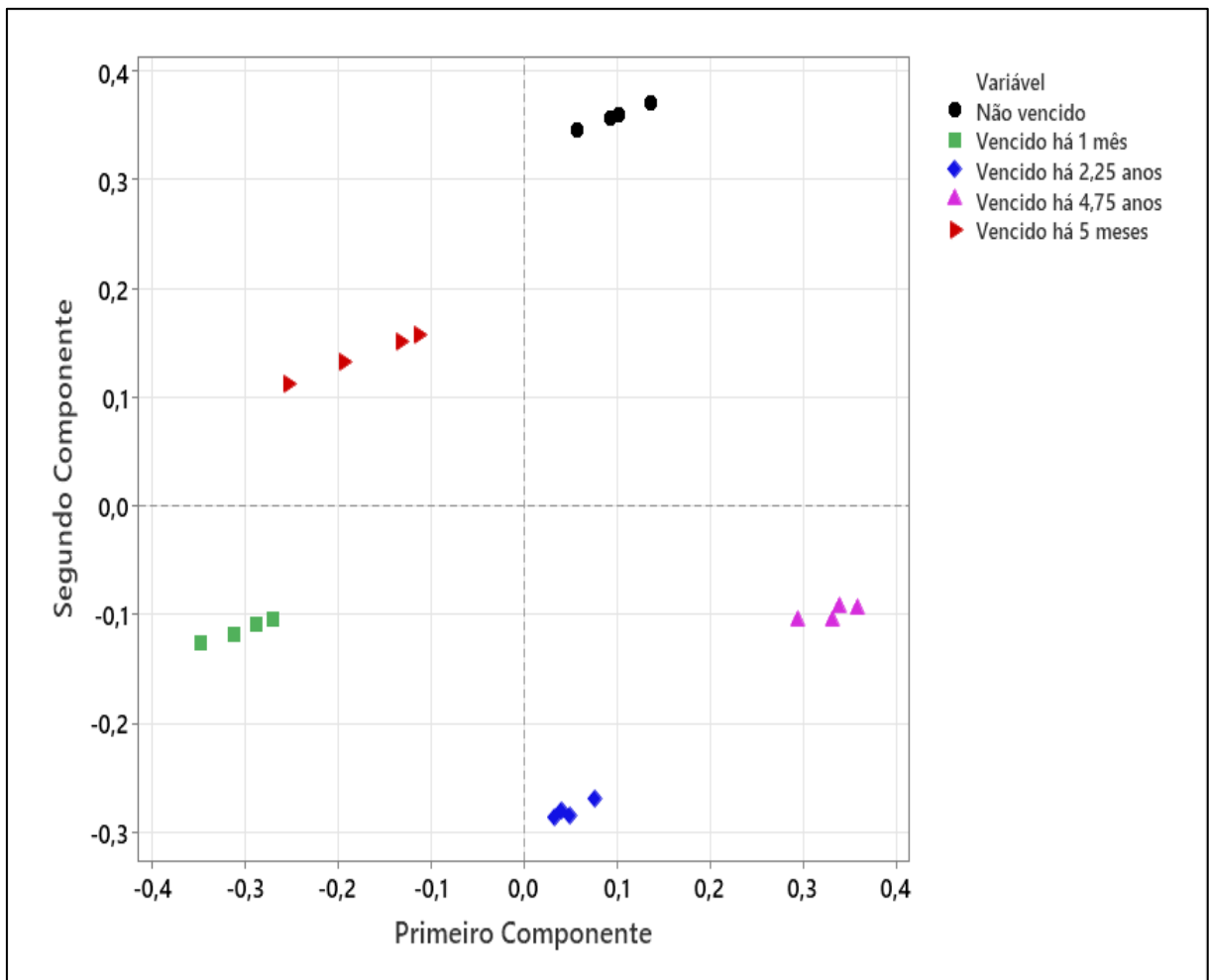
Fonte: O Autor.

As informações apresentadas nos gráficos obtidos pela PCA, para a região conhecida como (de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ ) dos espectros do MR (Figuras Figura 42 e Figura 43), em conjunto com o dendrograma obtido pela HCA desta região (Figura 38), permitem observar informações relacionadas à estabilidade dos excipientes e do PCT e, por extensão, do MR como um todo, após passar de sua data de validade.

Utilizando os gráficos da região da “impressão digital” (Figuras Figura 42 e Figura 43), pode-se notar que, todos os agrupamentos dos MRs vencidos, apresentam uma variação significativa em relação ao do MR não vencido. Também se pode observar que, a diferença nessa região, entre o MR vencido há 2,25 anos e o vencido há 4,75 anos, é menor do que a diferença entre o MR vencido há 5 meses e o vencido há 2,25 anos, mesmo possuindo um período maior entre suas amostra, o que

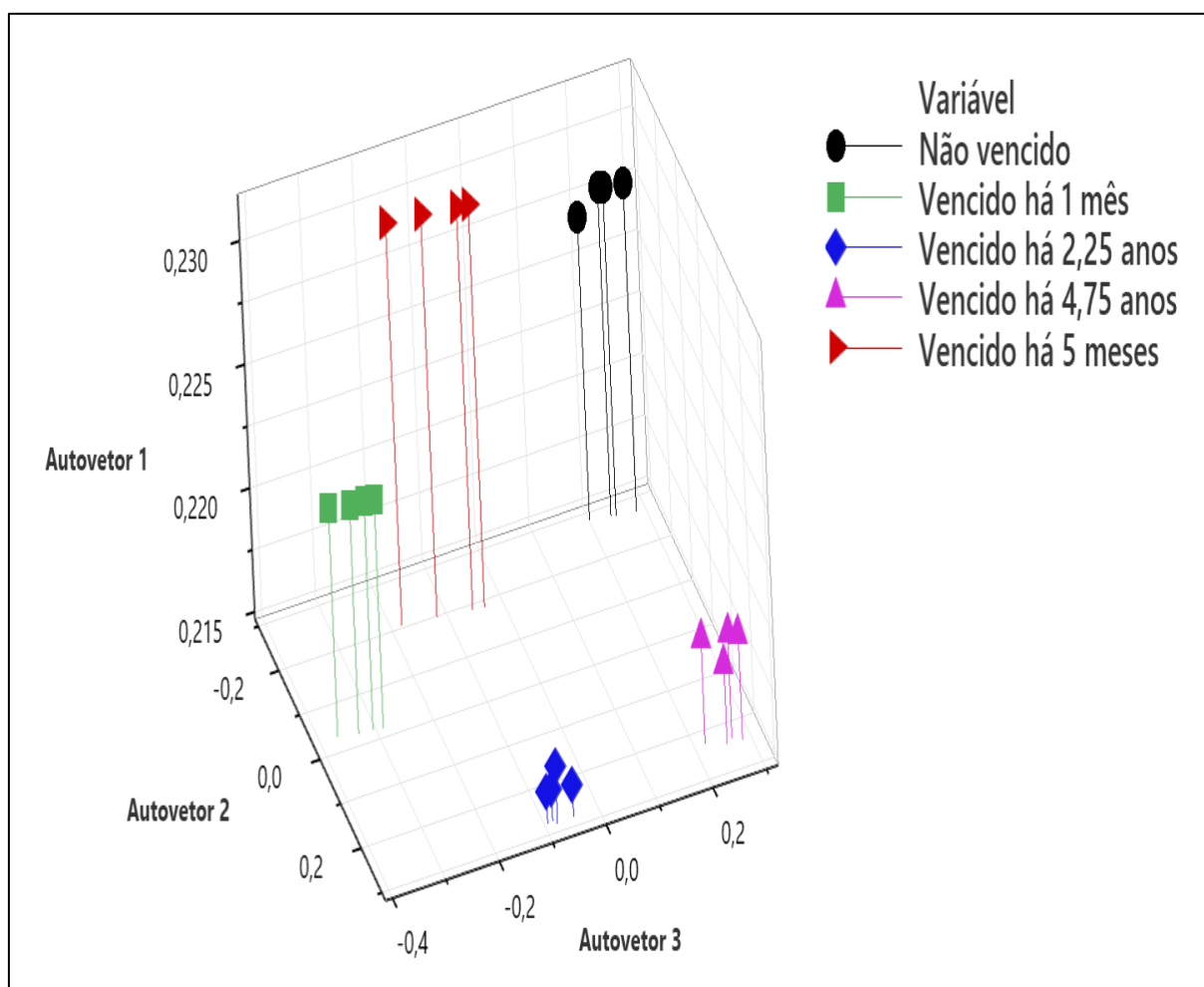
demonstra uma maior estabilidade nessa região, que contém bandas relacionadas às ligações dos excipientes e do PCT, assim como, às possíveis interações entre ambos os componentes, em MRs após estarem vencidos há 2,25 anos.

Figura 44: Gráfico de escores das componentes principais, da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Figura 45: Gráfico de dispersão em três dimensões, utilizando os autovetores obtidos pela PCA, da região de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

Para a região da banda analítica do PCT (de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ ), baseando-se nos gráficos obtidos pela PCA (Figuras Figura 44 e Figura 45) e em seu dendrograma, que foi obtido pela HCA (Figura 39), pode-se observar, que essa região também apresenta variações significativa entre o agrupamento do MR não vencido e todos os agrupamentos dos MRs vencidos, inclusive no agrupamento do MR vencido há apenas 1 mês.

Utilizando os gráficos das Figuras Figura 44 e Figura 45, observa-se que a região da banda analítica (de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ ), apresenta um comportamento oposto ao da região da “impressão digital” (de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$ ), pois na região da banda analítica, a diferença entre o MR não vencido e o vencido há 5 meses, apesar de ainda ser significativa, é menor do que a diferença entre o MR vencido há 2,25 anos e o

vencido há 4,75 anos, o que indica que, ao contrário da região de 1700 a 530  $\text{cm}^{-1}$  como um todo, a região da banda analítica do PCT dentro do MR (que é de 1470 a 1390  $\text{cm}^{-1}$ ), ainda sofre de uma diminuição gradativa de sua estabilidade, apesar de já terem se passado 4,75 anos do prazo de validade do MR.

## 5.6 COMPARAÇÃO DAS INTENSIDADES RELATIVAS MÉDIAS DAS BANDAS ANALÍTICAS DO PARACETAMOL NOS ESPECTROS DE MEDICAMENTOS DE REFERÊNCIA NÃO VENCIDOS E DOS VENCIDOS

Por fim, para encerrar o estudo do comportamento do PCT, dentro do MR, ao longo do tempo, após o prazo de validade do MR, as intensidade relativas médias das bandas analíticas do PCT, nos espectros em absorvância e normalizados, do MR não vencido e vencidos, foram obtidas e apresentadas, juntamente a seus respectivos desvios padrão, na Tabela 4.

Tabela 4 - Intensidades relativas médias, com desvio padrão, das bandas analíticas dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.

| Estado do medicamento | Média $\pm$ Desvio padrão |
|-----------------------|---------------------------|
| Não vencido           | 0,80386 $\pm$ 0,00036     |
| Vencido há 1 mês      | 0,78731 $\pm$ 0,00010     |
| Vencido há 5 meses    | 0,81406 $\pm$ 0,00020     |
| Vencido há 2,25 anos  | 0,76035 $\pm$ 0,00076     |
| Vencido há 4,75 anos  | 0,76733 $\pm$ 0,00058     |

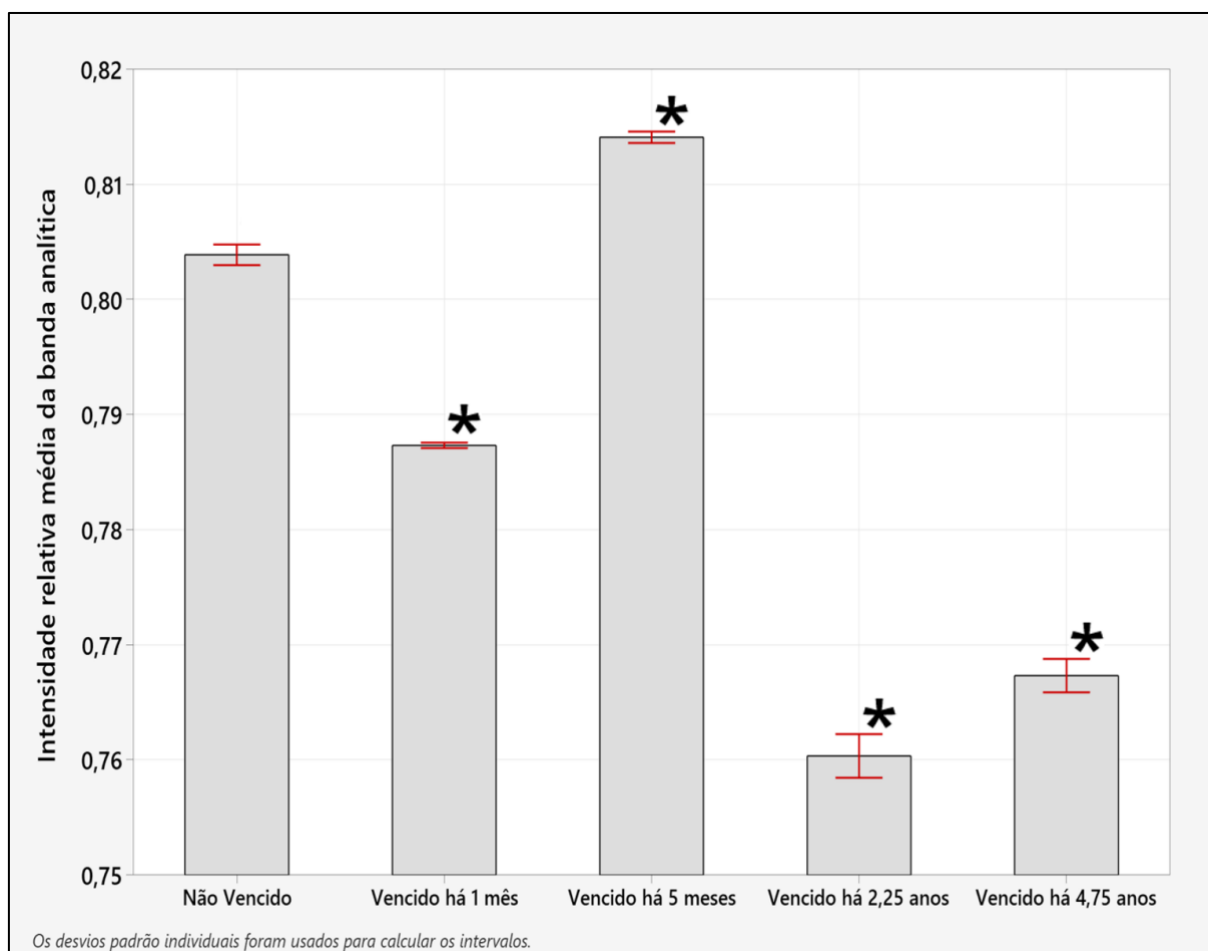
Fonte: O Autor.

Para melhor interpretar os dados apresentados na Tabela 4, precisou-se recorrer a uma análise de variância (ANOVA), com um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), para determinar se as intensidades obtidas dos espectros dos MRs vencidos, possuíam alguma diferença estatisticamente significativa, em relação a intensidade do MR não vencido.

Utilizando os resultados obtidos pela ANOVA, a Figura 46 apresenta o histograma da intensidade relativa média da banda analítica para o PCT nos espectros do MR não vencido e vencidos, o qual o símbolo  $*$ , indica que as intensidades relativas médias de todos os MRs vencidos, inclusive o vencido há apenas 1 mês,

possuem diferenças estatisticamente significativas (para  $p < 0,05$ ), em relação a do MR não vencido.

Figura 46: Histograma das intensidades relativas médias das bandas analíticas dos espectros de medicamentos de referência não vencidos e vencidos.



Fonte: O Autor.

## 6 CONCLUSÕES

Esse estudo demonstrou a capacidade e potencial da utilização do FTIR-UATR, acoplado às análises multivariadas HCA e PCA, como uma análise de qualidade preliminar rápida e eficiente, que indique quais medicamentos apresentam alterações suficientes, para justificar e direcionar o uso de técnicas mais extensas e trabalhosas, complementando o controle de qualidade de medicamentos que contenham PCT.

Neste estudo, baseando-se nos resultados que foram obtidos, o uso do FTIR-UATR, não só possibilitou a construção e utilização de curvas padrão, para selecionar a melhor banda analítica dos espectros obtidos do MR e dos MGs, mas também permitiu a aquisição das intensidades relativas dessas bandas analíticas, assim como sua comparação, que por sua vez, foi capaz de demonstrar a intercambialidade entre o MR e seus MGs.

Juntamente ao uso do FTIR-UATR, a utilização da HCA e da PCA, mostrou-se de extrema importância, pois ao analisar e comparar regiões importantes dos espectros, pode-se concluir que foram seus recursos matemáticos e computacionais, que possibilitaram a diferenciação e a análise dessas regiões, permitindo demonstrar, com mais clareza, a intensidade das alterações causadas nelas, pelas variações de quantidades e de tipos de excipientes, assim como, as pelo vencimento do medicamento, uma vez que, por serem visualmente semelhantes e possuírem, aproximadamente, 3600 variáveis por espectro infravermelho, tais alterações, dificilmente teriam sido detectadas e analisadas corretamente utilizando-se apenas de uma comparação visual.

Portanto, a metodologia analítica para o uso do FTIR-UATR, acoplado às análises multivariadas HCA e PCA, apresentada neste estudo, demonstra grande utilidade e potencial na complementação do controle de qualidade de medicamentos, pois conseguiu demonstrar, com os resultados que foram obtidos, a capacidade do FTIR-UATR de detectar possíveis mudanças e degradações nos excipientes e no princípio ativo, analisando ambos dentro de seus respectivos medicamentos, sem precisar extraí-los, sendo assim, de grande interesse para a indústria farmacêutica, já que é uma técnica rápida, de baixo custo e ecologicamente viável, uma vez que, não gera resíduos, além da amostra que foi analisada.

## REFERÊNCIAS

- AL LAWATI, H. A. J. *et al.* Determination of Common Adulterants in Herbal Medicine and Food Samples using Core-shell Column Coupled to Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 3, p. 232–242, 2017. <https://doi.org/10.1093/CHROMSCI/BMW175>
- AMADO, A. M.; AZEVEDO, C.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Conformational and vibrational reassessment of solid Paracetamol. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 183, p. 431–438, 5 ago. 2017. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2017.04.076>
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira, Volume 2 - Insumos Farmacêuticos e Especialidades**. 6. ed., 2019. RDC nº 166, de 24 de Julho de 2017.
- ARAÚJO, L. U. *et al.* Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, n. 6, p. 480–492, 2010.
- BALAN, V. *et al.* Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine: from Molecular to Clinical Practice. **Materials**, v. 12, n. 18, p. 2884, 6 set. 2019. <https://doi.org/10.3390/MA12182884>
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.
- BASSI, A. B. M. S. Conceitos fundamentais em espectroscopia. **Revista Chemkeys**, n. 9, p. 1–14, 17 set. 2001. <https://doi.org/10.20396/CHEMKEYS.V0I9.9614>
- BATE, R. *et al.* Generics Substitution, Bioequivalence Standards, and International Oversight: Complex Issues Facing the FDA. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 37, n. 3, p. 184–191, 2016. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2015.11.005>
- BERTOLDI, A. D. *et al.* Utilização de medicamentos em adultos: prevalência e determinantes individuais Drug utilization in adults: prevalence and individuals determinants. **Revista Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 228–38, 2004.
- BORGONOV, L. **Os 20 anos da lei dos medicamentos genéricos no Brasil - PróGenéricos**. Disponível em: <https://progenericos.org.br/noticias/artigo-os-20-anos-da-lei-dos-medicamentos-genericos-no-brasil/>. Acesso em: 14 jul. 2023.
- BOSCH, M. E. *et al.* Determination of Paracetamol: Historical evolution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, n. 3, p. 291–321, 26 set. 2006. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2006.04.007>
- 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. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1976.

BRASIL. Resolução n. 391, de 9 de agosto de 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - Resolução n° 135, de 29 de maio de 2003 - Regulamento técnico para medicamentos genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2 jun. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009. 816 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2018**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 218 p.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - Resolução n° 301, de 21 de agosto de 2019 - Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 ago. 2019.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman-13**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2018.

BUNACIU, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Adulterated drug analysis using FTIR spectroscopy. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 56, n. 5, p. 423–437, 2021. <https://doi.org/10.1080/05704928.2020.1811717>

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis**. CRC press, 2007.

CALLAO, M. P.; RUISÁNCHEZ, I. An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. **Food Control**, v. 86, p. 283–293, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.034>

CARDOSO, L. M. N. **Avaliação de metodologia de coleta e análise de solventes/misturas de solventes no ar em ambiente de trabalho: metanol em mistura MEG (Metanol 33% Etanol 60% e Gasolina 7%)**. 2011. Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. <https://doi.org/10.11606/T.46.1995.TDE-11082011-105304>

CASSINI, S. T. A.; ANTUNES, P. W. P.; KELLER, R. Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1208–1213, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800019>

CHEN, D. D. *et al.* Raman spectroscopy in quality control of Chinese herbal medicine. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 80, n. 5, p. 288–296, 2017. <https://doi.org/10.1016/J.JCMA.2016.11.009>

CODAGNONI NETO, H. *et al.* Síndrome de Stevens-Johnson associada a fenitoína em pós-operatório de hemorragia intraparenquimatosa cerebral: relato de caso. **FAG Journal of Health (FJH)**, v. 1, n. 4, p. 169–184, 20 dez. 2019. <https://doi.org/10.35984/FJH.V1I4.110>

COSTA, J. S. *et al.* Aceitabilidade dos medicamentos genéricos entre os alunos de um curso de farmácia do Norte de Minas Gerais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.22932>

CUSTERS, D. *et al.* ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics: An interesting tool to discriminate and characterize counterfeit medicines. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 112, p. 181–189, 2015. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2014.11.007>

CUSTERS, D. *et al.* Chemometrical analysis of fingerprints for the detection of counterfeit and falsified medicines. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 145–168, 2016. <https://doi.org/10.1515/revac-2016-0013>

DE LA ROSA, M. DEL C.; MEDINA, M. DEL R.; VIVAR, C. Microbiological quality of pharmaceutical raw materials. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 70, n. 3, p. 227–232, 1995. [https://doi.org/10.1016/0031-6865\(95\)00022-2](https://doi.org/10.1016/0031-6865(95)00022-2)

DÉGARDIN, K. *et al.* Near infrared spectroscopy for counterfeit detection using a large database of pharmaceutical tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 128, p. 89–97, 2016. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2016.05.004>

DELECAVE, B. A ciência das cores. **Invivo**. 2021. Disponível em: <https://www.invivo.fiocruz.br/cienciaetecnologia/a-ciencia-das-cores/>. Acesso em: 14 jul. 2023.

DENNY, G. O.; COHEN, B. A. Reactive erythema. **Pediatric Dermatology**, p. 180–226, 1 jan. 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7963-4.00016-7>

DUTRA, R. L.; JUNIOR, J. B. S.; FRITZEN, M. Estudo do uso do Paracetamol realizado em uma farmácia comercial. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 2, n. 2, p. 14–20, 2013.

FACCI, J. *et al.* Evolução da legislação e das técnicas analíticas aplicadas a estudos de estabilidade de insumos e produtos farmacêuticos. **Química Nova**, v. 43, n. 7, p. 959–973, 2020. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170565>

FERNANDES, M. R. *et al.* Storage and disposal of expired medicines in home pharmacies: emerging public health problems. **Einstein (São Paulo, Brazil)**, v. 18, p. eAO5066, 2020. [https://doi.org/10.31744/EINSTEIN\\_JOURNAL/2020AO5066](https://doi.org/10.31744/EINSTEIN_JOURNAL/2020AO5066)

FONTES, V. *et al.* Application of mid-infrared vibrational spectroscopy with Fourier transform (FTIR) in quality evaluation in commercial coffees. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e27411931753–e27411931753, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31753>

FORATO, L. A. *et al.* A Espectroscopia na região do Infravermelho e algumas aplicações. **Embrapa Instrumentação**. ISSN 1518-7179, 2010.

GABER, Y. *et al.* HPLC-EAT (Environmental Assessment Tool): A tool for profiling safety, health and environmental impacts of liquid chromatography methods. **Green Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 2021–2025, 2011. <https://doi.org/10.1039/C0GC00667J>

GONÇALVES JUNIOR, A. L. M. **Avaliação físico-química de comprimidos de paracetamol**. 2023. Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Centro Universitário Maria Milza, Mangabeira, 2023.

HABIBA, U. *et al.* IR spectra of Paracetamol. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 56, n. 4, p. 255–262, 29 dez. 2021. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v56i4.57197>

HEJAZ, H. A. *et al.* Development and characterization of Paracetamol medicated lollipops. **Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy**, v. 5, n. 1, 2020. <https://doi.org/10.1515/PTHP-2020-0012>

HEMDAN, A.; TAWAKOL, S. M. HPLC–UV Chromatographic Methods for Detection and Quantification of Undeclared Withdrawn Synthetic Medications in Counterfeit Herbal Medicines with Confirmation by HPLC–PDA and Mass Spectrometry. **Chromatographia**, v. 81, n. 5, p. 777–783, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3502-8>

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6 ed., Bookman, 2009.

HSU, J.-H. *et al.* Healthcare Functions of Cordyceps cicadae. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 05, n. 06, 2015. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000432>

JAIN, A. K.; MURTY, M. N.; FLYNN, P. J. Data clustering: a review. **A CM computing surveys (CSUR)**, v. 31, n. 3, p. 264–323, 1999.

KEMSLEY, E. K. Discriminant analysis of high-dimensional data: a comparison of principal components analysis and partial least squares data reduction methods. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 33, n. 1, p. 47–61, 1996. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(95\)00090-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)00090-9)

KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. 2. ed. AMGH Editora, 2012.

KUCHARSKA-AMBROŻEJ, K.; KARPINSKA, J. The application of spectroscopic techniques in combination with chemometrics for detection adulteration of some

herbs and spices. **Microchemical Journal**, v. 153, p. 104278, 2020.  
<https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2019.104278>

KUMAR, M.; BHATIA, R.; RAWAL, R. K. Applications of various analytical techniques in quality control of pharmaceutical excipients. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 157, p. 122–136, 5 ago. 2018.  
<https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2018.05.023>

KUMAR, S.; SINGH, S. K.; MISHRA, P. Multivariate analysis: An overview. **Journal of Dentofacial science**, v. 2, n. 3, p. 19–26, 2013.

LANÇAS, F. M. Como economizar (ou eliminar o uso de) acetonitrila em tempos de “crise”? **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 1, p. 51–60, 2009.

LARKIN, P. J. Instrumentation and Sampling Methods. **Infrared and Raman Spectroscopy**, p. 29–61, 1 jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804162-8.00003-3>

LEITE, D. O.; PRADO, R. J. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 2, p. 2504, 25 out. 2012. <https://doi.org/10.1590/S1806-11172012000200015>

LIN, Y. P. *et al.* Detection of adulterated drugs in traditional Chinese medicine and dietary supplements using hydrogen as a carrier gas. **PLOS ONE**, v. 13, n. 10, p. e0205371, 2018. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0205371>

LINS, E. F. **Estudo das respostas fisiológicas de essências florestais nativas de *Rapanea ferruginea* submetidas a diferentes faixas de radiação solar por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR)**. 2017. 57 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2017.

LONJOU, C. *et al.* A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 18, n. 2, p. 99–107, 2008.  
<https://doi.org/10.1097/FPC.0B013E3282F3EF9C>

LOPES, J.; MATHEUS, M. E. Risco de hepatotoxicidade do Paracetamol (Acetaminofem). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 411–414, 2012.

LUCENA, J. M. A. DE. **Química analítica verde no controle de qualidade de medicamentos**. 2020. Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

MALHEIROS, L. R. *et al.* Panorama atual das políticas de medicamentos genéricos no Brasil: Revisão bibliográfica / Current overview of generic drug policies in Brazil: Literature review. **Brazilian Applied Science Review**, v. 5, n. 3, p. 1342–1354, 2021. <https://doi.org/10.34115/BASRV5N3-005>

MALLAH, M. A. *et al.* A rapid Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopic method for direct quantification of paracetamol content in solid pharmaceutical formulations. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 141, p. 64–70, 15 abr. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.036>

MCCULLOUGH, M. *et al.* Steven Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in a burn unit: A 15-year experience. **Burns**, v. 43, n. 1, p. 200–205, 1 fev. 2017. <https://doi.org/10.1016/J.BURNS.2016.07.026>

MENEGUSSI, J. *et al.* Abordagem diagnóstica de um paciente com acidose tubular renal hipercalêmica. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 40, n. 4, p. 410–417, 2018. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-3821>

MOREIRA, A. F.; SANTOS, S. R. B. DOS; COSTA JUNIOR, A. G. Construção e Caracterização de um Fotômetro Destinado ao Uso de Aulas Experimentais de Química sobre a Lei de Beer-Lambert. **HOLOS**, v. 2, p. 142–151, 20 abr. 2016. <https://doi.org/10.15628/holos.2016.4016>

NANDIYANTO, A. B. D.; OKTIANI, R.; RAGADHITA, R. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. **Indonesian Journal of Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 97–118, 7 mar. 2019. <https://doi.org/10.17509/IJOST.V4I1.15806>

NASCIMENTO, A. L. **Avaliação da aplicabilidade da multiplicação APAPxAT, comparativamente ao nomograma de Rumack-Matthew, nos casos de suspeita de intoxicação atendidos pelo CIATox-SC**. 2019. Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

NEIVA, A.; TREVISAN, M. Influência do armazenamento e prazo de validade na estabilidade e ocorrências de eventos adversos no uso de medicamentos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e91101522341–e91101522341, 2021. <https://doi.org/10.33448/RSD-V10I15.22341>

NUGRAHANI, I.; MANOSA, E. Y.; CHINTYA, L. FTIR-derivative as a green method for simultaneous content determination of caffeine, paracetamol, and acetosal in a tablet compared to HPLC. **Vibrational Spectroscopy**, v. 104, p. 102941, 2019. <https://doi.org/10.1016/J.VIBSPEC.2019.102941>

OLIVEIRA, J. C. DE; BELCHIOR, F. N. Energia elétrica produzida por um sistema fotovoltaico versus dados meteorológicos – uma aplicação da correlação de Pearson. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 52075–52088, 7 jun. 2021. <https://doi.org/10.34117/BJDV.V7I5.30314>

OLIVEIRA, R. X. DE *et al.* O uso de antimicrobianos na Atenção Primária à Saúde / The use of antimicrobials in primary health care. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 3048–3056, 2021. <https://doi.org/10.34119/BJHRV4N1-242>

OLSON, K. R. **Manual de toxicologia clínica**. 6. ed. AMGH Editora, 2014.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; OLIVEIRA, A. C. A. X. Nonbioequivalent prescription drug interchangeability, concerns on patient safety and drug market dynamics in Brazil.

**Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2549–2558, 2017.  
<https://doi.org/10.1590/1413-81232017228.04352017>

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

PEREIRA COUTINHO JÚNIOR, M. E. *et al.* As políticas de medicamentos no Brasil entre 1964 e 2006: uma revisão integrativa. **Revista Uningá**, v. 55, n. 4, p. 62–79, 2018. <https://doi.org/10.46311/2318-0579.55.EUJ2345>

RANG, R. *et al.* **Rang & Dale. Farmacologia**. v. 8. Elsevier Brasil, 2016.

RIBEIRO, M. V. DE M. *et al.* 1H NMR determination of adulteration of anabolic steroids in seized drugs. **Steroids**, v. 138, p. 47–56, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/J.STEROIDS.2018.07.002>

RICACHENEVSKY, C. *et al.* Determinação de cloridrato de fluoxetina em medicamentos por espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 11, n. 1, p. 149–169, 2020.  
<https://doi.org/10.25112/rtt.v11i1.2303>

RODRIGUES, B. J. S. *et al.* Análise dos impactos ambientais de uma indústria de torrefação e moagem no município de Bambuí/ MG. *In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE GESTÃO EMPRESARIAL E MEIO AMBIENTE*, 17., 2015, São Paulo. **Anais...**, São Paulo, 2015.

ROGGO, Y. *et al.* A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 44, n. 3, p. 683–700, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.03.023>

ROSENBERG, G. *et al.* Análise comparativa da concentração industrial e de turnover da indústria farmacêutica no Brasil para os segmentos de medicamentos de marca e genéricos. **Economia e Sociedade**, v. 19, n. 1, p. 107–134, abr. 2010.  
<https://doi.org/10.1590/S0104-06182010000100005>

ROSSI, A. C. DE; LIMA, V. A. DE. Processed Drug Classification and Temporal Analysis by Technical Chemometrics for Quality Controlling Using Spectroscopy of FT-IR and X-Ray Diffraction. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 10, n. 7, p. 496–502, 25 dez. 2018. <https://doi.org/10.17807/ORBITAL.V10I7.1138>

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 387–396, 2004.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300015>

SABLINSKAS, V.; STEINER, G.; HOF, M. Section II: Methods 1: Optical Spectroscopy, Applications. **Handbook of Spectroscopy**, v. 1, p. 98–103, 2003.

SACRÉ, P. Y. *et al.* Comparison and combination of spectroscopic techniques for the detection of counterfeit medicines. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, n. 3, p. 445–453, 2010. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2010.05.012>

SAHLE, S. B.; AYANE, A. T.; WABE, N. T. Comparative quality evaluation of Paracetamol tablet marketed in Somali region of Ethiopia. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 2, p. 545, 2012. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3\(2\).545-50](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(2).545-50)

SANCHES, N. B. *et al.* Avaliação da aplicabilidade de técnicas FT-IR de reflexão (UATR) e de transmissão para a determinação do teor de acrilonitrila (AN) em NBR. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, p. 249-255, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282008000300011>

SANTANA, L. L. B. *et al.* Extraction of Paracetamol and mass dispersion analyzes of tablets: comparing generic and brand name drugs in undergraduate experiment. **Química Nova**, v. 43, n. 9, p. 1326–1332, 2020. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170596>

SILVA, A. R. **O uso de espectroscopia infravermelha (FT-IR) em análise estatística multivariada no estudo do veneno de serpentes**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2011.

SILVA, C. S. DA. **A importância da implantação dos medicamentos genéricos no Brasil**. 2020. Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.

SILVA, F. DE M. A. DA; SAKANE, K. K. Análise do clonazepam em amostras de medicamentos referência e genéricos por espectroscopia no infravermelho (FTIR-ATR). **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 743, 11 abr. 2017. <https://doi.org/10.18066/REVISTAUNIVAP.V22I40.1525>

SILVA, G. C. DA *et al.* Uma comparação por intoxicação no uso indiscriminado do Paracetamol versus ibuprofeno em crianças menores de 5 anos: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e41911730280–e41911730280, 27 maio 2022. <https://doi.org/10.33448/RSD-V11I7.30280>

SILVA, R. E. DA *et al.* Risk factors for, and treatment of, Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: Evidence from the literature. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 12, n. 4, p. 61–70, 29 jan. 2018. <https://doi.org/10.5897/AJPP2017.4873>

SILVA, N. C. S.; ROCHA, L. C. Medicamentos genéricos: legislação, política e mercado. **Única Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 1, 2016.

SILVERSTEIN, R. M. *et al.* **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Grupo Gen - LTC, 2010.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Teaching experiment of chemometrics for exploratory analysis of edible vegetable oils by mid infrared spectroscopy and principal component analysis: a tutorial, part I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100039>

STUART, B. H. **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2004.

SUBRAMANIAN, A.; RODRIGUEZ-SAONA, L. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**, p. 145–178, 1 jan. 2009. 178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374136-3.00007-9>

TANGAMORNSUKSAN, W. *et al.* Relationship Between the HLA-B\*1502 Allele and Carbamazepine-Induced Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA Dermatology**, v. 149, n. 9, p. 1025–1032, 1 set. 2013. <https://doi.org/10.1001/JAMADERMATOL.2013.4114>

TESCAROLLO, I. L. Avaliação da qualidade de soluções orais de Paracetamol. **Revista Ensaios Pioneiros**, v. 3, n. 1, p. 28–36, 2020. <https://doi.org/10.24933/REP.V3I1.189>

TONON, A. V. *et al.* Consequências da automedicação e uso indiscriminado do anti-inflamatório não esteroide Paracetamol em adultos. **Revista Artigos. Com**, v. 22, p. e5797–e5797, 3 dez. 2020.

TÓTOLI, E. G.; STAIN, S. N. Verificação da Qualidade Microbiológica de Medicamentos Contendo Paracetamol Encontrados em Algumas Residências de Américo Brasiliense/Sp. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 14, n. 2, p. 37–49, 15 jul. 2011. <https://doi.org/10.25061/2527-2675/ReBraM/2011.v14i2.110>

VELOSO, J. H. **Cromatografia líquida verde e sustentável aplicada ao estudo de Byrsonima intermedia e Terminalia catappa: desenvolvimento de estratégias e métodos de investigação**. 2018. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018.

WANG, J. *et al.* Fourier transform infrared spectroscopy for Kona coffee authentication. **Journal of food science**, v. 74, n. 5, p. C385–C391, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01173.x>

WILSON, P.; MASSE, C. Detection of Synthetic Drugs as Adulterants in Natural and Herbal Slimming Products by LC-ESI-MS/MS with Polarity Switching. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 99, n. 4, p. 929–940, 2016. <https://doi.org/10.5740/JAOACINT.15-0295>

WU, J. Y. D.; LOMBARDO, M.; ESERIAN, J. K. Ensaios de identificação de paracetamol: uma jornada através de diferentes técnicas analíticas. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 4, n. 3, p. 37–44, 2022. <https://doi.org/10.29327/226760.4.3-4>

WU, W.; MASSART, D. L.; DE JONG, S. The kernel PCA algorithms for wide data. Part I: theory and algorithms. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 36, n. 2, p. 165–172, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(97\)00010-5](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(97)00010-5)

XIE, X. *et al.* multi-fingerprint profiling analysis for screening and quantification of illegal adulterated antidiabetics in a functional food using HPLC coupled to diode array detection/fluorescence detection. **Microchemical Journal**, v. 149, p. 103995, 2019. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2019.103995>

ZAPATA, F. *et al.* Introducing ATR-FTIR Spectroscopy through Analysis of Acetaminophen Drugs: Practical Lessons for Interdisciplinary and Progressive Learning for Undergraduate Students. **Journal of Chemical Education**, v. 98, n. 8, p. 2675–2686, 10 ago. 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c01231>

ZHANG, J. *et al.* Current Perspectives on Severe Drug Eruption. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology 2021 61:3**, v. 61, n. 3, p. 282–298, 17 jul. 2021. <https://doi.org/10.1007/S12016-021-08859-0>

ZILKER, M.; SÖRGEL, F.; HOLZGRABE, U. A systematic review of the stability of finished pharmaceutical products and drug substances beyond their labeled expiry dates. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 166, p. 222–235, 2019. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2019.01.016>