



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**CONSTRUÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE MEDICAMENTOS A BASE DE  
PARACETAMOL ASSOCIADO A CAFEÍNA OBTIDOS POR REGRESSÃO POR  
MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS**

**AMARO DA COSTA**

**CAMPINA GRANDE – PB – BRASIL  
AGOSTO DE 2015**

**AMARO DA COSTA**

**CONSTRUÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE MEDICAMENTOS A BASE DE  
PARACETAMOL ASSOCIADO A CAFEÍNA OBTIDOS POR REGRESSÃO POR  
MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros**

**Coorientador: Prof. Dr. José Germano Vêras Neto**

**CAMPINA GRANDE – PB – BRASIL**

**AGOSTO DE 2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

C837c Costa, Amaro da.

Construção dos perfis de dissolução de medicamentos a base de paracetamol associado a cafeína obtidos por regressão por mínimos quadrados parciais [manuscrito] / Amaro da Costa. - 2015.

62 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.

"Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia".

1. Perfis de dissolução. 2. Paracetamol. 3. Cafeína. 4. Calibração multivariada. I. Título.

21. ed. CDD 615.5

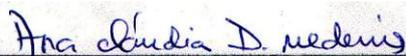
## AMARO DA COSTA

CONSTRUÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE MEDICAMENTOS A BASE DE PARACETAMOL ASSOCIADO A CAFEÍNA OBTIDOS POR REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

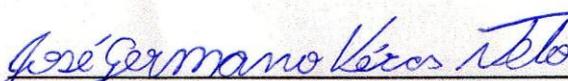
Aprovada em: 21/08/2015

### BANCA EXAMINADORA



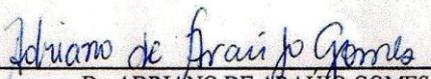
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ANA CLÁUDIA DANTAS DE MEDEIROS

Orientadora (UEPB)



Prof. Dr. JOSÉ GERMANO VÉRAS NETO

Coorientador (UEPB)



Dr. ADRIANO DE ARAÚJO GOMES

Examinador Externo (UEPB)



Dr. PAULO HENRIQUE GONÇALVES DIAS DINIZ

Examinador Interno (UEPB)

***Dedico este trabalho***

*Aos meus pais, Manuel Gusmão Soares (in memoriam) e Merlinda Soares, que me liberaram a sair do país para estudar;*

*Aos meus irmãos, Marcelino, Cristalina, Tomas e Domingas, que sempre me apoiaram durante o período do estudo,*

*A toda família da “**Uma Lisan Moreira**”, que sempre me deu coragem e confiança a enfrentar toda a dificuldade aqui fora,*

*A minha namorada, Branca, que sempre me deu confiança e compreensão durante o período de estudo e até a finalização deste trabalho.*

## AGRADECIMENTO

A conclusão deste trabalho encerra uma fase muito difícil e também de muitas conquistas, mas somente possíveis porque não estive sozinho. Por esta razão, agradeço a Deus todo poderoso, que sempre me guia, me ilumina e me dá força nos momentos difíceis. E gostaria de agradecer também àqueles que estiveram comigo ao longo deste caminho:

- ⊗ À Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiro, minha orientadora, pela confiança e por me aceitar como seu orientando, e que com sua experiência, paciência e incentivo soube me conduzir na realização deste trabalho;
- ⊗ Ao meu coorientador, Prof. Dr. José Germano Vêras Neto, que me recebeu como orientando, pelo seu conhecimento profundo, paciência, experiência e pelo carinho a me orientar deste início do trabalho até o fim;
- ⊗ Ao Governo da República Democrática de Timor Leste (RDTL), que me deu a oportunidade como bolsista, pelo apoio financeiro desde o começo de estudo até a finalização deste trabalho através do programa do Fundo Desenvolvimento do Capital Humano;
- ⊗ Ao Adido da Educação, senhor Luís de Sousa Sequeira, como representante do Ministério da Educação do Timor Leste em Brasília, que sempre deu-nos assistência a todos os bolsistas do Timor Leste no Brasil;
- ⊗ Ao Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba (PPGCF) pela oportunidade, que possibilitou a minha capacitação;
- ⊗ Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas, Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, pelo apoio e auxílio durante o período da minha formação;
- ⊗ Ao ex-Coordenador do Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas, Prof. Dr. José Alexandro da Silva, que com carinho me recebeu e também pelo auxílio na minha adaptação como discente estrangeiro neste programa;
- ⊗ Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas, pelos conhecimentos que compartilharam comigo como meio no meu crescimento pessoal;

- ⌘ A Coordenação de Relações Internacionais da Universidade Estadual da Paraíba, pela boa cooperação, que me possibilitou ser estudante desta instituição e pela colaboração máxima possível a todos os estudantes estrangeiros, como eu;
- ⌘ Aos Professores: Haissa Vitoriano, Onildo, Thiciany e Roberta Paiva Soares, pelos ensinamentos durante o período de adaptação da língua portuguesa brasileira aos estudantes timorenses e com carinho nos acompanharam durante a nossa formação;
- ⌘ Aos Profa. Dra. Francinalva Dantas de Medeiros, Prof. Dr. Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz e Dr. Adriano de Araújo Gomes, por suas considerações nas bancas, tanto de qualificação quanto de defesa da dissertação, que ajudaram muito para a versão final deste trabalho;
- ⌘ Aos meus amigos, bolsistas de Timor Leste, que me apoiaram tanto direta quanto indiretamente durante minha estadia aqui na UEPB e que também me deram conselhos na hora de enfrentar dificuldades;
- ⌘ Aos colegas Felipe Hugo, Fernando Ramos, Jôffily, Gean Costa e Valber Elias, que com delicadeza me ensinaram alguns conhecimentos que foram úteis na realização do trabalho;
- ⌘ Aos meus colegas do Laboratório Desenvolvimento de Testes e Medicamentos (LABDEM), pela convivência, carinho e apoio em todos os momentos em que precisei na realização e na finalização deste trabalho;
- ⌘ Aos colegas do Laboratório de Química Analítica e Quimiometria (LQAQ), pelo espírito de convivência, brincadeiras e também pela sinceridade a tirar as dúvidas que tive, pelo auxílio durante a realização deste trabalho;
- ⌘ Aos colegas da minha turma de 2013 do PPGCF, pela convivência, ajuda e todos os apoios que obtive em todo período de estudo;
- ⌘ Aos amigos da turma 2012 do PPGCF, pela amizade, por me receberem e me auxiliarem na adaptação à vida de mestrando;
- ⌘ Ao diretor do Ensino Secundário Geral Público 01 de Baucau e aos colegas do trabalho, que sempre manifestaram seus apoios durante minha formação;
- ⌘ Aos irmãos Justino Ximenes e Januário Fernandes (Bolsistas) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), e Juvêncio Amaral com sua sinceridade deram auxílios na execução do meu trabalho.
- ⌘ Aos colegas Alencar Neto, Fernanda Ílary, Lucas Almeida, Jéssica Melo por sua gentileza prestaram auxílios durante a realização do trabalho.

*Aprendi o silêncio com os faladores, a tolerância com os intolerantes, a bondade com os maldosos; e, por estranho que pareça, sou grato a esses professores.*

***Khalil Gibran***

*Se você acabar com uma vida tediosa e miserável porque você ouviu seus pais, seus professores, seu padre ou alguma pessoa na televisão, dizendo para você como conduzir a sua vida, então a culpa é só sua e você merece.*

***Frank Zappa***

*A conquista é um acaso que talvez dependa mais das falhas dos vencidos do que do gênio do vencedor.*

***Madame de Staël***

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	i
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ii
<b>LISTAS DE ABREVIACÕES</b> .....	iii
<b>RESUMO</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	4
3.1 DISSOLUÇÃO .....	4
3.1.1 Ensaio de Dissolução .....	5
3.1.2 Perfis de Dissolução .....	6
3.1.3 Fatores que Influenciam a Dissolução de um Fármaco.....	8
3.1.4 Fatores que Interferem no Teste de Dissolução .....	11
3.2 FÁRMACOS.....	12
3.2.1 Paracetamol .....	12
3.2.2 Cafeína .....	14
3.2.3 Associação entre Paracetamol e Cafeína.....	15
3.3 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO DE PARACETAMOL E CAFEÍNA.....	16
3.3.1 Ensaios de Dissolução de Paracetamol .....	16
3.3.2 Ensaios de Dissolução de Cafeína.....	17
3.3.3 Teste de Dissolução de Misturas Paracetamol e Cafeína .....	17
3.4 MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADO.....	17
3.4.1 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais.....	18

<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
4.1 MATERIAL E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS .....	22
4.2 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS E DOS PADRÕES .....	22
4.3 PERFIS DE DISSOLUÇÃO .....	23
4.4 ANÁLISE DAS MISTURAS DAS SOLUÇÕES PADRÃO .....	24
4.5 TRATAMENTO DE DADOS .....	25
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
5.1 MODELO DE REGRESSÃO PLSR PARA PARACETAMOL .....	27
5.2 MODELO DE REGRESSÃO PLSR PARA CAFEÍNA .....	30
5.3 CURVAS DE DISSOLUÇÃO .....	34
5.3.1 Paracetamol .....	36
5.3.2 Cafeína .....	37
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	40
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	41

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fórmula estrutural de paracetamol. ....	12
<b>Figura 2</b> - Fórmula estrutural de cafeína. ....	14
<b>Figura 3</b> - Dissolutor.....	22
<b>Figura 4</b> - Aparato pá e cuba de dissolução.....	23
<b>Figura 5</b> - Espectro de paracetamol (azul) e cafeína (vermelho) na concentração de 6,67 e 0,87 mol/L, respectivamente. ....	26
<b>Figura 6</b> - Espectros do conjunto de calibração.....	27
<b>Figura 7</b> - Variância residual em Y em função das variáveis latentes do modelo.....	28
<b>Figura 8</b> - Coeficientes de regressão do modelo PLSR para o fator 1 (linha azul), fator 2 (verde), fator 3 (vermelha) e fator 4 (azul claro).....	28
Figura 9 - Gráfico de Hotelling T2 para a terceira variável latente.....	29
<b>Figura 10</b> - Valor nominal versus valor predito pelo modelo PLSR para calibração. A linha sólida representa a reta ideal ajustado entre valor nominal e predito.....	30
<b>Figura 11</b> - Variância residual em Y em função das variáveis latentes do modelo.....	31
<b>Figura 12</b> - Coeficientes de regressão do modelo PLSR (A) para os fatores 1 (azul), 2 (vermelho), 3 (verde), 4 (azul claro), 5 (marrom) e 6 (cinza) e em (B) apenas para o primeiro fator.....	32
<b>Figura 13</b> - Gráfico de Hotelling T2 para a terceira variável latente.....	32
<b>Figura 14</b> - Valor nominal versus valor predito pelo modelo PLSR. A linha sólida representa a reta ideal ajustado entre valor nominal e predito.....	33
<b>Figura 15</b> - Espectros do conjunto de calibração (linhas pretas), amostras de comprimidos dissolvidos em distintos tempos (linhas azuis).....	34
<b>Figura 16</b> - Típicas superfícies tempo de dissolução x comprimentos de onda para as amostras de (A) Referência; (B) Genérico A e (C) Genérico B.....	35
<b>Figura 17</b> - Curvas de dissolução média preditas pelo modelo PLSR para o paracetamol. R (linha azul); GA (linha vermelha) e GB (linha verde).....	37
<b>Figura 18</b> - Curvas de dissolução média preditas pelo modelo PLSR para a cafeína. R (linha azul); GA (linha vermelha) e GB (linha verde).....	39

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Concentração de paracetamol e cafeína em cinco níveis de concentrações. ....	24
<b>Tabela 2</b> - Matriz de Planejamento Fatorial completo $5^2$ , com ponto central das soluções de trabalho. ....	24
<b>Tabela 3</b> - Métricas dos resultados para calibração e validação do modelo PLSR para o paracetamol.....	29
<b>Tabela 4</b> - Métricas dos resultados para calibração e validação do modelo PLSR para a cafeína.....	33
<b>Tabela 5</b> - Valores de concentração média preditas de paracetamol para as amostras de comprimidos, em distintos tempos de dissolução. ....	36
<b>Tabela 6</b> - Valores de concentração média preditas de cafeína, para as amostras de comprimidos, em distintos tempos de dissolução. ....	37

## LISTAS DE ABREVIACÕES

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AUC – Área sob a curva de dissolução ( do inglês, *area under the curve*)

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, *High-Performance Liquid Chromatography*)

HPLC – DAD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (do inglês, *High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection*)

dp – Desvio padrão

ed – Eficiência de dissolução

EMA – *European Medicines Agency*

FDA – *Food and Drug Administration*

PCA – Análise por Componentes Principais (do inglês, *Principal Component Analysis*)

PLSR – Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (do inglês, *Partial Least Squares Regression*)

$R^2$  – Coeficiente de determinação

RMSEC – Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (do inglês, *Root Mean Square Error of Calibration*)

RMSECV - Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada (do inglês, *Root Mean Square Error of Cross Validation*)

RMSEP – Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Predição (do inglês, *Root Mean Square Error of Prediction*)

SCB – Sistema de Classificação Biofarmacêutica

UV-VIS – Ultravioleta visível

VL – Variável Latente

## RESUMO

Da Costa, A. **Construção dos perfis de dissolução de medicamentos a base de paracetamol associado a cafeína obtidos por regressão por mínimos quadrados parciais.** Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2015.

A absorção de um produto farmacêutico em forma sólida, após a sua administração por via oral depende de vários fatores, tais como liberação e solubilização do fármaco e sua permeação através do trato gastrointestinal. Assim, o objetivo deste trabalho foi construir os perfis de dissolução de medicamentos à base de paracetamol e cafeína, utilizando regressão por mínimos quadrados parciais. O perfil de dissolução foi realizado utilizando como meio de dissolução água destilada com aparato 2, por 30 minutos. A coleta das amostras foi realizada nos tempos entre 5 a 30 minutos, sendo as alíquotas filtradas e diluídas com água destilada na proporção de 1:100 (v/v). Os perfis de dissolução foram registrados na faixa espectral de 190 a 300 nm em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis. Para a análise dos dados foi utilizada a regressão pelo método dos mínimos quadrados parciais (PLSR), utilizando o *software The Unscrambler 9.8*. Os modelos PLS para paracetamol e cafeína apresentaram-se adequados, com baixo valor de raiz quadrada do erro médio quadrática de calibração (RMSEC) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ), que se aproxima de 1, com bias não significativos e baixo valor do erro relativo de predição (REP). Comparando os perfis de dissolução dos fármacos, percebeu-se que o medicamento de referência apresentou uma variação do perfil entre lotes muito mais baixo do que os medicamentos genéricos, o que indica uma maior uniformidade na produção e qualidade das matérias prima. Quando avaliou-se o grau de similaridade entre os medicamentos, observou-se que as três marcas não são diferentes estatisticamente, pois os valores de fator diferença ( $f_1$ ) para paracetamol estão abaixo do limite crítico especificado. Portanto, os modelos PLS construídos são viáveis para ser utilizados no controle da qualidade de medicamentos, principalmente no estudo de dissolução que contenham paracetamol e cafeína associados em medicamento. Além disso, o método desenvolvido pode ser considerado barato e rápido para alcançar os resultados pretendidos, sem necessidade de separação prévia.

**Palavras-chave:** Perfil de dissolução, Paracetamol, cafeína, calibração multivariada.

## ABSTRACT

Da Costa, A. **Construction the dissolution profiles of paracetamol-based drug associated with caffeine obtaining by partial least squares regression.** Master's Dissertation. Campina Grande-PB: UEPB, 2015.

The absorption of a pharmaceutical product in a solid form after oral administration depends on several factors, such as release and solubilization of the drug and its permeation through the gastrointestinal tract. The aim of this study was to construct the dissolution profiles of medicinal products based on paracetamol and caffeine using partial least squares regression. The dissolution profile was determined using distilled water as the dissolution medium with apparatus 2 for 30 minutes. The collection of samples was performed in times between 5 to 30 minutes, and aliquots of the filtered and diluted with distilled water in the ratio of 1: 100 (v / v). The dissolution profiles were registered in the range 190-300 nm in molecular absorption spectrophotometer UV-Vis. To analyse the data, the study used the method of partial least squares regression (PLSR) using The Unscrambler 9.8 software. The PLS models for paracetamol and caffeine had to be suitable, low value the root mean square error of calibration (RMSEC) and coefficient of determination (R<sup>2</sup>), which is closed to 1, with no significant bias and low value the relative error of prediction (REP). In comparing the dissolution profiles of the drugs, it was noted that the reference product showed a variation profile between batches much lower than generic drugs, which indicates greater uniformity in the production and quality of raw materials. When evaluated the degree of similarity between the drugs was observed that the three marks are not statistically different, since the values of difference factor (F1) to paracetamol is below the critical limit specified. Therefore, the constructed models of PLS are feasible for the use in the quality control of medicines, especially in the study of dissolution that contain acetaminophen and caffeine associated drugs. In addition, the method developed can be considered cheap and fast to achieve the desired results, without prior separation.

Keywords: Dissolution profiles, Paracetamol, Caffeine, multivariate calibration.

## 1. INTRODUÇÃO

Os medicamentos em formas farmacêuticas sólidas, como cápsulas e comprimidos, são aqueles que apresentam maiores problemas relacionados à biodisponibilidade, que é a velocidade e extensão em que um fármaco chega a circulação sistêmica. Entretanto, para que esta absorção ocorra é necessário que o fármaco seja liberado da formulação. Esta liberação deve ser avaliada pela dissolução dos comprimidos, levando em consideração os excipientes presentes e fatores intrínsecos do próprio fármaco, como solubilidade, processo de manipulação, dentre outros (MALHE *et al.*, 2007; KRISHNA e YU, 2008).

Assim, a dissolução de comprimidos permite a compreensão da ação global do fármaco, a adequação de formas de dosagem, além da consistência de fabricação, desempenho e similaridade entre os lotes tanto do mesmo fabricante, quanto de fabricantes diferentes. (MAGGIO *et al.*, 2013). O processo de avaliação de um medicamento por meio da dissolução é denominado de ensaio de dissolução, que é, em essência, o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo. Esse teste físico avalia a liberação do fármaco do estado sólido, que passa da forma farmacêutica para a solução, com a finalidade de comprovar a qualidade das formulações e permitir a otimização em seu desenvolvimento (KRISHNA e YU, 2008; CHORILLI *et al.*, 2010).

Apesar de ser um teste fundamental para formas farmacêuticas sólidas, as farmacopeias brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), americana (USP, 2013) e britânica (BRITISH PHARMACOPEIA, 2013) apresentam um número diminuto de monografias que apresentam procedimentos de análise em medicamentos com associação de fármacos, apesar da significativa quantidade de produtos encontrados comercialmente.

Vale ressaltar que as poucas monografias que apresentam testes oficiais de dissolução de fármacos associados em medicamentos utilizam como métodos de análise a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*), com detecção por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta. Exemplo de monografias que possuem estudos de associação de fármacos é o apresentado para os fármacos: zidovudina com lamivudina e sulfametoxazol com trimetoprima (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Em termos da farmacopeia americana, recomenda-se que as monografias de medicamentos com fármacos associados utilizem HPLC para teste de dissolução, como por exemplo, cafeína, aspirina e codeína (USP, 2013). E na farmacopeia

britânica a utilização de HPLC para teste de dissolução também é destacada para as monografias de medicamentos em associação, como por exemplo para os comprimidos de paracetamol, codeína e cafeína (BRITISH PHARMACOPEIA, 2013).

Como pontos negativos dos procedimentos indicados nas farmacopeias destaca-se que apesar da metodologia por HPLC ser altamente seletiva, requer solventes especiais em grande quantidade, requerendo etapas de pré-tratamento das amostras. Assim sendo, caracteriza-se como sendo uma técnica dispendiosa e laboriosa na execução de análise, quando comparada a técnicas espectroscópicas mais simples. Entretanto, o uso de apenas um comprimento de onda, utilizando espectroscopia UV-Vis é inadequado para testar as amostras de misturas farmacêuticas e para construção de perfis de dissolução em medicamentos com fármacos associados ou com excipientes interferentes (MAGGIO *et al.*, 2013).

Para superar os inconvenientes apresentados, é possível utilizar medidas espectrais por absorção molecular em toda a região do ultravioleta e não apenas com um único comprimento de onda, sem necessidade de separação cromatográfica. Porém, a quantidade de dados obtidos a partir dos perfis de dissolução, em medidas de varredura espectral, é muito grande e pouco elucidativa sem o tratamento adequado. Além do que, a não separação dos constituintes do medicamento permite interferências de excipientes, por exemplo. Assim, faz-se necessário o uso de técnicas quimiométricas, que podem contribuir para a elucidação dos processos de dissolução dos fármacos existentes e/ou de excipientes interferentes no processo.

Assim, neste trabalho pretendeu-se construir os perfis de dissolução de medicamentos, contendo os fármacos paracetamol e cafeína, genéricos e de referência, utilizando a região UV-Vis e regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR, do inglês *Partial Least Squares Regression*).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Construir perfis de dissolução de medicamentos a base de paracetamol associado à cafeína, de diferentes marcas, por meio de regressão por mínimos quadrados parciais e compará-los em medicamentos de diferentes marcas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ⊗ Construir modelos PLS para predição de paracetamol e cafeína em medicamentos analgésicos na forma farmacêutica sólida;
- ⊗ Construir perfis de dissolução dos fármacos analgésicos de paracetamol e cafeína, nos medicamentos de diferentes marcas obtidos a partir dos modelos PLS;
- ⊗ Utilizar modelo independente de fator diferença,  $f_1$ , e de semelhança,  $f_2$ , para comparar os perfis de dissolução dos fármacos analgésicos de paracetamol e cafeína, nos medicamentos de diferentes marcas.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 DISSOLUÇÃO

Os ensaios de dissolução de formas farmacêuticas sólidas são extremamente importantes, uma vez que estes ensaios avaliam a qualidade lote a lote de insumos ativos farmacêuticos, podendo orientar o desenvolvimento de novos medicamentos (BONFILIO *et al.*, 2012).

As formas farmacêuticas sólidas são amplamente prescritas na prática clínica, pois são estáveis, econômicas e geralmente seguras. Entretanto, os comprimidos e cápsulas podem apresentar problemas relacionados à biodisponibilidade. Para que a absorção dos fármacos ocorra é preciso que este se liberte da formulação e se solubilize nos meios fisiológicos, para assim estar disponível para atravessar membranas biológicas. Este fenômeno é denominado de dissolução, que é uma importante ferramenta para o estabelecimento de equivalência farmacêutica, pois permite elucidar o perfil de liberação de um fármaco através da análise em tempos pré-estabelecidos (KASSAYE e GENET, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2006; SANTOS, 2009).

O estudo de dissolução foi realizado pela primeira vez por Noyes e Whitney (1897), que concluíram que a velocidade de solubilização, conforme a lei de difusão seria proporcional à concentração do filme da solução saturada que se forma ao redor da partícula sólida (camada de fusão) e à concentração do restante da solução. Com base nessas observações, os autores foram capazes a desenvolver uma equação matemática para a taxa de dissolução em relação ao gradiente da solubilidade do sólido. Atualmente, essa equação ainda é útil como fórmula básica para tratamento matemático no processo de dissolução (GENNARO, 2004; MARCOLONGO, 2003).

A partir do trabalho original de Noyes e Whitney, os estudos sobre dissolução centralizaram-se nos processos físico-químicos da dissolução e aplicações às substâncias químicas. Na época, vários estudos foram realizados, entre eles o desenvolvimento da lei de dissolução, proposto por Hixson e Crowell (1931), que é mais conhecido como a Lei da Raiz Cúbica para dissolução.

Alguns anos depois, Amidon *et al.* (1995) apresentaram o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que admitiu a classificação dos fármacos fundamentado nos

parâmetros de solubilidade e permeabilidade. O SCB levou em consideração três fatores importantes, que são: dissolução, solubilidade e permeabilidade no trato gastrointestinal.

A intenção do SCB foi fornecer uma ferramenta regulatória para substituir determinados estudos de bioequivalência por testes de dissolução *in vitro*, reduzindo o número de voluntários sadios, que são utilizados nos estudos de novos fármacos (LENNERNÄS e ABRAHAMSSON, 2005). O SCB tem sido muito útil na descoberta de fármacos, desenvolvimento de produtos e na regulação de medicamentos. O esquema de classificação capta dois importantes fatores: a absorção do fármaco por via oral e a sua solubilidade e permeabilidade intestinal. Esse sistema foi subclassificado e essas subclasses são baseadas nas propriedades fundamentais do fármaco, podendo servir como uma base para prever o desenvolvimento de dissolução *in vivo* e as metodologia de absorção (TSUME *et al.*, 2014).

Desde sua introdução, as agências regulatórias utilizam o sistema SCB, para admitir que testes de dissolução *in vitro* sejam usados para estabelecer bioequivalência no caso de fármacos altamente solúveis e altamente permeáveis (COOK *et al.*, 2008).

### 3.1.1 Ensaio de Dissolução

Testes de dissolução podem ser utilizados para orientar o desenvolvimento de novas formulações, avaliar a influência da mudança do processo de formulação e/ou produção e da equivalência farmacêuticas entre apresentações de diferentes fabricantes, para o controle da qualidade lote a lote de uma determinada especialidade e a taxa de liberação *in vitro* de um ou mais fármacos (RODRIGUES *et al.*, 2006; MAGGIO *et al.*, 2013).

Um ensaio de dissolução pode fornecer informações em três áreas-chave. Primeiro, deve ser capaz de detectar alterações nas propriedades físico-químicas do fármaco, a partir do efeito dessas modificações na taxa de liberação da substância medicamentosa. Esta informação é útil para estabelecer a consistência de produção lote a lote pelo controle de qualidade. Segundo, o teste de dissolução deve ser capaz de discriminar medicamentos que foram fabricados com diferentes processos e/ou formulações durante a fase de desenvolvimento em si. Por último, quando o estudo de correlação *in vitro-in vivo* é realizado, o teste de dissolução também deve revelar as taxas de absorção e de liberação do fármaco no organismo humano (CHAN *et al.*, 2004).

Cada ensaio envolve um processo de duas etapas: preparação de amostra, que inclui todo processo de dissolução; e coleta da amostra e análise, tanto diretamente na amostra

retirada do aparato, quanto depois da sua manipulação, como por exemplo, diluição para obter solução de trabalho (CHAN *et al.*, 2004).

Para os medicamentos de liberação imediata, além dos testes em um único ponto ou em dois pontos, existem também os perfis de dissolução, nos quais permitem avaliar e comparar à cinética e eficiência da dissolução de um determinado produto, a partir de um conjunto de comprimentos de onda (STORPIRTIS e RODRIGUES, 1998; MARCOLONGO, 2003; SERRA e STORPIRTIS, 2007).

### 3.1.2 Perfis de Dissolução

O perfil de dissolução é um teste *in vitro* que permite a construção de uma curva de absorbância em função do tempo. Em geral utiliza as condições estabelecidas nos ensaios de dissolução descritos nas farmacopeias. O estudo dos perfis de dissolução é aplicado no desenvolvimento e controle da qualidade de medicamentos, no estudo de bioequivalência dos fármacos de menores dosagens e em estudos de correlação *in vitro-in vivo* (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; BRASIL, 2010).

A realização do estudo de dissolução objetiva avaliar os perfis de dissolução, que tem utilidade nas seleções de formulações durante o desenvolvimento farmacotécnico, na avaliação, otimização e estabilidade de formulações, e na avaliação de alterações feitas em produtos farmacêuticos que estão disponíveis no mercado. Além disso, serve como ferramenta importante para o controle da qualidade lote a lote e para estabelecer a similaridade entre o produto de referência e suas novas formulações, tanto genéricos quanto similares. O maior obstáculo para realizar essa comparação é como determinar o grau de similaridade entre as amostras (ADAMS *et al.*, 2001; CASCONI *et al.*, 2011; COSTA e LOBO, 2001).

O percentual de um fármaco dissolvido é medido a partir da absorbância em determinado tempo de coleta, já para avaliação do perfil de dissolução de um dado fármaco são necessários diversos pontos (MOORE e FLANNER, 1996; ADAMS *et al.*, 2001).

Em relação à comparação do perfil de dissolução vários métodos foram propostos, os quais podem ser agrupados em dois tipos de modelo: independente, baseados na relação entre uma amostra e uma medida comparativa, ou dependente, com ajuste de curvas. Exemplos de métodos de modelo independente são análise de variância (ANOVA), ensaio de dissolução média, como a razão de percentual do fármaco dissolvido, área sob as curvas e tempo médio de dissolução e outros testes de combinações, como índices de resigmo-  $\xi_1$  e  $\xi_2$  e fatores  $f_1$  e  $f_2$  (XIE e CHENG, 2015; SHAH *et al.*, 1998). Por outro lado, os métodos de modelo dependente são Hixson–Crowell, quadrático, Higuchi, ordem zero, ordem um, dentre outros

(POLLI *et al.*, 1996; COSTA, 2001; BRUM *et al.*, 2012, SIEPMANN e SIEPMANN, 2013; YUKSEL *et al.*, 2000, ADAMS *et al.*, 2001; MAGGIO *et al.*, 2008).

Os fatores de diferença (f1) e semelhança (f2), método proposto por Moore e Flanner (1996), é considerado de fácil aplicação e por este motivo órgãos reguladores nacionais, como o *Food and Drug Administration* (FDA), *European Medicines Agency* (EMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o adotaram como teste padrão para comparação de perfis de dissolução dos medicamentos. Esses métodos são descritos em forma de equações, em que se avalia a diferença de um fármaco dissolvido, por tempo determinado, entre o medicamento de referência, seu genérico ou produto de teste (RAJU e MURTHY, 2011).

O fator diferença, f1, é calculado pela equação 1:

$$f1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |Rt - Tt|}{\sum_{t=1}^n Rt} \right\} \quad (1)$$

onde, **Rt** é o percentual do fármaco dissolvido do produto de referência em dado tempo t, **Tt** é o percentual do fármaco dissolvido do produto teste em um dado tempo t e **n** é o número de coletas. A equação 1 pode ser considerada como uma perturbação na fórmula do erro relativo, avaliando o erro percentual entre duas curvas. Na realização do teste, o erro é zero quando os perfis de dissolução de dois produtos utilizados no estudo são parecidos e aumenta proporcionalmente com diferença entre os perfis, considerando o valor de 15 como limite de semelhança entre os dois perfis (MOORE e FLANNER, 1996).

Já o fator semelhança, f2, é calculada pela equação 2:

$$f2 = 50 \log \left\{ \left[ 1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n Wt(Rt - Tt)^2 \right]^{-0,5} * 100 \right\} \quad (2)$$

onde **n** é o número de coletas, **Rt** é o percentual do fármaco dissolvido do produto no tempo t, **Tt** é o percentual do fármaco dissolvido do produto teste no tempo t, e **wt** é o fator de peso. Quando os dois perfis são idênticos f2 é igual a 100. Entretanto se ocorrer uma variação média de 10% em todos os pontos, o valor de f2 torna-se 50. Dois perfis são considerados semelhantes quando o valor de f2 está entre 50 e 100. No entanto, a base do critério de similaridade entre os perfis de dissolução é empírica, não se justificando por nenhuma razão mecanicista ou biofarmacêutica, visto que a variação de f2 vai de  $-\infty$  a 100, não sendo simétrica em torno de zero. Isto quer dizer que f2 é um critério de conveniência, que está

associado ao desafio do significado prático de semelhança entre os perfis de dissolução (XIE e CHENG, 2015).

### 3.1.3 Fatores que Influenciam a Dissolução de um Fármaco

A dissolução de um fármaco pode ser influenciada por vários fatores, dentre os quais os descritos a seguir.

#### 3.1.3.1 Polimorfismo

Estudo *in vitro* de dissolução é uma alternativa ao estudo de bioequivalência. Os ensaios de dissolução podem fornecer evidências de semelhanças e diferenças entre formulações. Para fármacos com fraca solubilidade em água, existe alguma dificuldade na escolha de um meio de dissolução apropriado com poder de discriminação. A escolha desse capaz de discriminar entre as variáveis críticas de fabricação é crucial em cada caso. Entre essas variáveis, a possível presença de diferentes formas polimórficas que devem ser investigada. As formas polimórficas podem influenciar a solubilidade e, por conseguinte, a velocidade de dissolução de fármacos (BONFILIO *et al.*, 2012).

Existem diversos fármacos que possuem estruturas cristalinas e/ou amorfas distintas, sendo que cada uma sofre dissolução distintas das demais, pois podem possuir diferentes propriedades físicas. Em relação a essa questão, a dissolução de um mesmo fármaco na forma amorfa é maior que a forma cristalina (GENNARO, 2004).

#### 3.1.3.2 Solubilidade

A solubilidade é um parâmetro termodinâmico, que define a quantidade de matéria que pode dissolver num dado solvente no estado de equilíbrio. É um fator crítico para o estudo de fármacos candidatos (KRISHNA e YU, 2008), sendo um fator determinante para que as formas farmacêuticas sólidas liberem seu insumo ativo farmacêutico, para ser absorvido, tendo em vista que antes de um fármaco ser absorvido ele tem que estar em solução aquosa no sítio de absorção (PANCHAGNULA e THOMAS, 2000).

Um fármaco é considerado pouco solúvel se a sua velocidade de dissolução for mais lenta, que o tempo de trânsito que esse fármaco precisa para completar sua biodisponibilidade (HÖRTER e DRESSMAN, 2001).

Levando-se em consideração que quase 95% das moléculas dos fármacos são compostas por ácidos fracos e bases fracas, portanto é fundamental conhecer o seu pKa, quando for realizar o seu desenvolvimento farmacotécnico, tendo em vista que o mesmo está

relacionado diretamente a solubilidade do fármaco, assim sendo, com a dissolução (MARTINEZ E AMIDON, 2002).

### 3.1.3.3 Tamanho de partículas

Medicamentos são encontrados comercialmente com tamanhos de partícula diferentes. Quanto menor o diâmetro de partícula de um medicamento, maior será a área de contato do insumo ativo farmacêutico ao meio de dissolução, fazendo com que possa se dissolver mais rápido (MARCOLONGO, 2003).

O tamanho de partículas podem influenciar a dissolução e conseqüentemente a absorção *in vivo*, após a administração de uma forma sólida. A concentração do fármaco dissolvido no estado sólido pode depender de vários fatores, não somente a temperatura e pressão, mas também do tipo de polimorfo do fármaco e do seu tamanho de partícula (CASCONI *et al.*, 2011; SIEPMANN e SIEPMANN, 2013; BERGSTRÖM *et al.*, 2014).

Um fármaco terá a sua taxa de dissolução limitada, se a velocidade de dissolução for muito lenta para que todas as suas partículas se dissolvam, durante o tempo necessário para ocorrer o seu trânsito até o local de absorção. A taxa de dissolução, expressa como tamanho de partículas/fármaco/alvo, em vez da razão dose/solubilidade, proporciona um melhor meio de avaliação dos riscos de desenvolvimento e análise da qualidade crítica atribuída para medicamentos com taxa de dissolução limitada de absorção (BUTLER e DRESSMAN, 2010).

No processo de dissolução real, as partículas na verdade, não existiram em um tamanho uniforme, mas em vez disso em tamanhos variados, os quais podem ser classificados de acordo com seus tamanhos. Portanto, o tamanho de partícula pode ser indeterminado, durante o processo de dissolução, onde a taxa que influi sobre o diâmetro das partículas é aleatória. Isto é questionável para expressar a amostra total de tamanho de partícula por um único valor (BAO *et al.*, 2014).

Ao diminuir o tamanho de partícula de um insumo ativo farmacêutico é necessário conhecer as características físico-químicas e biológicas do produto farmacêutico, porque a redução desse tamanho também pode prejudicar o paciente, pela possível ação tóxica, que o produto possa ter, como por exemplo o caso da digoxina ocorrido entre 1972 e 1973, que devido a redução do tamanho de suas partículas causou sério problema de intoxicação, pelo aumento de dos níveis de digitálicos nos pacientes cardíacos tratados (STORPIRTIS *et al.*, 1999).

Além do tamanho, existem também outras propriedades da partícula, como o formato e a densidade, que influenciam indiretamente a área efetiva da superfície, que, por sua vez, alteram o contato com o meio de dissolução (GENNARO, 2004).

#### 3.1.3.4 Processo de manipulação dos princípios ativos e excipientes

Em quaisquer formulações farmacêuticas, existem distintos excipientes, que são espécies diferentes do insumo ativo farmacêutico, sendo geralmente substâncias que possuem a finalidade de manter a estabilidade do fármaco e favorecer a sua disponibilidade no organismo, dentre outros. Os excipientes são adicionados, pois os insumos ativos não conseguem assumir todas as funções desejadas para o medicamento, porém, a utilização destes compostos, em menor ou maior quantidade na formulação farmacêutica, pode modificar o perfil de dissolução de fármacos (VIÇOSA, 2003).

Nas formas farmacêuticas sólidas, a dissolução pode ser afetada significativamente pelas características inerentes do próprio fármaco, bem como pela presença de excipientes que favorecem ou dificultam a dissolução, além das técnicas de fabricação empregadas. Portanto, essas formas podem potencialmente apresentar problemas em relação à biodisponibilidade e a bioequivalência (BRUM *et al.*, 2012).

Os processos de granulação e compressão na indústria, especialmente para produção de comprimidos, têm grande importância no perfil de dissolução de um produto. Para melhorar a taxa de dissolução de substâncias menos solúveis em água podem ser feitas através de granulação por via úmida durante o processamento (MARCOLONGO, 2003). Ainda, na produção de um comprimido quando se aplica uma maior força de compressão, maior será a dureza e por consequente pode minimizar a sua desagregação no meio de dissolução, o que poderá diminuir a sua disponibilidade no organismo. Vale salientar ainda que a força de compressão aplicada a um medicamento é diretamente proporcional à sua taxa de dissolução (CHAUD *et al.*, 2005).

A dissolução também pode ser significativamente influenciada pelo processamento e formulação. Por conseguinte, os ensaios de dissolução proporcionam os meios para avaliar os parâmetros críticos, como a biodisponibilidade adequada, e fornece as informações necessárias para o formulador no desenvolvimento de formas de dosagem mais eficazes. Assim, esse ensaio emergiu como o teste mais importante que vai garantir a qualidade e a biodisponibilidade de um produto. O conhecimento das variáveis do processo crítico é importante para o desenvolvimento do produto e o seu controle da qualidade (CASCONI *et al.* 2011).

Além dos fatores intrínsecos da produção de medicamentos afetarem a dissolução de um comprimido, a seleção de procedimentos no teste de dissolução também o afeta.

### 3.1.4 Fatores que Interferem no Teste de Dissolução

#### 3.1.4.1 Meio de dissolução

Para a realização do teste de dissolução, a escolha do meio deve ser apropriada à solubilidade do próprio fármaco. Além disso, existem outros fatores que também devem ser levados em consideração, tais como econômicos e praticidade em sua aplicação (GENNARO, 2004).

No teste de dissolução, água destilada, ácido clorídrico ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e várias soluções tamponadas são utilizados como meio de dissolução (CHAN *et al.*, 2004). A faixa de pH utilizada deve estar entre 1.2 e 8.0, o qual tem relevância *in vivo*. Se as variações de pH não interferirem na dissolução de um produto farmacêutico, a água pode ser utilizada como meio de dissolução. Por outro lado, o uso de substâncias orgânicas não é aconselhável (FDA, 1997).

#### 3.1.4.2 Volume do meio de dissolução

O volume do meio de dissolução depende da solubilidade do fármaco no meio escolhido. Quando a concentração ou a quantidade do fármaco é alta e a solubilidade é baixa, torna-se necessário o uso de um volume maior do meio, para que a concentração de saturação não seja alcançada. Além disso, a viscosidade, o pH e a composição do meio podem variar o teste de dissolução, devendo ser considerados (VIÇOSA, 2003).

De forma a minimizar os efeitos de concentração e manter as condições *sink*, a concentração do fármaco não deve exceder 10-15 % da sua solubilidade máxima no meio selecionado. Para a maioria dos fármacos, com exceção daqueles poucos solúveis, cerca de um litro de meio é suficiente (MARCOLONGO, 2003).

#### 3.1.4.3 Temperatura

Durante o teste de dissolução, a temperatura é um dos parâmetros mais importantes a ser controlado, visto que a solubilidade do fármaco é termodependente. De modo geral, uma temperatura de  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  deve ser mantida durante a execução do teste, com variação de  $\pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , para evitar alterações no teste (GENNARO, 2004; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP, 2007).

#### 3.1.4.4 Velocidade de agitação

Para o teste de dissolução, que utiliza a aparato 1 (cestas), o parâmetro de velocidade de rotação é de 100 rpm, enquanto para o aparato 2 (pá) o mais comum é tratar com velocidade de agitação de 50 ou 75 rpm (USP, 2013; FDA, 1997).

Geralmente são inapropriadas as velocidades menores de 25 rpm, devido a inconsistência da hidrodinâmica, e maiores do que 150 rpm, por causa do fluxo turbulento. De modo geral, a velocidade de agitação entre 25 e 50 rpm são aceitáveis para suspensões. O aumento ou a diminuição da velocidade de rotação do aparelho pode ser aceitável se os perfis refletirem melhor desempenho *in vivo* e/ou o método resultar em melhor discriminação, sem afetar adversamente a reprodutibilidade do método (USP, 2013).

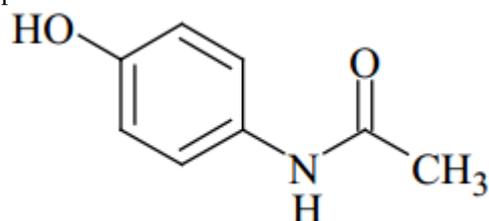
No teste de dissolução, uma variação de 4 até 5% na velocidade de rotação é permitida pela farmacopeia brasileira. Além disso, a velocidade da rotação aplicada no teste de deve seguir as especificações das monografias de medicamentos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

### 3.2 FÁRMACOS

#### 3.2.1 Paracetamol

O paracetamol, também conhecido como acetaminofeno (N-acetil-p-aminofenol) é descrito como um pó cristalino inodoro, ligeiramente solúvel em água (1 g/70 mL a 25 °C), solúvel em água fervente e hidróxido de sódio 1 mol/L, facilmente solúvel em etanol e insolúvel em clorofórmio e éter etílico (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; SILVA, 2011). Apresenta grande estabilidade em solução aquosa entre pH 5 a 7. A fórmula molecular de paracetamol é C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>, Figura 1, e tem peso molecular, 151,16 g/mol (LOURENÇÃO, 2009).

**Figura 1** – Fórmula estrutural de paracetamol.



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

A introdução do paracetamol na prática clínica ocorreu no final do século XIX e foi extensamente utilizado a partir de 1949, para a produção de uma série de medicamentos (LOURENÇÃO, 2009) e a partir desta data tem sido o medicamento de venda livre mais utilizado para tratamento de dores de menor intensidade em todo o mundo (RANG *et al.*, 2012).

No sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), o paracetamol é considerado altamente solúvel e pouco permeável, sendo classificado no grupo III (LINDENBERG *et al.*, 2004; KALANTZI *et al.*, 2006; MAENO *et al.*, 2014). O paracetamol tem ação de reduzir a quantidade de prostaglandina, ajudando a evitar as dores de cabeça e no corpo, e também é utilizado para a redução da febre de origem bacteriana ou viral. Também é apropriado para a maioria das pessoas, incluindo os idosos e as crianças, porque apresenta menos efeitos colaterais quando consumido em dose terapêutica (TAVALLALI e SHEIKHAEI, 2009).

Apesar de ser extensamente utilizado, o paracetamol é hepatotóxico quando consumo em excesso, acima da dose diária recomendada, podendo provocar hemorragia digestiva, vômito e náuseas (LOURENÇÃO, 2009; RANG *et al.*, 2012;). Além disso, como a hepatotoxicidade é uma manifestação tardia, que ocorre entre 24 e 48 horas após a ingestão do medicamento. A superdosagem de paracetamol também pode causar a hepatotoxicidade e levar a óbito o paciente por autoenvenenamento, causando a morte. As doses tóxicas que causam a hepatotoxicidade fatal são de entre 10 e 15 g (RANG *et al.*, 2012). Vale frisar que seu uso recomendável é de até 4 gramas por dia (BRASIL, 2002; TROJANOWICZ, 2009). Outros autores recomendam o uso de até 150-200 mg/kg em crianças ou 7 g em adultos (KATZUNG, 2003). Por outro lado, é bastante seguro em doses terapêuticas (1,2 g/dia para uso adulto).

De modo geral, o paracetamol é bem absorvido pelo trato gastrointestinal por via oral e suas concentrações plasmáticas máximas comumente são alcançadas entre 30 e 60 minutos depois de consumido o medicamento. O tempo de meia vida do paracetamol para dose terapêuticas é de 2 a 3 horas, podendo ser o dobro ou mais em dosagens tóxicas (MARTIN, 1996; KATZUNG, 2003; RANG *et al.*, 2012).

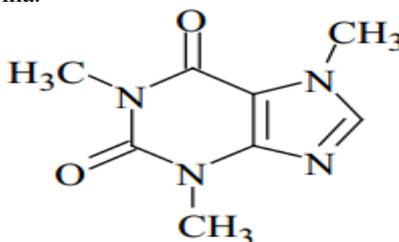
Paracetamol está disponível em diversas formas de dosagem, tais como comprimidos, cápsulas, suspensões, xaropes, elixires, soluções, supositórios e injetáveis. (SILVA, 2011). Entretanto, o uso mais comum é em forma de comprimidos, que normalmente contem 500 mg do ingrediente ativo farmacêutico. O paracetamol também é comercializado em medicamentos com associação de fármacos, principalmente com a cafeína.

### 3.2.2 Cafeína

A cafeína, normalmente conhecida como 1,3,7-trimetilxantina ou 3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6 diona, caracteriza-se é um pó branco ou agulhas brancas brilhantes (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), geralmente inodoro e de sabor amargo. É solúvel em água, álcool e clorofórmio, e a sua solubilidade varia em função da temperatura, como por exemplo, 1 grama de cafeína anídrica dissolve-se em aproximadamente 50 mL de água a 25 °C e em 6 mL de água a 80 °C. Os sais formados de cafeína não são estáveis e são facilmente hidrolisados pela água, pois a cafeína é uma base fraca, pH 6,9. A fórmula molecular de cafeína é  $C_8H_{10}N_4O_2$  (Figura 2) e tem massa molar de 194,19 g/mol (GENNARO, 2004).

A cafeína é um composto químico encontrado em grande quantidade no café e nas folhas de chá verde, no cacau, no guaraná, na erva-mate e em mais de 60 espécies de plantas (LOURENÇÃO, 2009; DERRY *et al.*, 2014).

**Figura 2** – Fórmula estrutural de cafeína.



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

A cafeína foi isolada em 1820, mas a estrutura correta desta metilxantina só foi estabelecida na última década do século XIX. Entretanto, os efeitos farmacológicos da cafeína e de seus análogos só foram claramente reconhecidos em 1981, quando o bloqueio dos receptores centrais adenosina  $A_{2B}$  e  $A_{2A}$  foi correlacionado às suas propriedades estimulantes (DALY, 2007; TAVARES e SAKATA, 2012). De modo geral, o consumo de cafeína pode inverter as atividades indutoras do sono e depressoras do comportamento do receptor da adenosina, aumentando o estado de alerta (redução do cansaço) e melhorando o desempenho mental (DALE e HAYLETT, 2010; RANG *et al.*, 2012).

Em estudos pré-clínicos, a cafeína produz efeitos antinociceptivos intrínsecos em vários modelos de roedores, e aumenta as ações de anti-inflamatório não esteroides (AINEs) (SAWYNOK, 2011). Mesmo que a cafeína seja pouco estudada no tratamento da dor, parece apontar para uma eficácia analgésica no tratamento de cefaleia tensional e enxaqueca (TAVARES e SAKATA, 2012).

Em termos do consumo, a cafeína é uma substância amplamente utilizada, tanto na alimentação quanto em medicamento sem necessidade de prescrição médica. A cafeína é bem absorvida pelo intestino e sofre desmetilação no fígado, com meia-vida de aproximadamente 6 horas (DALE e HAYLETT, 2010) e efeitos em todos os sistemas biológicos tais como sistema nervoso central, cardiovascular, musculatura esquelética, gastrointestinal, renal e muscular. Em países com populações que são acostumadas a ingerir bebidas que contêm cafeína, o consumo médio *per capita* é de cerca 200 mg/dia (RANG, *et al.*, 2012). Em termos da dose efetiva, Godoy *et al.* (2012) destacaram que:

“Os efeitos analgésicos promovidos pela cafeína dependem de uma dose entre 25 e 100 mg/kg/dia. Considerando a menor dose proposta para a antinocicepção, seria necessária a ingestão de uma dose próxima à ingerida pelos grandes consumidores de cafeína”.

Apesar do seu uso corriqueiro, a cafeína apresenta interações com diversos medicamentos, apresentando diferenças no uso agudo em relação ao uso crônico e pode causar dependência e síndrome de abstinência (TAVARES e SAKATA, 2012).

Por sua função como antagonista e/ou adjuvante, a cafeína além de estar em vários produtos vendidos no mercado local, nacional ou internacional, também está associada a vários fármacos, como por exemplo, paracetamol para tratamento de cefaleia tensional e enxaqueca sem aura, pois aumenta e prolonga o seu efeito analgésico por interação farmacodinâmica (TAVARES e SAKATA, 2012).

### 3.2.3 Associação entre Paracetamol e Cafeína

A ampliação do efeito analgésico de paracetamol associado à cafeína é compreendida por duas teorias: aumento do tempo de ação e maior absorção do paracetamol, uma interação farmacodinâmica, e analgesia pura promovida pela cafeína. Vários estudos foram necessários nesta direção para comprovar o aumento dessa eficácia analgésica, com um número mais significativo de pacientes que descrevem como melhor medicamento analgésico aquele associado à cafeína, quando comparado ao que contém apenas paracetamol. Outros estudos clínicos apontaram que a cafeína pode elevar a atividade analgésica de inibidores de ciclo-oxigenase, o qual pode causar o alívio aos sintomas da inflamação e da dor (GODOY *et al.*, 2012; RENNER *et al.*, 2007; LASKA *et al.*, 1983; FORBES *et al.*, 1991; MCQUAY *et al.*, 1996).

Em um dos trabalhos pioneiros, Laska *et al.* (1983) avaliaram que o paracetamol e o ácido acetilsalicílico obtiveram uma maior atividade analgésica em pacientes quando

associado à cafeína, em pesquisa que envolveu mais de dez mil pacientes. O efeito analgésico obtido pela ausência de cafeína requereu uma dose maior do próprio analgésico, cerca de 40% a mais da dose administrada juntamente a cafeína. Também foi sugerido que 65 mg ou mais de cafeína pode levar ao alívio da dor de cabeça, porém este efeito analgésico é menos conclusivo para outros tipos de dores, como pós-partos, dental e pós-operatório (ZHANG, 2001).

### 3.3 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO DE PARACETAMOL E CAFEÍNA

#### 3.3.1 Ensaio de Dissolução de Paracetamol

Para avaliar o perfil de dissolução do paracetamol na forma farmacêutica, como comprimidos, capsulas e suspensão, vários estudos foram realizados com distintas finalidades, com controle da qualidade, avaliação de formulações, equivalência de formulações, dentre outras (OZKAN, 2000; AZAM e HAIDER, 2008; NAYAK, 2010; AHMED *et al.*, 2012; BRUM *et al.*, 2012).

Brum *et al.* (2012) realizaram um estudo que teve por objetivo comparar, através de equivalência farmacêutica e perfis de dissolução *in vitro*, de 8 medicamentos genéricos comercializados contendo 750 mg de paracetamol com o medicamento de referência. Neste trabalho os autores concluíram que sete dos oito medicamentos genéricos foram considerados equivalentes farmacêuticos do medicamento referência.

Outro estudo de equivalência *in vitro* foi realizado pelo Rathnayake *et al.* (2014) com a finalidade de se comparar a equivalência farmacêutica entre medicamento a base de paracetamol para uso público, como produto de teste, e o comprimido de referência (Panadol). Concluíram que o produto testado foi equivalente ao produto de referência, demonstrando que os dois produtos podem ser intercambiáveis nas práticas clínicas.

Além disso, diversos trabalhos foram publicados aplicando diferentes métodos de comparação de perfis de dissolução para medicamentos a base de paracetamol, como fatores  $f_1$  e  $f_2$ , Eficiência de Dissolução, Área sob a Curva de Dissolução (AUC, do inglês, *Area Under the Curve*) (BRUM *et al.*, 2012; RATHNAYAKE *et al.*, 2014), ANOVA (NAYAK, 2010); ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer–Peppas, Weibull, Logistic entre outros (AL-SHALABI *et al.*, 2012; AFIFI *et al.*, 2013; QIU *et al.*, 2014).

### 3.3.2 Ensaio de Dissolução de Cafeína

Williams *et al.* (2010) propuseram o método por HPLC para determinar a taxa de liberação da cafeína, em seu meio de dissolução; e para comparar perfis de liberação de cafeína em Panadol Extra<sup>®</sup>, comprimidos contendo paracetamol e cafeína em associação. Os autores mostraram, que o método foi eficiente na recuperação da cafeína em seu meio, com taxa de recuperação maior que 95% e apresentou o valor  $f_2$  menor que 50 (49,8%), sendo suficiente para classificar os dois produtos como bioequivalentes.

### 3.3.3 Teste de Dissolução de Misturas Paracetamol e Cafeína

O teste de dissolução pode ser um substituto por estudo *in vivo*. Na monografia de paracetamol e cafeína em associação, a farmacopeia americana recomenda a utilização da técnica HPLC (US PHARMACOPEIA, 2007).

Hassouna *et al.* (2012) realizaram um estudo para comparar os perfis de dissolução de cinco marcas distintas do medicamento contendo paracetamol e cafeína. Os dados de dissolução obtidos por HPLC foram tratados usando fator semelhança ( $f_2$ ) para determinar se a equivalência entre os medicamentos. Como meio de dissolução empregaram água, HCl 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, tampão fosfato pH 4,5 e 6,8. Os autores observaram que os valores dos fatores  $f_1$  e  $f_2$  dos fármacos paracetamol e cafeína das marcas Panadol Extra<sup>®</sup> e ProntoPlus<sup>®</sup> estão dentro da faixa recomendada pela órgão legislador, isto é, os valores  $f_2$  maior de 50 e  $f_1$  menor do que 15, considerando que os fármacos de ambas as marcas são similares aos do medicamento referência. Já os medicamentos das marcas Pýril Extra<sup>®</sup> e Abimol Extra<sup>®</sup> apresentaram os valores de  $f_1$  e  $f_2$  fora dos limites especificados.

Apesar de HPLC ser a técnica padrão para análise simultânea de insumos ativos farmacêuticos e para construção das suas curvas de dissolução, é uma técnica laboriosa e em que as análises possuem custo elevado. Portanto, a utilização de uma técnica espectrofotômetro simples, como UV-Vis, com suporte de análise multivariada de calibração pode ser uma alternativa adotada na análise em área farmacêutica para estudos de dissolução (MAGGIO *et al.*, 2013).

## 3.4 MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADO

Em análises com a presença de mais do que um analito ou de interferentes, a não utilização de tratamento adequado dos dados é um dos fatores limitantes ou até impeditivos para obtenção de resultados confiáveis. Por esta razão, modelagem matemática multivariada é

uma ferramenta necessária para o desenvolvimento de novas metodologias de análise multicomponente (COSTA, 2009).

Existem vários métodos multivariados, dentre os quais podem ser citados: Resolução Multivariada de Curvas (MCR, do inglês *Multivariate Curve Resolution*); Redes Neurais Artificiais (ANN, do inglês *Artificial Neural Network*); Regressão Linear Múltipla (MLR, do inglês *Multiple Linear Regression*), Regressão por Componentes Principais (PCR, do inglês *Principal Components Regression*) e a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLSR, do inglês *Partial Least Squares Regression*) (SENA, 2004).

#### 3.4.1 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

PLSR é um método de calibração multivariado proposto por Wold *et al.* (2001), que utiliza as informações contidas nas matrizes dos sinais analíticos ( $\mathbf{X}$ ) e das propriedades de interesse ( $\mathbf{Y}$ ), para o entendimento da estrutura de dados, interpretação do modelo e para obtenção de variáveis latentes (ANDERSSON, 2009; GELADI e KOWALSKY, 1986).

PLSR decompõe as matrizes  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Y}$  como um produto de um conjunto comum de fatores ortogonais e um conjunto de pesos específicos. Então, as variáveis independentes são decompostas em matriz de escores ( $\mathbf{T}$ ) e de pesos ( $\mathbf{P}$ ):

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T \quad (3)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{TC}^T \quad (4)$$

Assim, é possível obter os coeficientes de regressão ( $\mathbf{B}$ ):

$$\mathbf{Yb} = \mathbf{TBC}^T \quad (5)$$

onde  $\mathbf{B}$  é uma matriz diagonal que apresenta as estimativas dos coeficientes lineares de regressão e  $\mathbf{Yb}$  são os valores da propriedade de interesse obtidos pela resolução das equações indicadas anteriormente.

O modelo PLSR é construído iterativamente entre as duas matrizes  $\mathbf{X}$  e  $\mathbf{Yb}$  para que tenham a maior correlação possível, utilizando decomposição em valores singulares (SVD, do inglês *Singular Values Decomposition*). O SVD obtém a melhor reconstituição da matriz original por uma de ranque mais baixo. Assim:

$$\mathbf{Yb} = \mathbf{TBC}^T = \mathbf{XB} \quad (6)$$

Em que:

$$\mathbf{B} = \mathbf{P}^{T+}\mathbf{BC}^T \quad (7)$$

onde  $\mathbf{P}^{T+}$  é a pseudoinversa de  $\mathbf{P}^T$ .

A aplicação do PLS tem a vantagem de: utilizar o espectro completo, geralmente aumentando a robustez dos modelos, não sendo afetado pela multicolinearidade dos dados. Por outro lado esse método apresenta algumas desvantagem que pode levar em consideração, dentre os quais: ausência de estatística para confirmação do modelo, dificuldade na interpretação das cargas dos fatores e os estimadores dos coeficientes de regressão não têm distribuições conhecidas (MORELLATO, 2010).

Assim, como o PLSR é uma técnica bastante difundida, uma imensa quantidade de trabalhos foram publicados, dentre os quais alguns de revisão do uso da técnica (BOULESTEIX e STRIMMER, 2007; KRISHNAN *et al.*, 2011; MEHMOOD *et al.*, 2012; WOLD *et al.*, 2001a; WOLD *et al.*, 2001b; ZHAO *et al.*, 2015), e outros utilizando para diversas matrizes, como novos materiais (BIHAN *et al.*, 2014; RUIZ *et al.*, 2013), estudos genômicos (CHUN e KELEŞ, 2010), alimentos (FERRÃO *et al.*, 2004). Mais especificamente, o uso de PLSR para estudo de dissolução de comprimidos também apresenta alguns trabalhos publicados (LIU *et al.*, 1999; FERRARO *et al.*, 2002; FERRARO *et al.*, 2003; MARKOPOULOU *et al.*, 2004; VIGNADUZZO *et al.*, 2006; Cutrignelli *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2012; DINÇ *et al.*, 2003; CASTELLANO *et al.*, 2005).

Liu *et al.* (1999) apresentaram técnica de varredura espectral na região do ultravioleta e PLSR para avaliar simultaneamente os perfis de dissolução de ácido acetilsalicílico, na presença de fenacetina e cafeína como fármacos associados. A partir da análise dos dados obtidos, observou-se a recuperação de aspirina, fenacetina e cafeína numa faixa entre 97,1 e 102,4%, demonstrando que os demais componentes dos comprimidos não interferiram no método desenvolvido. Diante disto, os autores concluíram que a combinação entre técnica de análise por injeção sequencial (SIA, do inglês *Sequential Injection Analysis*) e PLSR como técnica de calibração multivariada, sendo possível monitorar o processo de forma simples e confiável.

Ferraro *et al.* (2002) apresentaram um método PLS para quantificação dos fármacos de hidroclorotiazida e cloridrato de amilorida em misturas preparadas e comprimidos comercializados que contém ambos em associação. Concluíram que a utilização do método

permitiu prever a quantidade presente dos fármacos, bem como avaliar os perfis de dissolução das misturas binárias preparadas e formulações farmacêuticas comercializadas.

Ferraro *et al.* (2003) propuseram a determinação de atenolol e clortalidona em misturas binárias e em formulações farmacêuticas. Observaram que este método proposto permitiu prever a quantidade presente dos fármacos, bem como avaliar os perfis de dissolução das misturas binárias preparadas e das formulações farmacêuticas comercializadas.

Markopoulou *et al.* (2004) propuseram métodos quimiométricos PLS e duas derivadas (razão derivada de espectros e algoritmo bivariado de calibração) para determinação das misturas binárias de trimetoprima (TMP) com sulfametoxazol (SMX), sulfametazol (SMZ) e sulfafurazol (SFZ) em comprimidos sem separação *a priori*. Os autores observaram que os modelos PLSR apresentaram valores de recuperações médias de entre 99,7 e 102,0% para TMP; 99,4 e 100,2% para SMX; 99,3 e 101,0% para SMZ e; 98,1 e 102,3% para SFZ. Foi relatado ainda que em 15 minutos mais do que 85% dos fármacos TMP, SMX, e SMZ foram dissolvidos, sendo que SFZ só foi dissolvido nesta quantidade após completar uma hora. As calibrações dos três métodos foram aplicadas com sucesso para o ensaio de dissolução do placebo e dos comprimidos comerciais, sem qualquer separação prévia. Por fim concluíram que o uso dos três métodos espectrofotométricos são adequados, para a análise quantitativa e para testes de dissolução de formas farmacêuticas com multicomponentes, que não necessariamente precisem de uma separação prévia.

Vignaduzzo *et al.* (2006) determinaram hidroclorotiazida e cloridrato de propranolol em formulações farmacêuticas, por PLS e por razão espectral de primeira derivada (DRS, do inglês *First-Derivate of Ratio Spectra*). Os autores concluíram que os dois métodos foram úteis e eficazes na determinação de fármacos em associação em medicamentos e também na construção de perfis de dissolução.

Cutrignelli *et al.* (2011) apresentaram regressão PLS para estimar as condições que afetam a eficiência de dissolução de Griseofulvina, contendo misturas. Através das equações geradas no modelo PLSR, observaram que as características como a densidade, solubilidade, caráter lipofílico/hidrofílico, pontes de hidrogênio, dentre outras, são importantes para elevar a eficiência de dissolução. Enfim, os autores concluíram que essas correlações desenvolvidas podem ser proveitosas na predição semiquantitativa do comportamento de dissolução de misturas de fármacos que possuam apenas grupos aceitadores, como pontes de hidrogênio.

Santos *et al.* (2011) propuseram determinação simultânea das associações captopril-hidroclorotiazida e lamivudina-zidovudina, admitindo a avaliação do perfil de dissolução de medicamentos. Assim sendo, concluíram que os modelos propostos podem ser empregados

com sucesso em ensaio de dissolução e na determinação de fármacos em medicamentos, apesar de que sinais espectrais podem ser sobrepostos, em virtude da presença de interferentes, tendo os resultados muito próximos em relação os obtidos por HPLC.

Neves *et al.* (2012) investigaram a possibilidade de empregar a técnica de Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS, do inglês *Near Infrared Spectroscopy*) acoplado calibração multivariada, para medir o percentual de dissolução dos fármacos isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol em formulações farmacêuticas. Os autores obtiveram coeficientes de correlação: 0,90; 0,98; 0,88 e 0,90 e raiz quadrada do erro médio quadrático de predição (RMSEP, do inglês *Root Mean Square Error of Prediction*) de 9,99; 8,63; 9,97 e 8,57% para cada um dos fármacos testados, respectivamente. Por estes resultados obtidos, mostrou-se uma boa correlação e baixos valores de RMSEP entre o percentual de dissolução predita e por HPLC.

Em outro estudo, Castellano *et al.* (2005) desenvolveram um método para determinar simultaneamente os fármacos paracetamol e diclofenaco em amostras sintéticas e formulações farmacêuticas, a partir de PLSR na região do ultravioleta. Os autores relataram que em condições adequadas, o método proposto possibilitou a determinação simultânea de paracetamol e diclofenaco em misturas binárias sintéticas e comprimidos. Também permitiu construir os perfis de dissolução de cada um destes fármacos. Sublinharam ainda que o método PLSR exige mínimo pré-processamento dos dados e permite utilizar equipamento que está disponível em uma grande quantidade de laboratórios, sendo uma alternativa rápida, precisa e vantajosa para quantificação de fármacos em associação no controle de qualidade diária.

Dinç *et al.* (2003) propuseram métodos quimiométricos, como Mínimos Quadrados Inversos (ILS, do inglês *Inverse Least Squares*), PCR e PLSR para teste de dissolução e quantificação simultânea de paracetamol, cafeína e propifenazona em comprimidos e os resultados foram comparados com HPLC. Os autores observaram que os métodos desenvolvidos não requerem nenhum tratamento específico como em HPLC e apresentaram-se como confiáveis.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Para consecução deste trabalho foram utilizados dissolutor Nova Ética, modelo 299, Figura 3, balança analítica da Gehaka, modelo GA200; espectrofotômetro na região do ultravioleta-visível, da Shimadzu, modelo UVmini 1240, com cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Para o teste de dissolução e preparação das soluções padrão e de amostras de comprimidos foi utilizada água recém-destilada.

**Figura 3** – Dissolutor.



Fonte: O autor (2015).

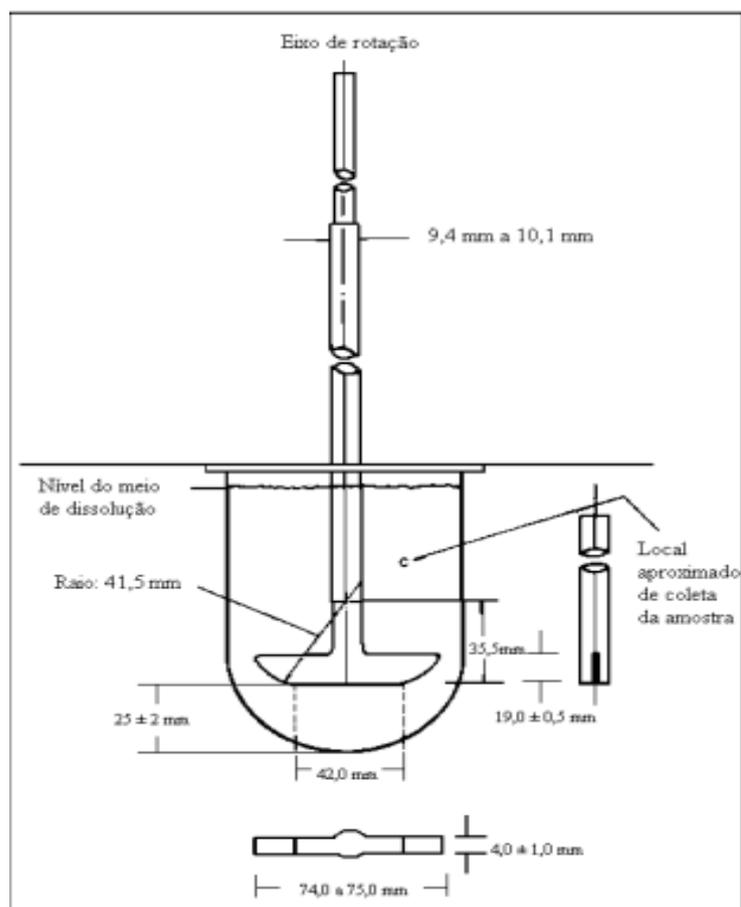
### 4.2 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS E DOS PADRÕES

Para realização das análises foram adquiridos no comércio local de Campina Grande, Paraíba, Brasil, comprimidos de analgésicos contendo os fármacos em associação paracetamol (500 mg) e cafeína (65 mg). As amostras foram compostas por medicamentos de três marcas distintas, sendo dois genéricos e um referência, com dez lotes diferentes para cada, totalizando 30 amostras. Paracetamol e cafeína anidra, em pós, foram adquiridos na Henrifarma, São Paulo.

### 4.3 PERFIS DE DISSOLUÇÃO

Para o estudo do perfil de dissolução, preencheram-se as cubas de dissolução (na figura 5) com 900 mL de água destilada, como meio de dissolução, utilizando aparato de dissolução 2, pá (Figura 5), na velocidade de 50 rpm e tempo total de 30 minutos. A temperatura foi mantida a  $37 \pm 0,3$  °C.

**Figura 4** – Aparato pá e cuba de dissolução.



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

Após um período de estabilização da temperatura foi adicionados em cada cuba um comprimido. Em tempos definidos de agitação, retirou-se 3 mL do meio de dissolução, filtrou-se esta alíquota, através um filtro de membrana de 0,45  $\mu$ m. Utilizou-se 100  $\mu$ L da alíquota e completou-se o volume a 10 mL em balão volumétrico com água como solvente. Por fim, medidas espectrais foram conduzidas na solução da alíquota das amostras. O procedimento foi executado nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos.

#### 4.4 ANÁLISE DAS MISTURAS DAS SOLUÇÕES PADRÃO

Soluções estoque de paracetamol, na concentração de 200 mg.L<sup>-1</sup>, e de cafeína, a 50 mg.L<sup>-1</sup>, foram preparadas em balão volumétrico.

As soluções padrão de paracetamol e cafeína foram preparadas a partir de adequadas diluições das respectivas soluções estoque, para obter concentrações de 2,22 a 11,11 mg.L<sup>-1</sup> e 0,29 a 1,44 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 1). Estas concentrações correspondem a uma taxa de 40, 80, 120, 160 e 200% da concentração nominal de paracetamol e cafeína nos medicamentos, considerando o volume de água na cuba do dissolutor e diluição de 1:100 (v/v), conforme seção anterior. As misturas das soluções seguiu planejamento fatorial completo 2<sup>5</sup>, conforme Tabela 2, em triplicata no ponto central.

**Tabela 1** - Concentração de paracetamol e cafeína em cinco níveis de concentrações.

Nível de concentração	- 2	-1	0	+1	+2
Paracetamol (mg/L)	2,22	4,44	6,67	8,89	11,11
Cafeína (mg/L)	0,29	0,58	0,87	1,16	1,44

Fonte: O autor (2015).

**Tabela 2** - Matriz de Planejamento Fatorial completo 5<sup>2</sup>, com ponto central das soluções de trabalho.

Ensaio	Paracetamol	Cafeína	Ensaio	Paracetamol	Cafeína
1	-2	-2	14	0	1
2	-2	-1	15	0	2
3	-2	0	16	1	-2
4	-2	1	17	1	-1
5	-2	2	18	1	0
6	-1	-2	19	1	1
7	-1	-1	20	1	2
8	-1	0	21	2	-2
9	-1	1	22	2	-1
10	-1	2	23	2	0
11	0	-2	24	2	1
12	0	-1	25	2	2
13	0	0			

Fonte: O autor (2015).

Todas as soluções foram preparadas utilizando água recém-destilada como solvente. As medidas espectrais das soluções padrão e das misturas foram conduzidas utilizando faixa espectral de 190 a 300 nm. Por fim, foram obtidos espectros médios por solução.

#### 4.5 TRATAMENTO DE DADOS

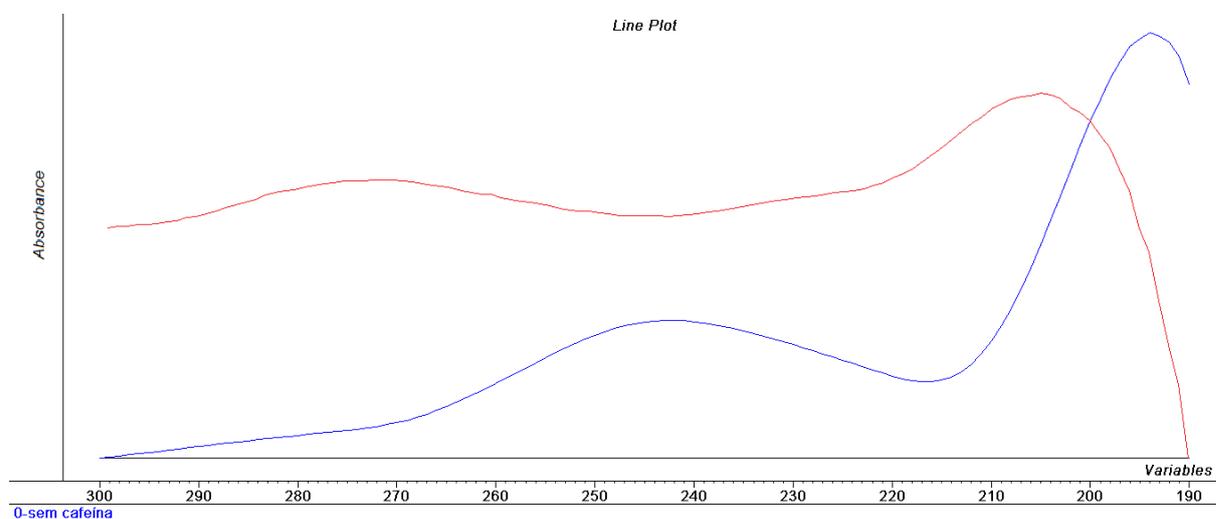
Os espectros obtidos com o espectrômetro foram utilizados com pré-processamento de correção de deslocamento da linha de base. Em seguida, os dados brutos foram utilizados para a construção dos modelos PLSR, de paracetamol e cafeína, empregando as misturas do conjunto de calibração. Para validação dos modelos foi conduzida uma validação cruzada completa *leave-one-out*. Por fim, os modelos foram utilizados para estimar a concentração de paracetamol e cafeína nas amostras reais de medicamentos, a partir dos espectros obtidos no teste de dissolução.

Todos os modelos PLSR e a predição dos espectros de paracetamol e cafeína, nos distintos tempos foram obtidos no programa computacional The Unscrambler, Camo, S.A., versão 9.8.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi feito o estudo de solventes adequados para usar no ensaio de dissolução dos comprimidos e, conseqüentemente, na preparação das soluções padrão de paracetamol e de cafeína, seguindo procedimento indicado na *USP* (2013), com modificações. Para determinação simultânea de paracetamol e cafeína, foi utilizado água. Em seguida, foi feita medida espectral individual, corrigidos na linha de base, de cada um dos analitos estudados (Figura 6). É possível verificar duas bandas espectrais para cada um dos analitos, sendo que uma banda em torno de 195 nm para paracetamol, a qual apresenta sobreposição com a da cafeína em 205 nm. Estes espectros estão de acordo com o apresentado na literatura para os dois analitos.

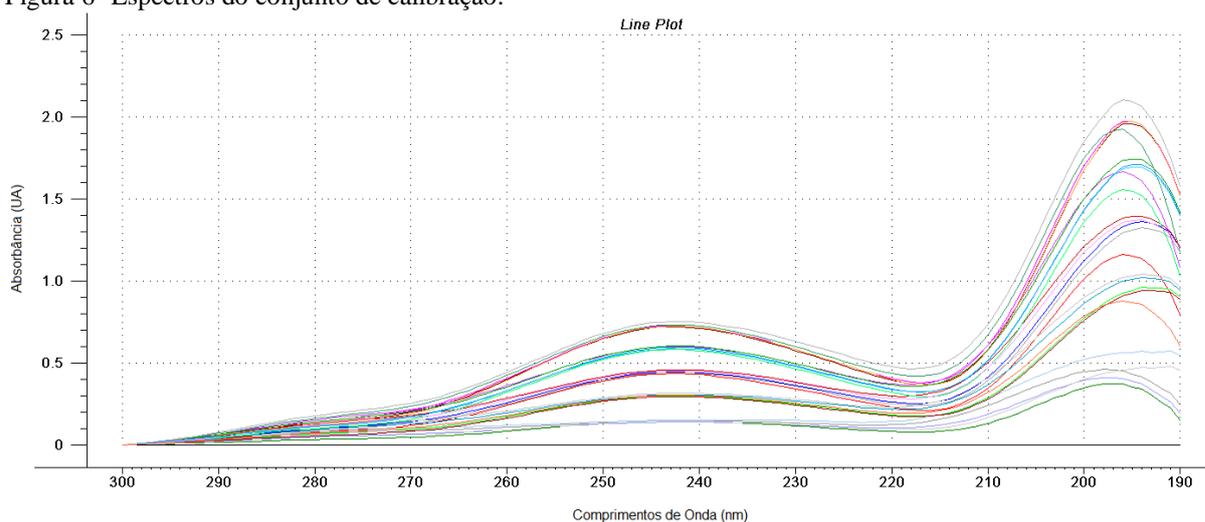
Figura 5 - Espectro de paracetamol (azul) e cafeína (vermelho) na concentração de 6,67 e 0,87 mol/L, respectivamente.



Fonte: O autor (2015).

As medidas espectrais das soluções padrão para as misturas de paracetamol e cafeína são apresentados na Figura 7. Similarmente aos espectros do paracetamol, é possível observar duas bandas, uma em 245 nm e outra em 195 nm, com forte influência da mais alta concentração de paracetamol nas misturas, associada à presença de quantidade maior em relação à cafeína nos medicamentos, o qual é composto por 65 mg de cafeína, e 500 mg de paracetamol.

Figura 6- Espectros do conjunto de calibração.



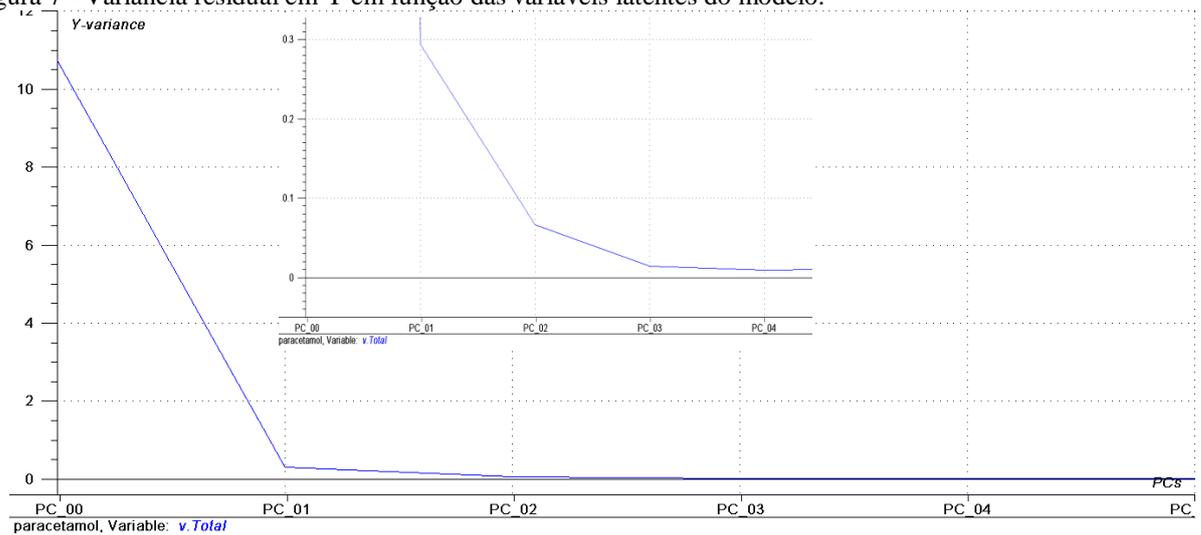
Fonte: O autor (2015).

Considerando a forte sobreposição das bandas espectrais de paracetamol e cafeína foi proposto o uso de calibração PLSR, em que as soluções padrão das misturas dos dois analitos constituiriam o conjunto de calibração. Os modelos PLSR para a predição da quantidade de paracetamol e de cafeína foram validados a partir do próprio conjunto de calibração, utilizando validação cruzada completa, *leave-one-out*. Nesta condição, deixa-se uma amostra de calibração fora da construção do modelo e faz a predição com a mesma, calculando o resíduo, até que todas as amostras sejam preditas. Na etapa seguinte, os resíduos são utilizados para calcular a variância residual do modelo. Repete-se o procedimento para predição de cafeína.

### 5.1 MODELO DE REGRESSÃO PLSR PARA PARACETAMOL

O modelo PLSR para paracetamol foi construído utilizando os vinte e cinco espectros e concentrações das soluções das misturas de paracetamol e cafeína. Na Figura 8, da variância residual de validação pelo número de variáveis latentes, é indicado à utilização de apenas uma variável latente, aprioristicamente. Entretanto, quando a figura é ampliada nos limites das variáveis latentes 2 a 4, percebe-se que a variância residual de validação se estabiliza na variável latente 4, indicando que três variáveis latentes são suficientes para descrever o modelo adequadamente. Em termos da variância total explicada do modelo para a variável preditora, quantidade de paracetamol, por variável latente, a primeira representa 97,50%, a segunda com 2,00% e a terceira com 0,40%.

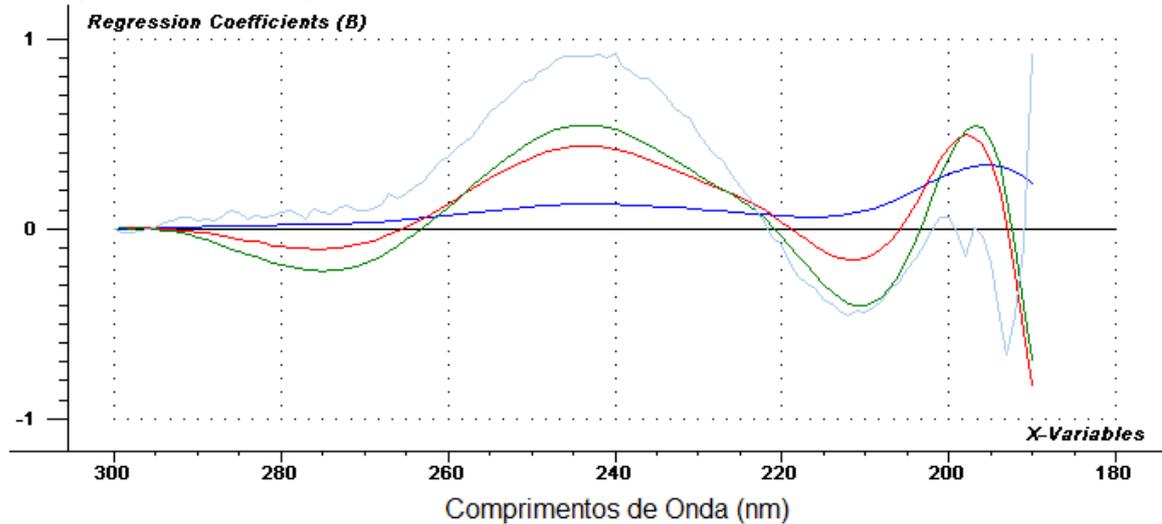
Figura 7 - Variância residual em Y em função das variáveis latentes do modelo.



Fonte: O autor (2015).

Corroborando na escolha de três variáveis latentes para uso do modelo PLSR, para predição de paracetamol na presença de cafeína, a Figura 9 mostra o gráfico dos coeficientes de regressão pelas variáveis originais, na qual percebe-se o aumento de ruídos na variável latente 4 em relação as demais.

Figura 8 - Coeficientes de regressão do modelo PLSR para o fator 1 (linha azul), fator 2 (verde), fator 3 (vermelha) e fator 4 (azul claro).

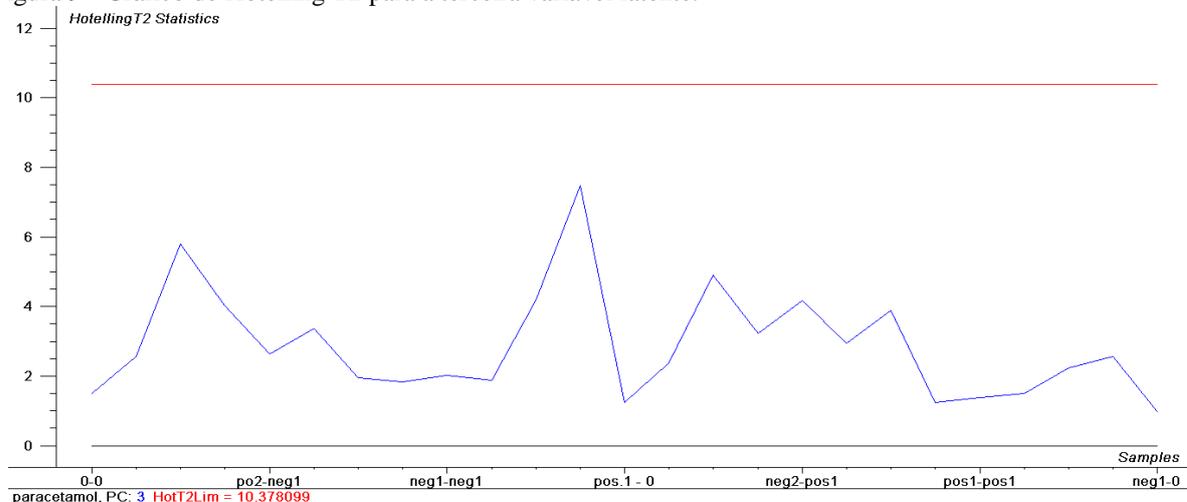


Fonte: O autor (2015).

Escolhida a quantidade de variáveis latentes foi verificada a ausência de amostras anômalas. Baseado no gráfico Hotelling T2 para a variável latente 3 (Figura 10), que gera uma função linear do leverage que pode ser comparado ao limite crítico, de acordo com o

teste F a 5 % de significância estatística, é possível perceber que todas as amostras estão abaixo do limite estatístico, indicando a ausência de amostras anômalas.

Figura 9 - Gráfico de Hotelling T2 para a terceira variável latente.



Fonte: O autor (2015).

A partir do modelo construído foi possível obter as métricas de qualidade do modelo (Tabela 3). É possível observar que a Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (RMSEC, do inglês *Root Mean Square Error of Calibration*) e de Validação Cruzada (RMSEP, do inglês *Root Mean Square Error of Cross Validation*) possuem valores baixos em relação a quantidade presente nas soluções. O modelo também mostrou-se adequado em termos de  $R^2$ , próximo da unidade e com bias menor do que o limite estatístico de 1,71, baseado no teste t-Student, indicando ausência de erro sistemático. Além disso, o erro relativo das medidas (REP, do inglês *Relative Error of Prediction*) também apresenta-se satisfatório com valores abaixo de 2,00%.

Tabela 3 - Métricas dos resultados para calibração e validação do modelo PLSR para o paracetamol.

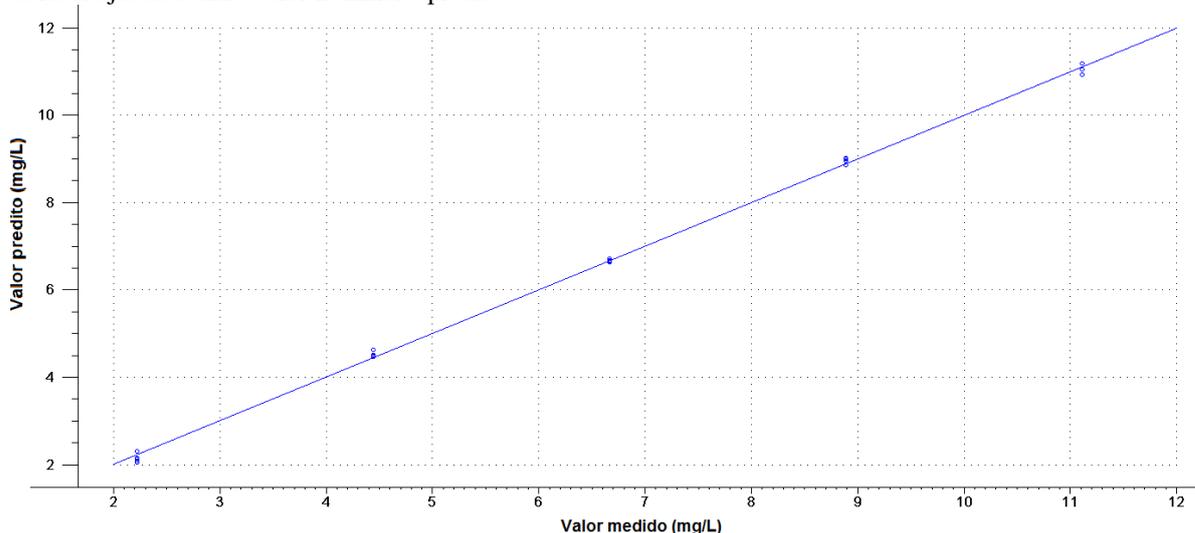
Modelo/Validação	Métricas			
	RMSE (mg/L)	$R^2$	Bias	REP (%)
Calibração	0,11	0,9990	$6,75 \cdot 10^{-16}$	1,65
Validação cruzada	0,12	0,9999	$1,40 \cdot 10^{-3}$	1,46

Fonte: O autor (2015).

Levando em consideração que os critérios de avaliação da qualidade do modelo, das variáveis e das amostras foram satisfatórios, o modelo PLSR construído pode ser considerado

adequado para predição de paracetamol em medicamentos associado a cafeína. Na Figura 11 está apresentado um gráfico dos valores nominais da quantidade de paracetamol nas soluções de mistura pelos valores preditos pelo modelo PLSR. Nesta figura é possível verificar que todos os valores se situam próximo da bissetriz,  $R^2$  igual a 0,99904, reta que indica o ponto em que os valores nos dois eixos se igualam. (Figura 11).

Figura 10 - Valor nominal versus valor predito pelo modelo PLSR para calibração. A linha sólida representa a reta ideal ajustado entre valor nominal e predito.



Fonte: O autor (2015).

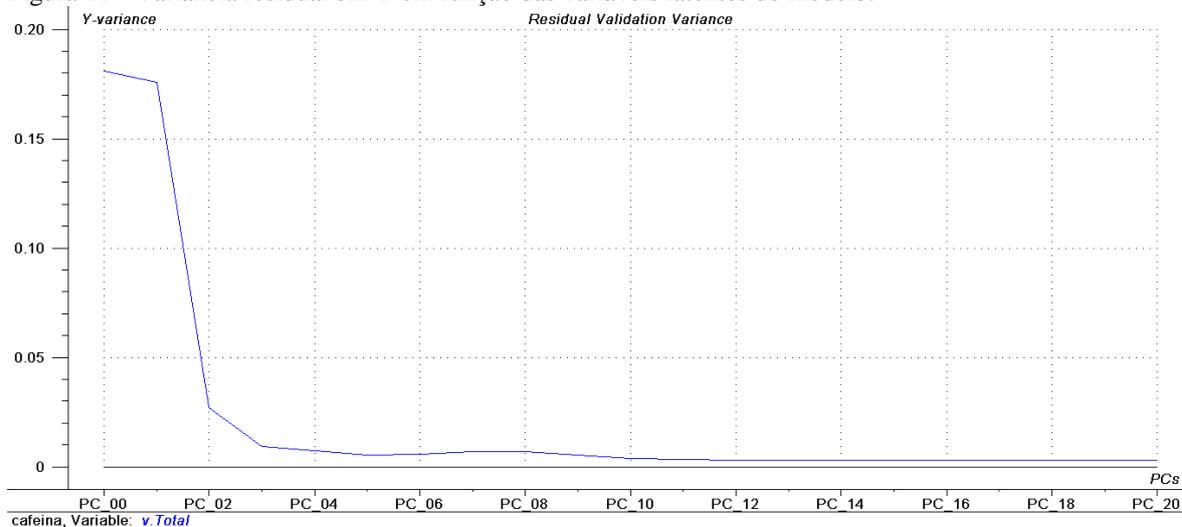
## 5.2 MODELO DE REGRESSÃO PLSR PARA CAFEÍNA

O modelo PLSR para cafeína foi construído utilizando os vinte e cinco espectros e concentrações das soluções das misturas de paracetamol e cafeína. Na Figura 12, da variância residual de validação pelo número de variáveis latentes, visualmente é indicada a utilização de cinco variáveis latentes para validação do modelo. Em termos da variância total explicada do modelo para a variável preditora, quantidade de cafeína, por variável latente, a primeira representa 2,49%, a segunda com 87,82%, a terceira com 5,69%, quarta com 1,62% e a quinta variável latente com 0,47%. Vale ressaltar que a primeira variável latente tem um percentual menor do que a segunda, indicando que a informação sobre a quantidade de cafeína nos dados é representada prioritariamente por PC2, associado possivelmente a menor quantidade de cafeína em relação à paracetamol, que deve estar representado na primeira variável latente.

Vale salientar que o modelo PLSR para a predição de cafeína na presença de paracetamol deve ter a necessidade de mais variáveis latentes e ser menos robusto, devido a

caféina estar em menor quantidade no medicamento, na ordem de oito vezes menor do que o paracetamol.

Figura 11 - Variância residual em Y em função das variáveis latentes do modelo.

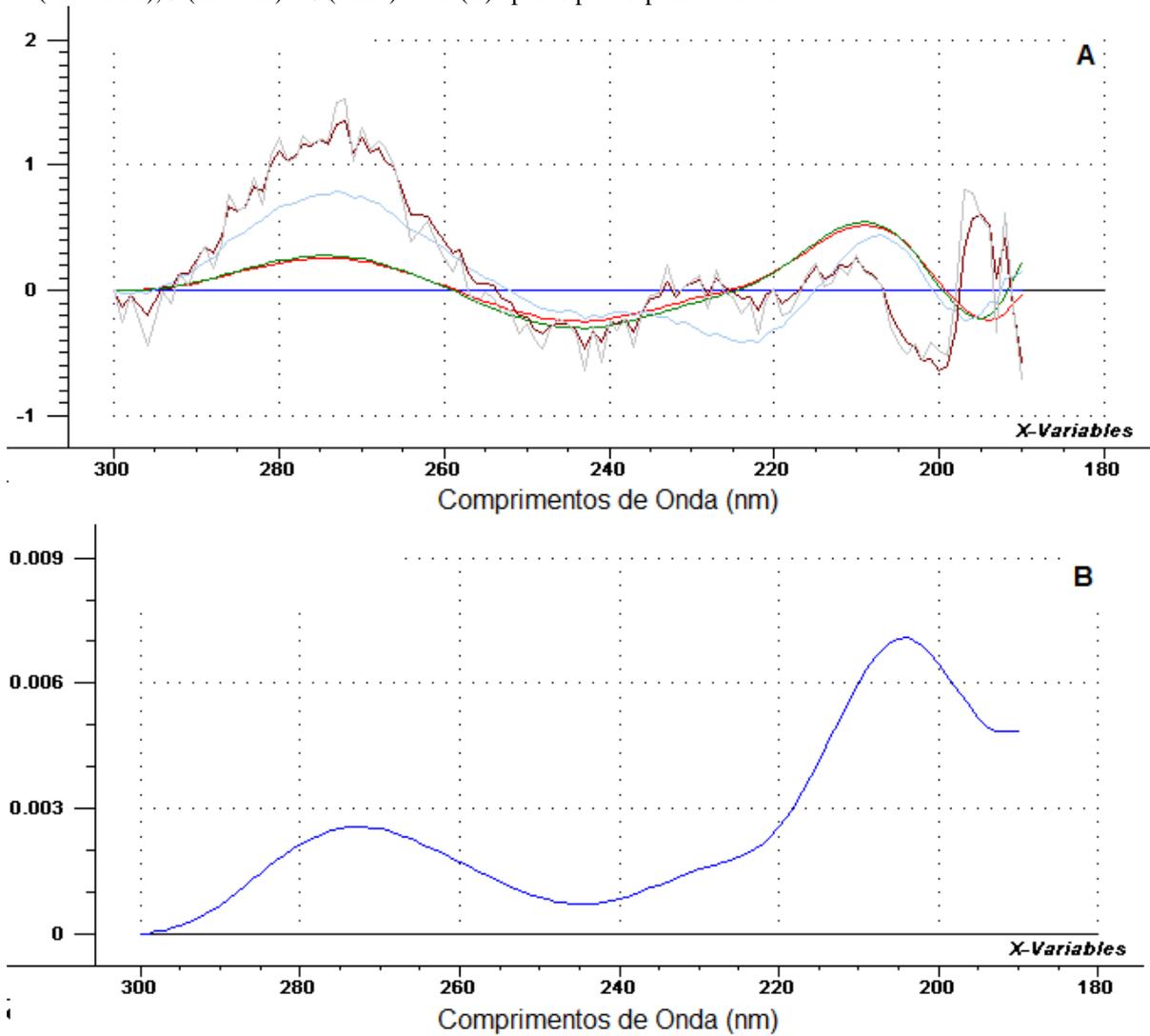


Fonte: O autor (2015).

Corroborando na escolha de cinco variáveis latentes para uso do modelo PLSR para predição de caféina na presença de paracetamol, a Figura 13a, gráfico dos coeficientes de regressão pelas variáveis originais, percebe-se o aumento de ruídos na variável latente 6 em relação as demais. É possível observar que os coeficientes de regressão para as cinco primeiras variáveis latentes são similares em termos de estrutura dos perfis. Entretanto, não é possível perceber isto para a primeira variável latente, pois as intensidades dos coeficientes para as quatro últimas variáveis latentes mascara a estrutura da primeira. Assim, na Figura 13b apresenta a estrutura de coeficientes de regressão para a variável latente 1, em que a forma é similar com as demais variáveis latentes sugeridas. Isto está de acordo com a baixa variância explicada do modelo para a quantidade de caféina, de 2 %.

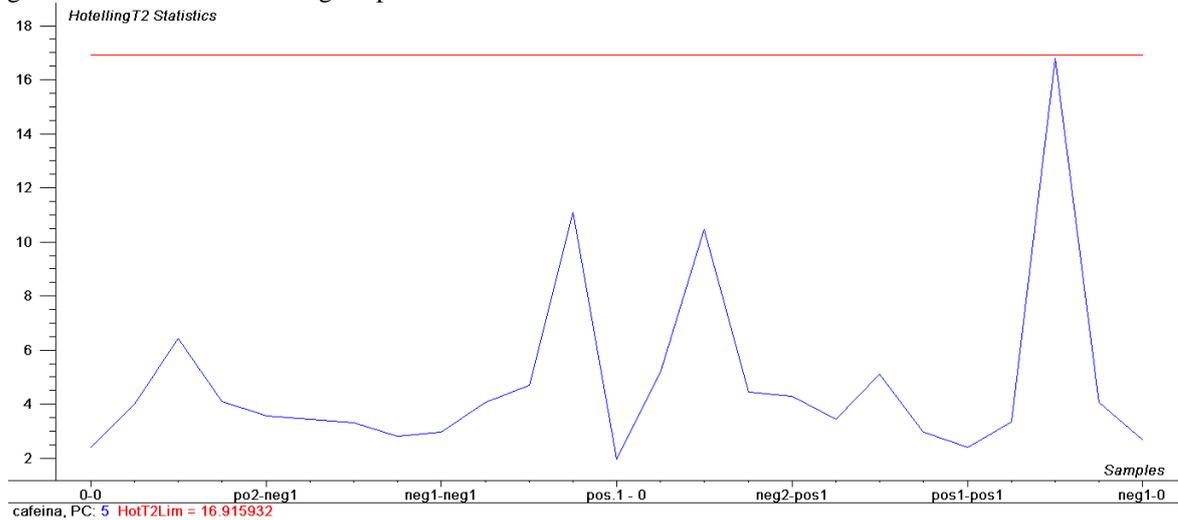
Escolhida a quantidade de variáveis latentes foi verificada a ausência de amostras anômalas. Baseado no gráfico Hotelling T2 para a variável latente 5 (Figura 14), que gera uma função linear do leverage que pode ser comparado ao limite crítico de acordo com o teste F a 5 % de significância estatística, é possível perceber que todas as amostras estão abaixo do limite estatístico, indicando a ausência de amostras anômalas. Vale ressaltar que uma solução apresentou valor próximo do limite estatístico, sendo que esta é a que possui menor quantidade de paracetamol e de caféina de tal sorte que é a que apresenta a menor intensidade de sinais analíticos.

Figura 12 - Coeficientes de regressão do modelo PLSR (A) para os fatores 1 (azul), 2 (vermelho), 3 (verde), 4 (azul claro), 5 (marrom) e 6 (cinza) e em (B) apenas para o primeiro fator.



Fonte: O autor (2015).

Figura 13 - Gráfico de Hotelling T2 para a terceira variável latente.



Fonte: O autor (2015).

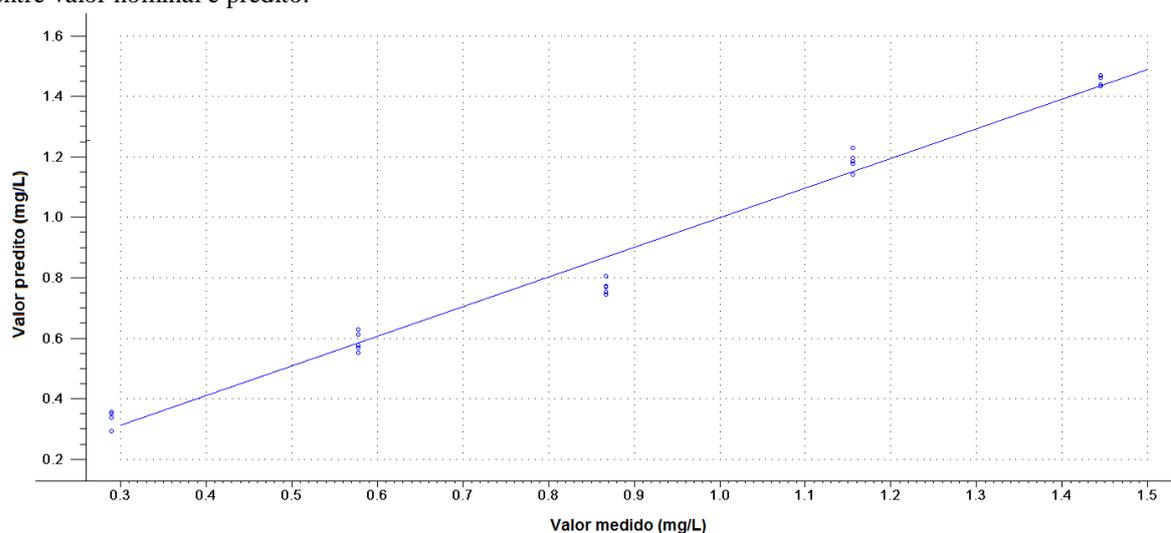
A partir do modelo construído foi possível obter as métricas da qualidade do modelo (Tabela 4). É possível observar que a Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (RMSEC, do inglês *Root Mean Square Error of Calibration*) e de Validação Cruzada (RMSEP, do inglês *Root Mean Square Error of Cross Validation*) possuem valores baixos em relação à quantidade presente nas soluções. O modelo também mostrou-se adequado em termos de  $R^2$ , próximo da unidade e com bias menor do que o limite estatístico de 1,71, baseado no teste t-Student, indicando ausência de erro sistemático. Além disso, o erro relativo de predição (REP) também apresenta-se satisfatório com valores abaixo de 7,00%, apesar do valor ser significativamente maior do que para o modelo PLSR de paracetamol.

Tabela 4 - Métricas dos resultados para calibração e validação do modelo PLSR para a cafeína.

Modelo/Validação	Métricas			
	RMSE (mg/L)	$R^2$	Bias	REP (%)
Calibração	0,06	0,9809	$1,86 \cdot 10^{-16}$	6,92
Validação cruzada	0,07	0,9745	$2,30 \cdot 10^{-3}$	6,50

Fonte: O autor (2015).

Figura 14 - Valor nominal versus valor predito pelo modelo PLSR. A linha sólida representa a reta ideal ajustado entre valor nominal e predito.



Fonte: Autor (2015)

Levando em consideração que os critérios de avaliação da qualidade do modelo, das variáveis e das amostras foram satisfatórios, o modelo PLSR construído pode ser considerado adequado para predição de cafeína em medicamentos contendo paracetamol. Na Figura 15 está apresentado um gráfico dos valores nominais da quantidade de cafeína nas soluções de

mistura pelos valores preditos pelo modelo PLSR. Nesta figura é possível verificar que todos os valores se situam próximo da bissetriz,  $R^2$  igual a 0,99904, reta que indica o ponto em que os valores nos dois eixos se igualam.

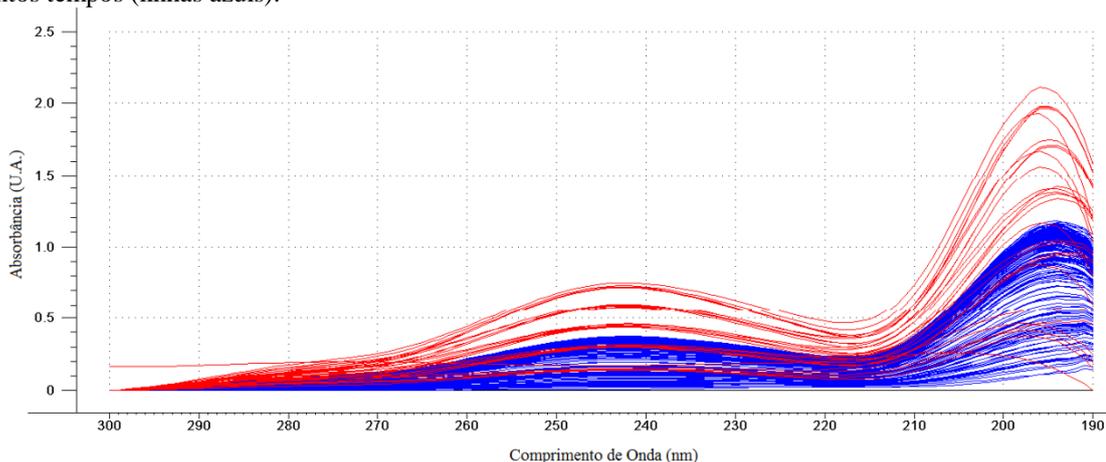
### 5.3 CURVAS DE DISSOLUÇÃO

Construídos e validados os modelos para predição de paracetamol e cafeína, os mesmos foram utilizados para estimar os valores destes dois analitos em amostras comerciais, medicamentos analgésicos de paracetamol associado à cafeína em forma de comprimidos de três marcas distintas. Assim, para cada tempo de dissolução estudado (5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos) foram preparadas soluções, que, em seguida, foram medidas no espectrofotômetro UV-Vis.

Na Figura 16 estão apresentados os espectros das soluções dos medicamentos dissolvidos em diferentes tempos, que são menos intensos do que os sinais das soluções padrão. Esta maior intensidade das soluções padrão em concentrações mais elevadas foram garantidas, pois as soluções padrão foram preparadas a partir de misturas dos analitos segundo o planejamento de fatorial completo com limite superior de concentração equivalente a 200% da concentração de cafeína e paracetamol nos medicamentos estudados.

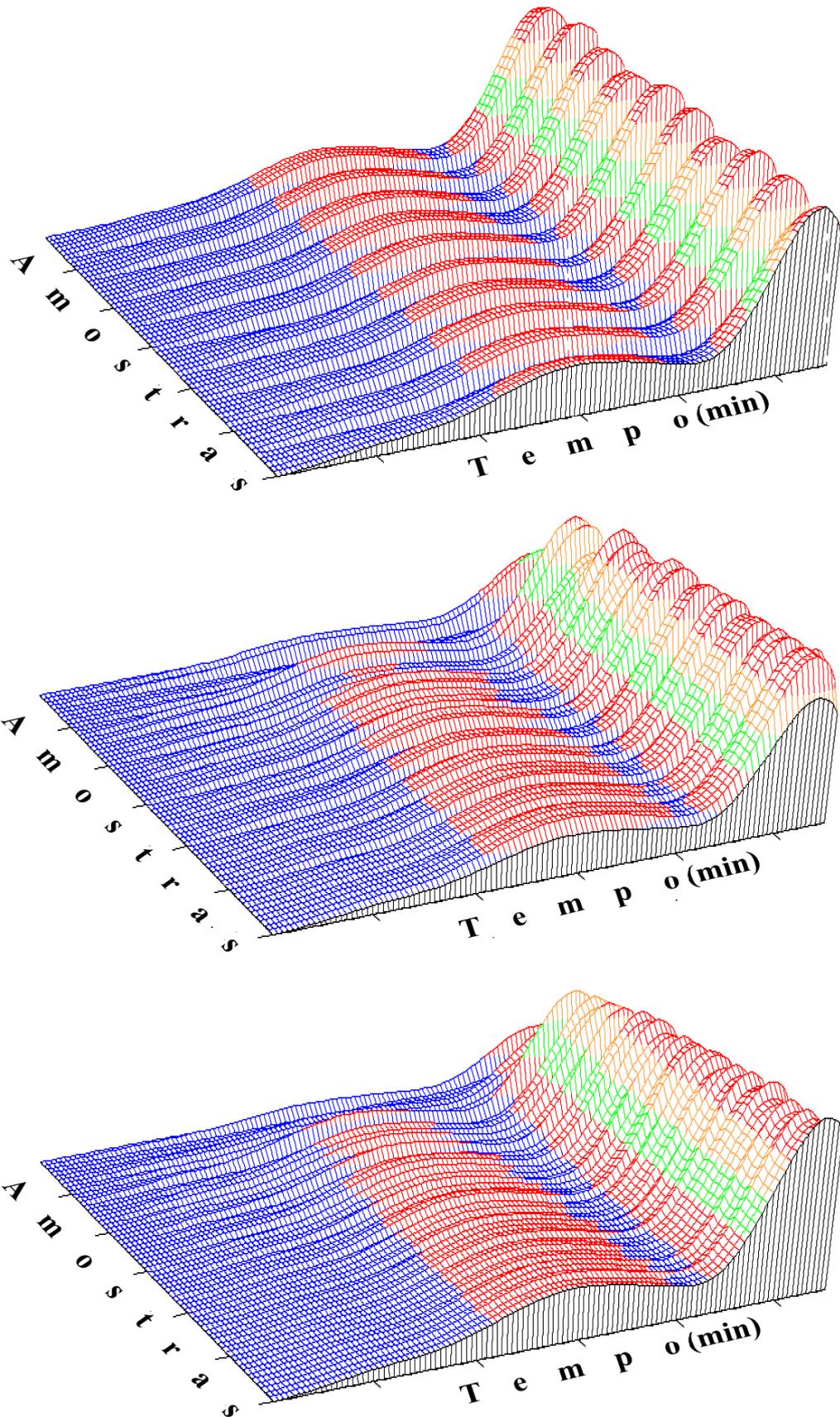
Obtidos os espectros das soluções dos comprimidos dissolvidos em diferentes tempos, um perfil de dissolução foi construído para cada um dos lotes dos medicamentos avaliados nos tempos indicados na faixa espectral estudada. Superfícies tridimensionais típicas, para cada um dos lotes, das marcas de medicamentos está apresentada na Figura 16.

Figura 15 - Espectros do conjunto de calibração (linhas pretas), amostras de comprimidos dissolvidos em distintos tempos (linhas azuis).



Fonte: O autor (2015).

Figura 16 - Típicas superfícies tempo de dissolução x comprimentos de onda para as amostras de (A) Referência; (B) Genérico A e (C) Genérico B.



Fonte: O autor (2015).

Inicialmente, é digno de nota que a estrutura tridimensional do espectro por tempo de dissolução é muito próxima entre as marcas de medicamentos de Referência (Figura 17A), Genérico A (Figura 17B) e Genérico B (Figura 17C). Além disso, percebe-se que os sinais do máximo de absorvância, por volta de 195 nm, para os tempos de dissolução baixos no medicamento Genérico A sofrem considerável variação entre os seus lotes.

### 5.3.1 Paracetamol

O modelo PLSR construído para a predição de paracetamol na presença de cafeína foi utilizado nas amostras dos comprimidos e os resultados médios estão apresentados na Tabela 5. Os valores percentuais estão associados à quantidade indicada no rótulo da embalagem do medicamento.

É possível perceber que a quantidade de paracetamol dissolvido, em cada um dos tempos estudados, para o medicamento R é maior do que dos outros dois, Genérico A e Genérico B, sendo que isto é mais pronunciado nos tempos iniciais de análise. Além disso, apresenta um desvio padrão menor, o que aponta para um controle da qualidade maior. É possível também perceber que o Genérico A apresenta desvios padrão superior e menor dissolução em cada tempo ao Genérico B. Para corroborar com a informação apresentada na Tabela 5, a Figura 18 apresenta graficamente a quantidade, média das amostras, de paracetamol dissolvida por marca de medicamento.

Tabela 5 - Valores de concentração média preditas de paracetamol para as amostras de comprimidos, em distintos tempos de dissolução.

Tempos (min)	R		GA		GB	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
5	25,71	6,84	15,66	11,60	20,05	11,17
10	68,22	9,74	52,05	20,22	57,26	18,41
15	87,08	4,96	73,17	19,42	75,85	13,30
20	94,47	2,23	81,62	15,83	86,74	8,29
25	96,65	1,82	88,18	11,54	92,06	5,06
30	97,69	1,78	92,03	7,41	94,68	3,37

\*média de 10 amostras.

Fonte: O autor (2015).

Em termos da comparação dos perfis de dissolução de paracetamol entre o medicamento Referência e os Genérico A e B, o fator de diferença,  $f_1$ , é de 14,28 para o Genérico A e de 9,19 para o Genérico B, apontando que os dois medicamentos genéricos

podem ser considerados semelhantes em relação ao Referência, sendo que o limite de f1 recomendado para que se considere a dissolução de fármacos semelhante entre dois medicamentos deve ser abaixo de 15, valor quase alcançado pelo Genérico A em comparação com Referência. Em termos do parâmetro de semelhança f2 não foi possível calcular pois os dados não atendem às condições necessárias, como a diferença inicial entre os dados não maior que 20% nos pontos iniciais e 10% nos demais.

Corroborando os resultados apresentados neste trabalho para a construção do perfil de dissolução de paracetamol, Castellano *et al* (2005), também utilizando o método PLSR acoplado a espectrometria molecular UV, apresentaram resultados adequados para dois fármacos, paracetamol e diclofenaco, em medicamento de três marcas distintas.

### 5.3.2 Cafeína

O modelo PLSR construído para a predição de cafeína na presença de paracetamol foi utilizado nas amostras dos comprimidos e os resultados médios estão apresentados na Tabela 6. Os valores percentuais estão associados à quantidade indicada no rótulo da embalagem do medicamento.

É possível perceber que a quantidade de cafeína dissolvida, em cada um dos tempos estudados, para o medicamento Genérico A é menor do que dos outros dois, Referência e Genérico B, sendo que isto é mais pronunciado nos tempos iniciais de análise. Além disso, apresenta um desvio padrão maior, o que aponta que o controle da qualidade deste medicamento é menor.

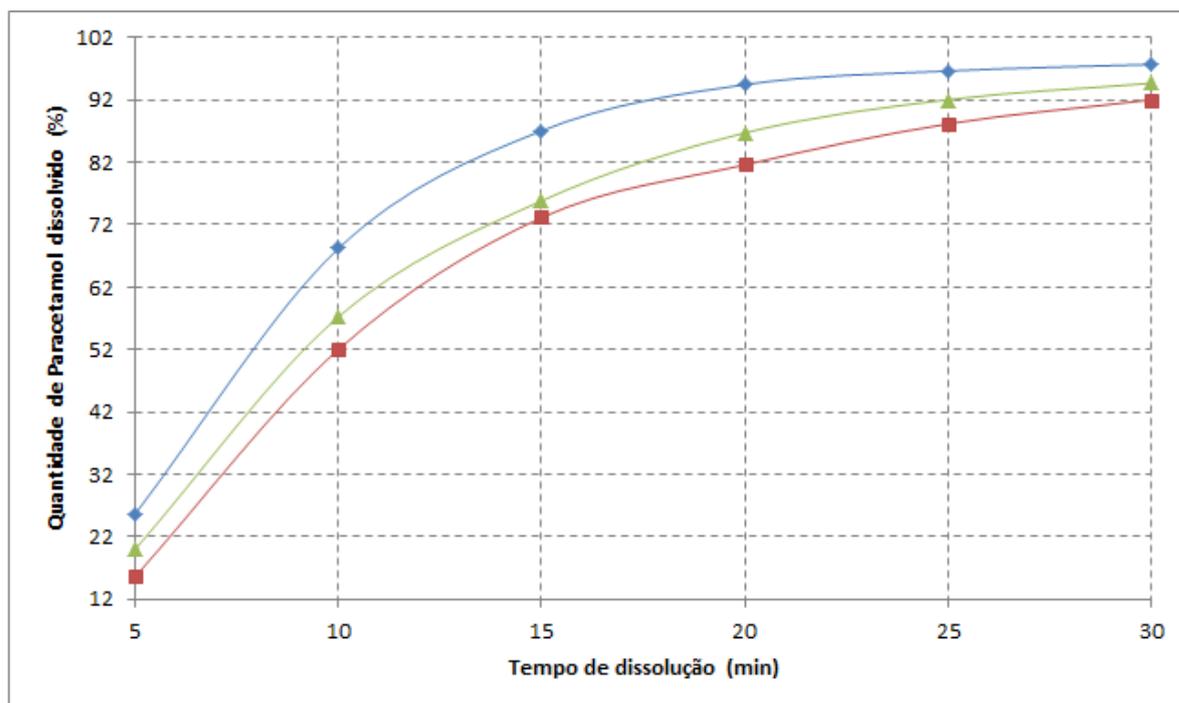
Tabela 6 - Valores de concentração média preditas de cafeína, para as amostras de comprimidos, em distintos tempos de dissolução.

Tempos (min)	R		GA		GB	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
5	40,39	4,23	42,46	12,21	46,19	10,52
10	78,89	8,99	72,71	18,92	76,76	17,35
15	97,54	5,56	89,71	16,34	91,24	11,44
20	104,2	2,49	94,44	14,68	98,93	7,94
25	105,8	3,38	98,85	9,95	102,9	5,51
30	106,8	3,12	102,32	6,34	104,0	5,64

\*média de 10 amostras.

Fonte: O autor (2015).

Figura 17 - Curvas de dissolução média preditas pelo modelo PLSR para o paracetamol. R (linha azul); GA (linha vermelha) e GB (linha verde).



Fonte: O autor (2015).

Para corroborar com a informação apresentada na Tabela 6, a Figura 16 apresenta graficamente a quantidade, média das amostras, de paracetamol dissolvida por marca de medicamento.

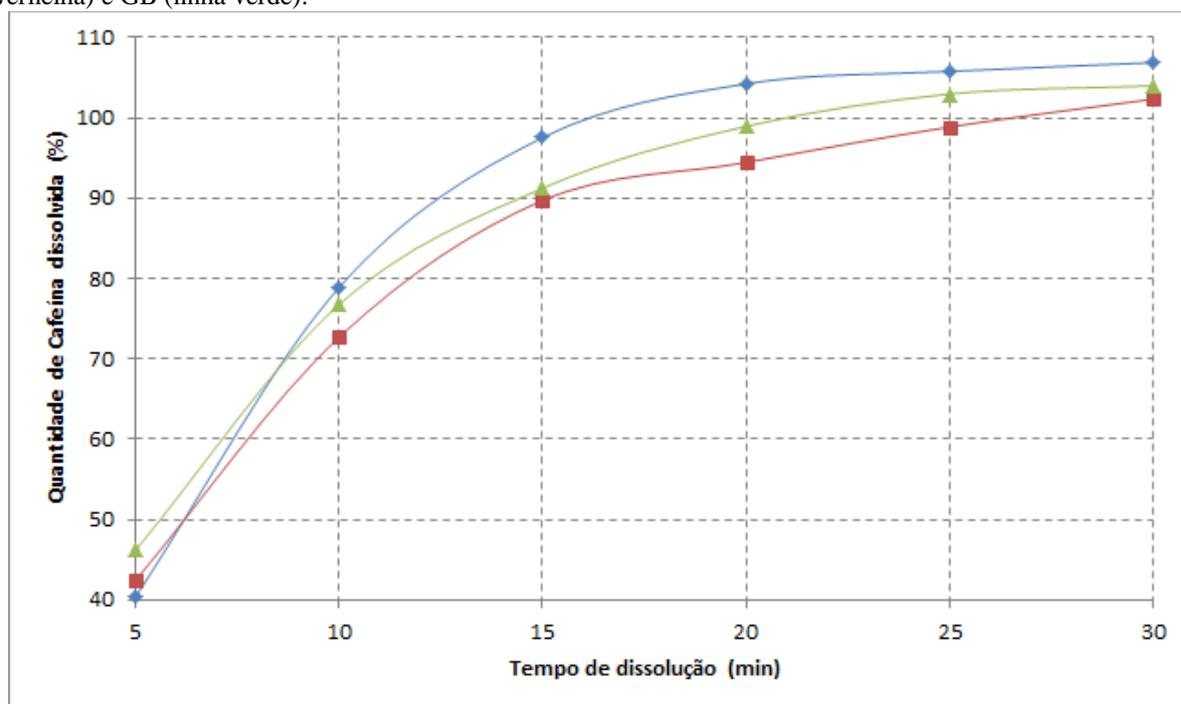
Em termos da comparação dos perfis de dissolução de cafeína entre o medicamento Referência e os Genéricos A e B, o fator diferença,  $f_1$ , é de 6,22 para o Genérico A e de 2,55 para o Genérico B, apontando que os dois medicamentos genéricos podem ser considerados semelhantes em relação à Referência, no contexto do perfil de dissolução. Em termos do parâmetro de semelhança  $f_2$  não foi possível calcular pois os dados não atendem às condições necessárias, como a diferença inicial entre os dados não maior que 20% nos pontos iniciais e 10% nos demais.

Vale ressaltar que, ao comparar os perfis nas Figuras 18 e 19, observou-se que a cafeína dissolveu mais rápido que o paracetamol em todas as três marcas de medicamentos utilizadas em estudo. Como comparativo, Liu *et al* (1999) avaliaram simultaneamente os perfis de dissolução de três fármacos (ácido acetilsalicílico, fenacetina e cafeína) em comprimidos. Os pesquisadores observaram que ao usar o modelo PLSR, os resultados não sofreram influência dos interferentes. Os autores também observaram que entre os três fármacos existentes, a cafeína dissolve mais rápido.

Em termos de trabalhos que apresentam uso de modelos PLSR para construção do perfil de dissolução de paracetamol e cafeína, Dinç *et al.* (2003) analisaram simultaneamente

paracetamol, cafeína e propifenazona, utilizando espectrometria UV de duplo feixe. A diferença deste trabalho, para o nosso, é que as misturas foram preparadas em suco gástrico simulado para construir o conjunto de calibração. Pelos resultados obtidos dos perfis de dissolução de comprimidos de três componentes observaram que mais de 95% (98,0% para paracetamol e 96,5% para cafeína) dos fármacos foram dissolvidos em 15 min. Por outro lado, a quantidade de paracetamol foi significativamente menor (87,1%) neste trabalho para o medicamento de referência, mas o de cafeína (97,5%) foi similar. Esta diferença nos resultados está associada ao uso de diferentes meios de dissolução.

Figura 18 - Curvas de dissolução média preditas pelo modelo PLSR para a cafeína. R (linha azul); GA (linha vermelha) e GB (linha verde).



Fonte: O autor (2015).

## 6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foram construídos modelos PLSR para a predição de paracetamol e cafeína em medicamentos na forma de comprimidos e com estes resultados foi possível construir curvas de dissolução. Os modelos apresentaram-se adequados para a predição dos dois fármacos, pois apresentaram raiz quadrada do RMSEC de 0,22 e 0,06 mg/L respectivamente para paracetamol e cafeína, com bias não significativos e REP de 0,35% para paracetamol, e 1,07% para cafeína.

Comparando os perfis de dissolução de paracetamol e de cafeína, percebeu-se que o medicamento Referência apresentou uma variação do perfil de dissolução entre lotes muito mais baixo, do que os dois outros medicamentos, o que sugere uma maior uniformidade na produção.

Em termos de avaliação sobre f1, observando o grau de similaridade de dissolução entre os medicamentos, percebe-se que os três são estatisticamente não diferentes. Vale ressaltar que o medicamento Genérico A em relação ao Referência, para paracetamol, apresentou f1 de 14,28, um pouco abaixo do limite crítico (15). As demais comparações sugeriram grau de similaridade maior na dissolução.

Os dois modelos PLSR construídos neste trabalho, utilizando espectrometria UV, é viável para ser utilizado no estudo perfis de dissolução para medicamentos que contenham paracetamol e cafeína associados em medicamentos, independente dos excipientes utilizados. Assim, os modelos PLSR construídos são uma alternativa viável ao controle da qualidade de comprimidos em medicamentos que contenham paracetamol e cafeína associados. Além disso, o método desenvolvido pode ser considerado barato e rápido para alcançar os resultados pretendidos, sem necessidade de separação prévia.

**REFERÊNCIAS**

- ADAMS, E.; COOMANS, D.; SMEYERS-VERBEKE J.; MASSART, D. L.; Application of linear mixed effects models to the evaluation of dissolution profiles. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 226, n. 1-2, p. 107–125, 2001.
- AFIFI, S. A.; AL GOHARY, O. M. N.; AL-SHALABI, R.; ELTAHIR, E. K. D.; DARWISH, H. W.; Comparative Evaluation of the Pharmaceutical and Chemical Equivalence of Some Commercial Brands of Acetaminophen Tablets. **Life Science Journal**. v. 10, n. 3, p. 2385-2391, 2013.
- AHMED, S. A.; PAL, N.; VERMA, G.; SINGH, A.; Comparative in vitro release study of some commercially available paracetamol tablets. **Der Chemica Sinica**. v. 3, n. 5, p. 1075-1077, 2012.
- AL-SHALABI, R.; AL-GOHARY, O.; AFIFY, S.; ELTAHIR, E.; Comparative evaluation of the biopharmaceutical and chemical equivalence of the some commercial brands of paracetamol tablets. **International Scholarly and Scientific Research & Innovation**. v. 6, n. 9, p. 185-187, 2012.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R.; A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**. v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.
- ANDERSSON, M.; A comparison of nine PLSR1 algorithms. **Journal of Chemometrics**. v. 23, n. 10, p. 518-529, 2009.
- AZAM, M. G.; HAIDER, S. S.; Evaluation of Dissolution Behavior of Paracetamol Suspensions. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 7, n. 1, p. 53-58, 2008.
- BAO, L.; MA, J.; LONG, W.; HE, P.; ZHANG, T.; NGUYEN, A. V.; Fractal analysis in particle dissolution: a review. **Reviews in Chemical Engineering**. v. 30, n. 3, p. 262-287, 2014.
- BERGSTRÖM, C. A. S.; HOLM, R.; JØRGENSEN, S. A.; ANDERSSON, S. B. E.; ARTURSSON, P.; BEATO, S.; BORDE, A.; BOX, K.; BREWSTER, M.; DRESSMAN, J.; FENG, K. I.; HALBERT, G.; KOSTEWICZ, E.; MCALLISTER, M.; MUENSTER, U.; THINNES, J.; TAYLOR, R.; MULLERTZ, A.; Early pharmaceutical profiling to predict oral drug absorption: Current status and unmet needs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 57, p. 173-199, 2014.
- BIHAN, J. L.; PÁVÓ, J.; MARCHAND, C.; Partial least square regression: an analysis tool for quantitative non-destructive testing. **The European Physical Journal Applied Physics**. v. 67, n. 3, p. 30901-30907, 2014.
- BONFILIO, R.; PIRES, S. A.; FERREIRA, L. M. B.; ALMEIDA, A. E.; DORIGUETTO, A. C.; DE ARAÚJO, M. B.; SALGADO, H. R. N.; A Discriminating Dissolution Method for

- Glimepiride Polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 101, n. 2, p. 794-804, 2012.
- BOULESTEIX, A. L.; STRIMMER, K. Partial least squares: a versatile tool for the analysis of high-dimensional genomic data. **Briefings In Bioinformatics**. v. 8, n. 1, p. 32-44, 2007.
- BRASIL; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº. 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. **Diário Oficial da União**, nº 154, Brasília, 12 de agosto de 2010, p. 36 – 38.
- BRASIL; Ministério da Saúde. ANVISA. Informe SNVS/ANVISA/UFARM nº 2 de 2002. Risco de intoxicação com analgésicos e antitérmicos. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Pos++Comercializacao++Pos++Uso/Farmacovigilancia/Alertas+por+Regiao+Geografica/INFORMES/Informes+de+2002/Informe+SNVS+Anvisa+UFARM+n+2+de+25+de+fevereiro+de+2002>>. Acesso em 21 de agosto de 2015.
- BRITISH PHARMACOPEIA; Incorporating the requirements of 7<sup>th</sup> edition of the European Pharmacopeia as amended by Supplements 7.1 to 7.5, 2013. Disponível em: <<http://pharmabookstore.com/blog/british-pharmacopoeia-2013/>>. Acesso em 21 de maio de 2015.
- BRUM, T. F.; LAPORTA, L. V., JÚNIOR, F. R. P.; GONÇALVES, C. A., SANTOS, M. R.; Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos genéricos contendo paracetamol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 33, n. 3, p. 373-378, 2012.
- BUTLER, J. M.; DRESSMAN, J. B.; The developability classification system: application of biopharmaceutics concepts to formulation development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 99, n. 12, p. 4940-4954, 2010.
- CASCONE, S.; SANTIS, F.; LAMBERTI, G.; TITOMANLIO, G.; The influence of dissolution conditions on the drug ADME phenomena. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 79, n. 2, p. 382-39, 2011.
- CASTELLANO, P. M.; VIGNADUZZO, S. E.; MAGGIO, R. M.; KAUFMAN, T. S.; Application of a chemometric method for simultaneous determination of acetaminophen and diclofenac in content-uniformity and drug-dissolution studies. **Anal Bioanal Chem**. v. 382, n. 7, p. 1711–1714, 2005.
- CHAN, C. C.; PEARSON, N.; REBELO-CAMERAO, A.; **Dissolution Method Validation**. In: CHAN, C. C., *et al.* **Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification**. 1. ed. New Jersey & Canada: John Wiley & Sons, Inc., 2004. Cap. 4, p. 51-66.
- CHAUD, M. V.; LIMA, A. C.; MICHELIN, D. C.; SANTOS, M. R. C.; PAGANELLI, M. O.; IGNÁCIO, R. F.; Efeito da Força de Compressão e da Umidade no Perfil de Dissolução de Fármacos. **Saúde em Revista**. v. 7, n. 15, p. 39-43, 2005.

- CHORILLI, M.; SOUSA, A. A.; CORRÊA, F.; SALGADO, H. R. N.; Estudo de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e similar contendo cefalina na forma farmacêutica cápsula. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 31, n. 1, p. 69-73, 2010.
- CHUN, H.; KELEŞ, S.; Sparse partial least squares regression for simultaneous dimension reduction and variable selection. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B Statistical Methodology**. v. 72, n. 1, p. 3-25, 2010.
- COOK, J.; ADDICKS, W.; WU, Y. H.; Application of the Biopharmaceutical Classification System in Clinical Drug Development—An Industrial View. **APPS Journal**. v. 10, n. 2, p. 306-310, 2008.
- COSTA, T. M. S.; **Aplicação da calibração multivariada de ordem superior na resolução de espectro de fluorescência molecular para quantificação de levofloxacino**. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- COSTA, P.; An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 220, n. 1–2, p. 77–83, 2001.
- COSTA, P.; LOBO, J. M. S.; Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 13, n. 2, p. 123–133, 2001.
- CUTRIGNELLI, A.; TRAPANI, A.; LOPEDOTA, A.; FRANCO, M.; MANDRACHIA, D.; DENORA, N.; LAQUINTANA, V.; TRAPANI, G.; Griseofulvin/carrier blends: application of partial least squares (PLS) regression analysis for estimating the factors affecting the dissolution efficiency. **AAPS PharmSciTech**. v. 12, n. 4, p. 1019-1030, 2011.
- DALE, M. M.; HAYLETT, D. G.; **Farmacologia condensada**. Tradução da 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2010. 126 p.
- DALY, J.W.; Caffeine analogs: Biomedical impact. **Cellular and molecular life sciences**. v. 64, n. 16, p. 2153–2169, 2007.
- DERRY, C. J.; DERRY, S.; MOORE, R. A.; Caffeine as an analgesic adjuvant for acute pain in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. 2014. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/doi/10.1002/14651858.CD009281.pub3>>. Acesso em 16 de maio de 2015.
- DINÇ, E.; SERIN, C.; TUĞÇU-DEMİRÖZ, F.; DOĞANAY, T.; Dissolution and assaying of multicomponent tablets by chemometric methods using computer-aided spectrophotometer. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 250, n. 2, p. 339-350, 2003.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA; 2010.

- FDA; GUIDANCE for Industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. Rockville: FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION, 1997. 17p. Hanson Research Corporate. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070237.pdf>> Acesso em 08 de maio de 2015.
- FERRÃO, M. F.; CARVALHO, C. W.; MÜLLER, E. I.; DAVANZO, C. U.; Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLSR e DRIFT-PLSR. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 24, n. 3, p. 333-340, 2004.
- FERRARO, M. C.; CASTELLANO, P. M.; AUFMAN, T. S.; Simultaneous determination of amiloride hydrochloride and hydrochlorothiazide in synthetic samples and pharmaceutical formulations by multivariate analysis of spectrophotometric data. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** v. 30, n. 4, p. 1121-1131, 2002.
- FERRARO, M. C.; CASTELLANO, P. M.; KAUFMAN, T. S.; Chemometrics-assisted simultaneous determination of atenolol and chlorthalidone in synthetic binary mixtures and pharmaceutical dosage forms. **Anal Bioanal Chem.** v. 377, n. 7-8, p. 1159-164, 2003.
- FORBES, J. A.; BEAVER, W. T.; JONES, K. F.; KEHM, C. J.; SMITH, W. K.; GONGLOFF, C. M.; ZELEZNOCK, J. R.; SMITH, J. W.; Effect of caffeine on ibuprofen analgesia in postoperative oral surgery pain. **Clin. Pharmacol. Ther.** v. 49, n. 6, p. 674-684, 1991.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B. R.; Partial least-squares regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta.** v. 185, p. 1-17, 1986.
- GENNARO, A. R.; **Remington: a ciência e a prática da farmácia.** 20. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan S.A., 2004. 2208 p.
- GODOY, H. R. V.; GONÇALVES, F. B.; MORAES, C. F.; Associação de cafeína ao paracetamol no tratamento da dor. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília.** v. 1, n. 3, p. 169-173, 2012.
- HASSOUNA, M. E. M.; ISSA, Y. M.; ZAYED, A. G.; A comparative study of the in-vitro dissolution profiles of paracetamol and caffeine combination in different formulations using HPLC. **Journal of Applied Pharmaceutical Science.** v. 2, n. 5, p. 52-59, 2012.
- HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H.; Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. **Industrial and Engineering Chemistry.** v. 23, n. 8, p. 923-931, 1931.
- HÖRTER, D.; DRESSMAN, J. B.; Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews.** v. 46, n. 1-3, p. 75-87, 2001.
- KALANTZI, L.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; JUNGINGER, H. E.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P.; STAVCHANSKY, S. A.; BARENDTS, D. M.; Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Acetaminophen (paracetamol). **Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 95, n. 1, p. 4-14, 2006.

- KASSAYE, L.; GENET, G.; Evaluation and comparison of In-vitro dissolution Profiles for different brands of amoxicillin capsules. **African Health Science**. v. 13, n. 2, p. 369-375, 2013.
- KATZUNG, B. G.; **Farmacologia Básica & Clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2003. 1054 p.
- KRISHNAN, A.; WILLIAMS, L. J.; MCINTOSH, A. R.; ABDI, H.; Partial Least Squares (PLSR) methods for neuroimaging: A tutorial and review. **NeuroImage**. v. 56, n.2, p. 455–475, 2011.
- KRISHNA, R; YU, L.; **Biopharmaceuticals Applications in Drug Development**. New York: Springer, 2008. 396 p.
- LASKA, E. M.; SUNSHINE, A.; ZIGHELBOIM, I.; ROURE, C.; MARRERO, I.; WANDERUNG, J.; OLSON, N.; Effect of caffeine on acetaminophen analgesia. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. v. 33, n. 4, p. 498–509, 1983.
- LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSSON, B.; The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **Journal of Pharmay and Pharmacology**. v. 57, n. 3, 273-285, 2005.
- LINDENBERG, M.; KOPP, S. DRESSMAN, J. B.; Classification of orally administered drugs on the World Health organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. **Eur. J. Pharmaceut. Biopharm.** v. 58, n. 2, p. 265-278, 2004.
- LIU, X. Z.; LIU, S. S.; WU, J. F.; FAN, J. L.; Simultaneous monitoring of aspirin, phenacetin and caffeine in compound aspirin tablets using a sequential injection drug-dissolution testing system with partial least squares calibration. **Analytica chimica acta**. v. 392, n. 2, p. 273-281, 1999.
- LOURENÇÃO, B. C.; **Determinação Volumétrica Simultânea de Paracetamol e Cafeína e Ácido Ascórbico e Cafeína em Formulações Farmacêuticas Empregando um Eletrodo Diamante Dopado com Boro**. 2009. 139 f. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- MAENO, Y.; FUKAMI, T.; KAWAHATA, M.; YAMAGUCHI, K.; TAGAMI, T.; OZEKI, T.; SUZUKI, T.; TOMONO, K.; Novel pharmaceutical cocrystal consisting of paracetamol and trimethylglycine, a new promising cocrystal former. **International journal of pharmaceuticals**. v. 473, n. 1-2, p. 179-186, 2014.
- MAGGIO, R. M.; CASTELLANO, P. M.; KAUFMAN, T. S.; A new principal component analysis-based approach for testing “similarity” of drug dissolution profiles. **European journal of pharmaceutical sciences**. v. 34, n. 1, p. 66-77, 2008.
- MAGGIO, R. M.; RIVERO, M. A.; KAUFMAN, T. S.; Simultaneous acquisition of the dissolution curves of two active ingredients in a binary pharmaceutical association, employment an on-line circulation system and chemometrics-assistance. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 72, p. 51-58, 2013.

- MALHE, F.; GOELZER, F.; ADRIANO, J.; FELIPPE, M.; VIER, N.; CARLI, R. B. G.; ROSA, T.; COUTO, A. G.; LUCINDA-SILVA, R. M.; Avaliação do Perfil de Dissolução de Comprimidos de Hidroclorotiazida Comercializados no Brasil. **Revista de ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 28, n. 3, p. 265 - 271, 2007.
- MARCOLONGO, R.; **Dissolução de Medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área de farmacêutica**. 2003. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MARKOPOULOU, C. K.; MALLIOU, E. T.; KOUNDOURELLIS, J. E.; Chemometric and derivative methods as flexible spectrophotometric approaches for dissolution and assaying tests in multicomponent tablets. **II Farmaco**. v. 59, n. 8, p. 627-636, 2004.
- MARTIN, B.; **Analgésicos Opióides e Não-opióides**. In: CRAIG, C. R.; STITZEL, R. E.; **Farmacologia Moderna**. 4. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 39, p. 389-406.
- MARTINEZ, M. N.; AMIDON, G. L.; A Mechanistic Approach to Understanding the Factors Affecting Drug Absorption: A Review of Fundamentals. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, n. 6, p. 620-643, 2002.
- MCQUAY, H. J.; ANGELL, K.; CARROLL, D.; MOORE, R. A.; JUNIPER, R. P.; Ibuprofen compared with ibuprofen plus caffeine after third molar surgery. **Pain**. v. 66, n. 2-3, p. 247-251, 1996.
- MEHMOOD, T.; LILAND, K. H.; SNIPEN, L.; SÆBØ, S.; A review of variable selection methods in Partial Least Squares Regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. v. 118, p. 62-69, 2012.
- MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of curves with an emphasis on in-vitro dissolution profiles. **Pharm. Technol**. v. 20, n. 6, p. 64-75, 1996.
- MORELLATO, S. A.; **Modelos de Regressão PLSR com Erros Heteroscedásticos**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Estatística). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
- NAYAK, A. K.; Comparative in vitro dissolution assessment of some commercially available paracetamol tablets. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**. v. 2, n. 1, p. 29-30, 2010.
- NEVES, A. C. O.; SOARES, G. M.; MORAIS, S. C.; COSTA, F. S.; PORTO, D. L.; LIMA, K. M.; Dissolution testing of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol tablets using near-infrared spectroscopy (NIRS) and multivariate calibration. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 57, p. 115-119, 2012.
- NOYES, A. A.; WHITNEY, W. R.; The rate of solution of solid substances in their own solutions. **J. Am. Chem. Soc.** v. 19, n. 12, p. 390-394, 1897.

- OZKAN, Y.; OZALP, Y.; SAVAŞER, A.; OZKAN, S. A.; Comparative dissolution testing of paracetamol commercial tablete dosage forms. **Acta Pol Pharm.** v. 57, n. 1, p. 33-41, 2000.
- PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N. S.; Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 201, n. 2, p. 131-150, 2000.
- POLLI, J. E.; REKHI, G. S.; SHAH, V. P.; Methods to compare dissolution profiles. **Drug Information Journal.** v. 30, p. 1113–1120, 1996.
- QIU, S.; WANG, K.; LI, M.; In vitro dissolution studies of immediate-release and extended release formulations using flow through cell apparatus 4. **Dissol Technol.** v. 21, n. 2, p. 6-15, 2014.
- RAJU, V.; MURTHY, K. V. R.; Development and Validation of New Discriminative Dissolution Method for Carvedilol Tablets. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 73, n. 5, p. 527–536, 2011.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; **Farmacologia.** Tradução da 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 808 p.
- RATHNAYAKE, A. D.; MANNAPPERUMA, U.; THAMBAWITA, D.; HERATH, K. P. B.; GALAPPATTHY, P.; JAYAKODY, R. L.; Determination of in-vitro Equivalence of Paracetamol Tablets. **International Journal of Multidisciplinary Studies.** v. 1, n. 1, p. 75-83, 2014.
- RENNER, B.; CLARKE, G.; GRATAN, T.; BEISEL, A.; MUELLER, C.; WERNER, U.; KOBAL, G.; BRUNE, K.; Caffeine Accelerates Absorption and Enhances the Analgesic Effect of Acetaminophen. **Journal of Clinical Pharma.** v. 47, n. 6, p. 715–726, 2007.
- RODRIGUES, P. O.; STULZER, H. K.; CRUZ, A. P.; FOPPA, T.; CARDOSO, T. M.; SILVA, M. A. S.; Equivalência Farmacêutica entre comprimidos propranolol comercializados no mercado nacional. **Infarma.** v. 18, n. 3, p. 16-21, 2006.
- RUIZ, M.; MUJICA, L. E.; BERJAGA, X.; RODELLAR, J.; Partial least square/projection to latent structures (PLSR) regression to estimate impact localization in structures. **Smart Materials and Structures.** v. 22, n. 2, p. 22-28, 2013.
- SANTOS, J.; CORDEIRO, G. A.; NAGATA, N.; PERALTA-ZAMORA, P.; RODRIGUES, L. N. C.; Avaliação do perfil de dissolução de medicamentos utilizando-se espectroscopia eletrônica multivariada. **Química Nova.** v. 34, n. 9, p. 1575-1581, 2011.
- SAWYNOK, J.; **Methylxanthines and Pain.** In: FREDHOLM, B. B. **Methylxanthines.** [S.l.]: Handbook of Experimental Pharmacology, v. 200, 2011. p. 311-329.
- SENA, M.M. **Aplicação de Método Quimiométricos de Primera e Segunda Ordem na Determinação Direta dos Fármacos por Espectroscopia Molecular.** 2004. 122 f. Tese (Doutorado em Química Analítica). UNICAMP, São Paulo.

- SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 43, n. 1, p. 79-88, 2007.
- SHAH, V. P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J. P.; In vitro dissolution profile comparison-- statistics and analysis of the similarity factor, f2. **Pharmaceutical Research**. v. 15, n. 6, p. 889-896, 1998.
- SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F.; Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 453, n. 1, p. 12-24, 2013.
- SILVA, W.C.; **Determinação Simultânea de Paracetamol e Cafeína em Formulações Farmacêuticas Usando Análise por Injeção em Fluxo com Detecção Amperométrica**. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.
- STORPIRTIS, S.; RODRIGUES, D.; In vitro evaluation of dissolution properties and degradation products of omeprazole in enteric-coated pellets. **Drug Dev. Ind. Pharm.** v. 24, n. 11, p. 123-129, 1998.
- STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D.; Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. *Revista Brasileira de Farmácia e Bioquímica da Universidade da São Paulo*. v. 35, n.1, p. 1-16, 1999.
- TAVALLALI, H.; SHEIKHAEI, M.; Simultaneous kinetic determination of paracetamol and caffeine by H-point standard addition method. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**. v. 3, n. 1, p. 011-019, 2009.
- TAVARES, C.; SAKATA, R. K.; Cafeína para o Tratamento de Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 62, n. 3, p. 387-401, 2012.
- TROJANOWICZ, M.; Recent developments in electrochemical flow detections - A review: Part I. Flow analysis and capillary electrophoresis. **Anal Chim Acta**. v. 653, n.1, p. 36-58, 2009.
- TSUME, Y.; MUDIE, D. M.; LANGGUTH, P.; AMIDON, G. E.; AMIDON, G. L.; The Biopharmaceutics Classification System: subclasses for in vivo predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC. **European Journal of Pharmaceutical**. v. 57, p. 152-163, 2014.
- USP; **The US Pharmacopeia 36/NF31**: the Official Compendia of Standards, 2013.
- VIÇOSA, A. L.; **Estudo da Utilização de Incrementadores de Dissolução Para Compressão Direta: Enfoque no Desenvolvimento de Medicamentos Genéricos**. 2003. 125 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- VIGNADUZZO, S. E.; MAGGIO, R. M.; CASTELLANO, P. M.; KAUFMAN, T. S.; PLSR and first derivative of ratio spectra methods for determination of hydrochlorothiazide and

- propranolol hydrochloride in tablets. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 386, n. 7-8, p. 2239–2244, 2006.
- WILLIAMS, H. D.; BARRETT, D. A.; WARD, R.; HARDY, I. J.; MELIA, C. D.; A liquid chromatography method for quantifying caffeine dissolution from pharmaceutical formulations into colloidal, fat-rich media. **Journal of Chromatography B Analyt Technol Biomed Life Sci**. v. 878, n. 21, p. 1739-1745, 2010.
- WOLD, S., SJÖSTRÖM, M., ERIKSSON, L.; PLSR-regression: a basic tool of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. v. 58, n. 2, p. 109-130, 2001b.
- WOLD, S., TRYGG, J.; BERGLUND, A.; ANTTI, H. Some recent developments in PLSR modeling. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. v. 58, n. 2, p. 131-150, 2001b.
- YUKSEL, N.; KANIK, A. E.; BAYKARA, T.; Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and- independent methods. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 209, n. 1-2, p. 57 – 67, 2000.
- XIE, F.; JI, S.; CHENG, Z.; In vitro dissolution similarity factor (f<sub>2</sub>) and in vivo bioequivalence criteria, how and when do they match? Using a BCS class II drug as a simulation example. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 66, p. 163-172, 2015.
- ZHANG, W. Y.; A Benefit-Risk Assessment of Caffeine as an Analgesic Adjuvant. **Drug Safety**. v. 24, n.15, p. 1179-1942, 2001.
- ZHAO, N.; WU, Z. S.; ZHANG, Q.; SHI, X. Y.; MA, Q.; QIAO, Y. J.; Optimization of Parameter Selection for Partial Least Squares Model Development. **Scientific Reports**. v. 5, n. 11647, p. 1-10, 2015.