

Artigo

Desenvolvimento de Método por CLAE para Quantificação de Orfenadrina, Paracetamol e Cafeína em Formulações Farmacêuticas

Clausen, D. N.; Oliveira, F. M.; Casarin, J.; Sartori, E. R.; Tarley, C. R. T.*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (6), 2066-2079. Data de publicação na Web: 2 de dezembro de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

Development of HPLC Method for Quantification of Orphenadrine, Paracetamol, and Caffeine in Pharmaceutical Formulations

Abstract: A method for the determination of orphenadrine (ORPH), paracetamol (PAR) and caffeine (CAF) using HPLC was developed. The proposed method provides an easy sample preparation and low cost using a mobile phase consisting of 80% of water with direct determination of the active principles present in pharmaceutical formulations. The separation of ORPH, PAR and CAF was accomplished on a C₁₈ column at 25°C at a flow rate of 1.2 mL min⁻¹ using acetonitrile/water (pH 2.5) as mobile phase (20:80, v/v). The method exhibits linear responses for ORPH, PAR and CAF in the concentration ranges of 0 – 150 mg L⁻¹, 0 – 200 mg L⁻¹ and 0 – 200 mg L⁻¹, respectively. The detection limits and quantification determined according to IUPAC recommendation were found to be 1.14 and 3.79 mg L⁻¹ for ORPH, 0.05 and 0.17 mg L⁻¹ for PAR and 0.02 and 0.07 mg L⁻¹ for CAF. Recoveries varying from 98.02 up to 101.81% for two pharmaceutical formulations spiked with these analytes were achieved assuring the accuracy of the proposed method.

Keywords: Pharmaceutical formulations; Quality Control; Chromatography; Validation.

Resumo

Um método para determinação de orfenadrina (ORPH), paracetamol (PAR) e cafeína (CAF) usando CLAE foi desenvolvido. O método proposto apresenta um preparo de amostra fácil e de baixo custo usando fase móvel constituída de 80% de água e com determinação direta destes princípios ativos presentes em formulações farmacêuticas. A separação de ORPH, PAR e CAF foi realizada em coluna C₁₈ a 25°C em um fluxo de 1,2 mL min⁻¹ usando como fase móvel acetonitrila/água (20:80, v/v) pH 2,5. O método exibe resposta linear para ORPH, PAR e CAF na faixa de concentração de 0 – 150 mg L⁻¹, 0 – 200 mg L⁻¹ e 0 – 200 mg L⁻¹, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação encontrados foram 1,14 e 3,79 mg L⁻¹ para ORPH, 0,05 e 0,17 mg L⁻¹ para PAR e 0,02 e 0,07 mg L⁻¹ para CAF. As recuperações variaram de 98,02 a 101,81% para duas formulações farmacêuticas enriquecidas com estes analitos atestando a exatidão do método proposto.

Palavras-chave: Formulações farmacêuticas; Controle de Qualidade; Cromatografia; Validação.

* Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Química, CEP 86051-980, Londrina-PR, Brasil.

✉ tarley@uel.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150122](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150122)

Desenvolvimento de Método por CLAE para Quantificação de Orfenadrina, Paracetamol e Cafeína em Formulações Farmacêuticas

Débora N. Clausen,^a Fernanda M. Oliveira,^a Juliana Casarin,^a Elen R. Sartori,^a César R. T. Tarley^{*,a,b}

^a Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Química, CEP 86051-980, Londrina-PR, Brasil.

^b Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Química Analítica, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Bioanalítica, Cidade Universitária Zeferino Vaz s/n, Campinas, CEP 13083-970, Brasil.

* tarley@uel.br

Recebido em 8 de novembro de 2014. Aceito para publicação em 25 de novembro de 2015

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Materiais e Reagentes

2.2. Equipamentos e condições cromatográficas

2.3. Preparo das amostras e procedimento para determinação de orfenadrina, paracetamol e cafeína em medicamentos

2.4. Validação do método

2.5. Especificidade

2.6. Linearidade

2.7. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

2.8. Precisão

2.9. Exatidão

2.10. Robustez

3. Resultados e Discussão

3.1. Validação

3.2. Especificidade

3.3. Linearidade

3.4. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

3.5. Precisão

3.6. Exatidão

3.7. Robustez

3.8. Aplicação do método

4. Conclusões

1. Introdução

O desenvolvimento de métodos analíticos seletivos e reprodutíveis para a determinação de princípios ativos, em formulações farmacêuticas, tem sido crescente e necessário para atender as exigências dos protocolos de controle de qualidade.¹

A Farmacopéia Brasileira apresenta métodos, em especial os cromatográficos, que são recomendados para a realização de ensaios a fim de verificar se os medicamentos produzidos e comercializados no país apresentam os requisitos mínimos exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).² Entretanto, em alguns casos a Farmacopéia não possui um procedimento padrão para a determinação de todos os princípios ativos presentes em uma única formulação farmacêutica. Cita-se, por exemplo, a ausência de um método de controle de qualidade estabelecido pela Farmacopeia para a determinação de orfenadrina, paracetamol e cafeína (Figura 1) em formulação farmacêutica. A orfenadrina (*N,N*-dimetil-2-[(2-metilfenil)-fenilmetoxi]etanamina; ORPH) é uma droga antimuscarínica, a qual age no sistema nervoso central, sendo utilizada na redução da dor ligada a traumatismos musculares e geralmente é associada a um analgésico como o paracetamol (N-acetil-p-aminofenol, acetaminofeno; PAR). O paracetamol possui propriedades analgésicas e é antipirético, sendo uma droga usada para aliviar dores e febres, além de ser uma alternativa efetiva para pacientes que possuem sensibilidade à dipirona.³ A cafeína (3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1*H*-purino-2,6-diona; CAF) age como estimulante dos sistemas nervoso e cardiovascular. A associação destes três princípios ativos em formulações farmacêuticas tem sido utilizada como analgésico e relaxante muscular (traumática ou inflamatória), bem como no tratamento de dores de cabeça. A superdosagem destas drogas combinadas conduz a efeitos colaterais, tais como náusea, vômitos e doenças cardiovasculares.³ A orfenadrina é

uma droga potencialmente tóxica em elevadas doses, podendo ocasionar até a morte (2 a 3 g de uma só vez). Os efeitos tóxicos, tipicamente anticolinérgicos, podem ocorrer em duas horas, em intoxicação aguda, com convulsões, arritmias cardíacas e morte. O paracetamol tomado em superdosagem pode causar citólise hepática que pode levar a insuficiência hepatocelular, acidose metabólica, encefalopatia, coma e morte. A cafeína tem ação estimulante central, podendo acentuar os sintomas excitatórios da orfenadrina². No Brasil, a população em geral pode obter este medicamento contendo os três princípios ativos citados acima sem prescrição médica, por ser um medicamento não tarjado considerado um Medicamento Isento de Prescrição (MIPs), segundo a Associação Brasileira da Indústria de Medicamentos Isentos de Prescrição (ABIMIP), devido à sua segurança e eficácia, dentro de um conceito de automedicação responsável, quando consumidos segundo as instruções. Face ao exposto, justifica-se a importância do controle de qualidade destes medicamentos, já que o público em geral pode comprá-los sem receita médica. Alguns procedimentos analíticos são reportados na literatura para a determinação individual de ORPH, PAR e CAF e também para a determinação simultânea destes analitos com outros compostos farmacologicamente e biologicamente ativos. Estes métodos incluem principalmente a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE),^{4,5} a espectrofotometria^{6,7} e os métodos eletroanalíticos.⁸⁻¹⁰ Na literatura, há somente um relato da determinação simultânea dos três fármacos em dosagem combinada, por método voltamétrico, desenvolvido por nosso grupo de pesquisa.³ A CLAE é uma das técnicas mais utilizadas para o controle de qualidade de fármacos.¹¹ Dentre as vantagens desta técnica, destacam-se a alta seletividade, sensibilidade, repetibilidade e reprodutibilidade, características que corroboram com o poder de separação e purificação de compostos.¹²

Mediante o exposto, no presente trabalho é apresentado um método de análise por CLAE para a determinação dos fármacos

ORPH, PAR e CAF em formulações farmacêuticas em dosagem combinada. A validação analítica do método foi avaliada por meio da determinação dos seguintes parâmetros: especificidade, linearidade,

limites de quantificação (LQ) e detecção (LD), precisão, exatidão e robustez. O método foi aplicado na determinação dos fármacos em duas formulações comerciais.

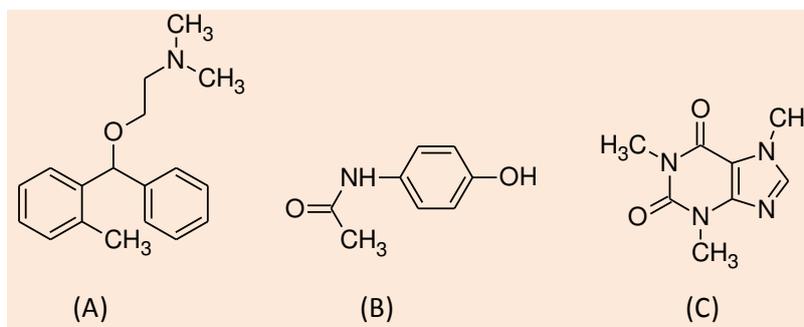


Figura 1. Estruturas químicas (A) orfenadrina, (B) paracetamol e (C) cafeína

2. Parte Experimental

2.1. Materiais e Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico e usados sem purificação prévia. Os padrões de orfenadrina (99%), paracetamol (99%) e cafeína (99,5%), foram adquiridos da Sigma-Aldrich® (Steinheim, Alemanha). A acetonitrila (ACN) (grau HPLC $\geq 99,9\%$) e o ácido fosfórico (85%), foram adquiridos da Panreac (Barcelona, Espanha) e Merck (Darmstadt, Alemanha), respectivamente. Para o preparo da fase móvel e da solução de ácido fosfórico 1 mol L^{-1} (usado para acidificar a fase móvel), foi utilizada água ultrapura Milli-Q® (Millipore®, resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). As soluções de trabalho de ORPH, PAR e CAF, foram preparadas em água ultrapura e filtradas em membranas de Nylon® $0,45 \mu\text{m}$ (Macherey-Nagel®). Os medicamentos que contêm em sua formulação ORPH, PAR e CAF foram adquiridos na cidade de Londrina (PR), sendo um de marca comercial de drogarias (A) e um de farmácia magistral (B). Os medicamentos A e B continham 35, 450 e 50 mg por comprimido de ORPH, PAR e CAF,

respectivamente.

2.2. Equipamentos e condições cromatográficas

Os medicamentos foram pesados em balança analítica modelo AY 220 Shimadzu® (Tóquio, Japão). Para as transferências de volume foram utilizadas micropipetas automáticas Nichipet® EX (Tóquio, Japão). No preparo de amostra dos medicamentos e também da fase móvel foi utilizado banho ultrassônico Ultracleaner® 1400 (Indaiatuba, Brasil). O pH da fase móvel foi ajustado com o auxílio de um pHmetro Metrohm® 827 (Herisau, Suíça), empregando um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência externa de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$) a $25 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$.

As determinações cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu® (Tóquio, Japão) modelo LC-20A Prominence equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) com faixa de varredura de 190-800 nm e alça de injeção de $20 \mu\text{L}$. A vazão da fase móvel (ACN:H₂O, 20:80, v/v, pH 2,5) foi mantida em $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ e a detecção realizada em 215 nm. Uma coluna CLC-ODS(M) (250 mm x 4,6

mm d.i., 5 μm de tamanho de partícula) e uma coluna de guarda Phenomenex® (4,0 x 3,0 mm d.i., 5 μm de tamanho de partícula) foram utilizadas para a separação dos analitos. A temperatura da coluna de separação cromatográfica foi mantida a 25°C e o volume de injeção utilizado foi de 20 μL . A fase móvel utilizada no modo isocrático foi previamente filtrada em membrana de Nylon® 0,45 μm e desgaseificada em banho ultrassônico por 1 hora. O tempo de cada análise foi de 7 minutos.

2.3. Preparo das amostras e procedimento para determinação de orfenadrina, paracetamol e cafeína em medicamentos

Para a realização das análises em triplicata, dez comprimidos do medicamento A foram pesados, macerados e homogeneizados com o auxílio de almofariz e pistilo. Desta mistura transferiu-se 1,0 g para um balão volumétrico de 100,0 mL e adicionou-se 90,0 mL de fase móvel, a mistura obtida foi mantida em banho ultrassônico por 1 h. Posteriormente, completou-se o volume com a fase móvel e a solução foi filtrada em filtro de seringa de Nylon® de 0,45 μm . Esta solução foi injetada no sistema cromatográfico. Para o medicamento B, pesou-se 6 comprimidos, os quais foram preparados seguindo o mesmo procedimento.

2.4. Validação do método

O método foi validado conforme o preconizado na Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA¹³ e o cálculo dos limites de detecção e quantificação segundo a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*)¹⁴. Os parâmetros avaliados foram: especificidade, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez.

2.5. Especificidade

Para confirmar a especificidade do método, inicialmente foi preparada uma mistura placebo contendo 25,7 mg de cada excipiente a saber: talco, estearato de magnésio, amido, dodecil sulfato de sódio, aerosil e celulose microcristalina, obtidos em uma drogaria local. Para o preparo da mistura placebo, calculou-se a massa média dos comprimidos do Medicamento A (630 ± 7 mg), tendo a quantidade rotulada de 535 mg como o teor de princípios ativos. Deste modo, a massa de princípios ativos foi determinada pela diferença entre a massa média e o teor rotulado. Após, determinou-se a proporção de excipientes presentes em 1 g de amostra. Deste modo, foram pesadas quantidades iguais de cada um dos excipientes e estes foram homogeneizados juntos aos princípios ativos sólidos. O preparo da mistura seguiu o procedimento descrito na seção 2.3. Com o intuito de avaliar o efeito dos excipientes nos picos cromatográficos dos princípios ativos, os cromatogramas obtidos foram comparados com o de uma solução padrão.

2.6. Linearidade

A linearidade foi determinada pela construção de uma curva analítica simultânea para orfenadrina, paracetamol e cafeína por CLAE. Para tanto, 0,01 g de cada princípio ativo foi solubilizado e aferido com a fase móvel em balões volumétricos de 10 mL. A partir destas soluções foram preparadas soluções ternárias nas concentrações de 0, 30, 60, 90, 120 e 150 mg L^{-1} de orfenadrina e de 0, 5, 50, 100, 150 e 200 mg L^{-1} de paracetamol e cafeína. As curvas analíticas foram feitas em duplicata.

2.7. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação

foram calculados de acordo com a IUPAC, na qual foram utilizadas as seguintes equações: $LD=3S/m$ e $LQ=10S/m$, onde S é o desvio padrão da leitura de dez determinações em branco e m o coeficiente angular da curva analítica.¹⁴

2.8. Precisão

A precisão intra-dia foi avaliada através de 10 medidas para a concentração de 60 e 120 mg L⁻¹ de ORPH, 5 e 100 mg L⁻¹ de PAR e 5 e 100 mg L⁻¹ de CAF, em diferentes períodos do mesmo dia e sobre as mesmas condições experimentais. A precisão inter-dia foi avaliada através dos resultados obtidos pelas análises das amostras nas mesmas concentrações citadas anteriormente, utilizando-se as mesmas preparações de soluções e fase móvel usadas na precisão intra-dia, mas em 2 dias consecutivos.

2.9. Exatidão

A exatidão do método foi avaliada por meio do experimento de adição e recuperação, na qual diferentes massas de cada princípio ativo foram adicionadas nas amostras de ORPH (60, 75 e 90 mg), PAR e/ou CAF (15, 30 e 45 mg) em triplicata. A recuperação foi determinada como sendo a diferença percentual entre a concentração da média determinada e a concentração teórica em cada nível.

2.10. Robustez

A robustez do método foi avaliada por meio da análise de uma solução ternária dos fármacos nas concentrações de 120, 100 e 100 mg L⁻¹ ORPH, PAR e CAF, respectivamente, modificando-se as seguintes condições cromatográficas: pH e composição da fase móvel. O efeito do pH foi avaliado nas seguintes condições: pH 2,25, 2,50 e 2,75, ou seja, variação de $\pm 10\%$. Já a composição da fase móvel foi alterada nas seguintes proporções: 20:80, 50:50 e 80:20 de ACN:H₂O (v/v).

3. Resultados e Discussão

3.1. Validação

A separação cromatográfica de ORPH, PAR e CAF foi realizada com base no trabalho de Arayne *et. al.*,⁵ que realizaram a separação cromatográfica de ORPH e PAR. Em seguida, foram determinados os parâmetros especificidade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. Obteve-se separação eficiente de ORPH, PAR e CAF utilizando uma coluna C₁₈ a 25°C com fluxo de 1,2 mL min⁻¹ eluição isocrática de fase móvel composta por ACN:H₂O (20:80, v/v) em pH 2,5. Os tempos de retenção para ORPH, PAR e CAF foram de 2,42, 3,85 e 4,56 minutos, respectivamente (Figura 2).

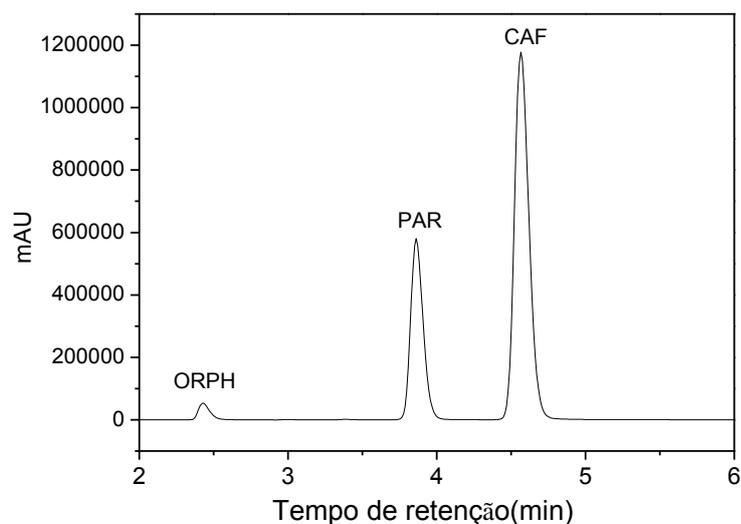


Figura 2. Cromatograma da separação cromatográfica de ORPH, PAR e CAF

3.2. Especificidade

A pureza espectral e a área dos picos cromatográficos para ORPH, PAR e CAF não sofreram interferência pela presença dos excipientes selecionados, quando

comparados com uma solução padrão contendo os três princípios ativos, comprovando a especificidade do método (Figura 3). Na presença ou ausência dos excipientes em solução, observou-se variação entre as áreas de pico de 6,0, 0,3 e 1,1% para ORPH, PAR e CAF, respectivamente.

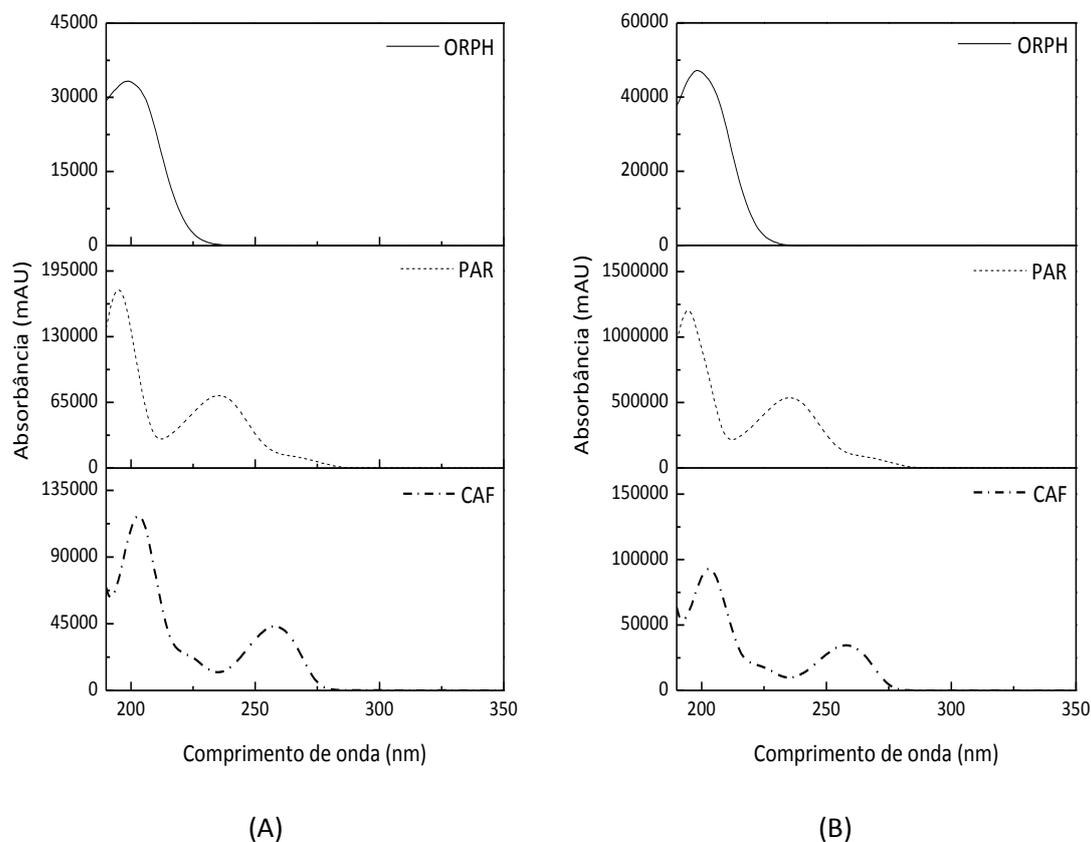


Figura 3. Espectros DAD de orfenadrina, paracetamol e cafeína em pH 2,5 dos (A) padrões analíticos e (B) do medicamento

3.3. Linearidade

A linearidade do método foi obtida por meio da construção da curva analítica para a ORPH, PAR e CAF por CLAE, conforme

mostram as Figuras 4(A), 4(B) e 4(C), respectivamente. Na Tabela 1 estão descritos as equações das retas, os coeficientes de determinação (R^2) e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o método proposto.

Tabela 1. Parâmetros de linearidade obtidos pelo método proposto para os princípios ativos

Princípio ativo	Equação da reta	R^2	LD (mg L^{-1})	LQ (mg L^{-1})
Orfenadrina	$\text{mAU} = 13,8 \times 10^2 [\text{ORPH}/\text{mg L}^{-1}] + 8,9 \times 10^3$	0,979	1,14	3,79
Paracetamol	$\text{mAU} = 31,4 \times 10^3 [\text{PAR}/\text{mg L}^{-1}] - 17,2 \times 10^3$	0,997	0,05	0,17
Cafeína	$\text{mAU} = 63,6 \times 10^3 [\text{CAF}/\text{mg L}^{-1}] + 198,7 \times 10^3$	0,999	0,02	0,07

R^2 = coeficiente de determinação; LD = limite de detecção; LQ = limite de quantificação

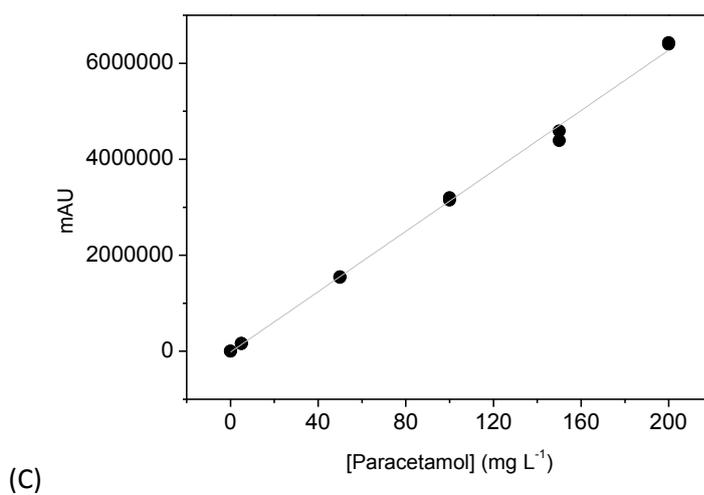
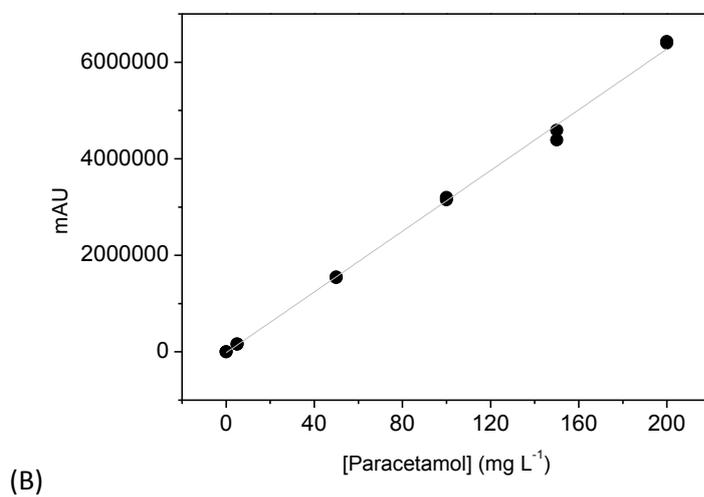
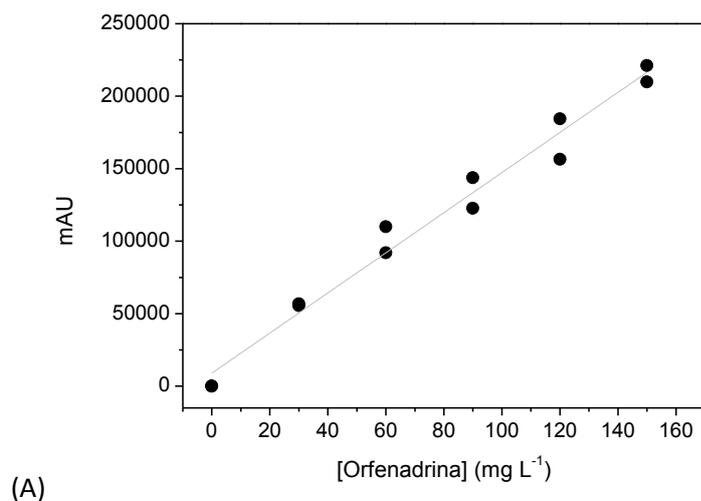


Figura 4. (A) Curva analítica de orfenadrina de 0 a 150 mg L⁻¹; (B) Curva analítica de paracetamol de 0 a 200 mg L⁻¹; (C) Curva analítica de cafeína de 0 a 200 mg L⁻¹

3.4. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação obtidos pelo método proposto (Tabela 1) apresentaram boa sensibilidade, possibilitando a quantificação dos princípios ativos estudados em drogas combinadas. Na literatura são reportados métodos com limites de detecção e quantificação semelhantes ao do método proposto, no entanto nenhum destes trabalhos faz a determinação simultânea dos analitos em formulações farmacêuticas por CLAE.^{4, 15-17}

3.5. Precisão

A precisão intra-dia do método avaliada em termos de repetibilidade (n= 10) foi de 0,95, 4,02 e 1,09% para as concentrações de 60, 5 e 5 mg L⁻¹ de ORPH, PAR e CAF, respectivamente. Para as concentrações de 120, 100 e 100 mg L⁻¹ de ORPH, PAR e CAF, respectivamente, os desvios padrão relativos (DPR) das medidas foram 0,16, 0,22 e 0,21%. A precisão inter-dia (n= 10) para as

concentrações de 60, 5 e 5 mg L⁻¹ de ORPH, PAR e CAF respectivamente, foi 0,19, 0,32 e 0,85%. Para as concentrações de 120, 100 e 100 mg L⁻¹ de ORPH, PAR e CAF, respectivamente, o DPR foram de 1,02, 0,49 e 0,38%. Através destes dados verifica-se que o método proposto é preciso, pois o desvio padrão relativo obtido para as análises foi inferior ao valor máximo aceitável de 5%.¹³

3.6. Exatidão

A exatidão do método proposto foi avaliada por adição e recuperação por meio do enriquecimento dos medicamentos A e B com ORPH (Tabela 2), PAR (Tabela 3) e CAF (Tabela 4). O método mostra ser adequado para determinação de ORPH, PAR e CAF em medicamentos por CLAE, pois as porcentagens de recuperação variaram de 98,0 a 100,4% para o Medicamento A e de 98,2 a 101,8% para o Medicamento B, ressaltando-se que na Resolução RE n°899 de 29 de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹³ não há especificação sobre recuperação.

Tabela 2. Recuperação de orfenadrina em diferentes medicamentos usando CLAE

Medicamento A			Medicamento B	
Quantidade adicionada (mg)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)
0	38,50	110,0	33,72	96,3
60	96,90	98,4	92,37	98,6
75	111,48	98,2	106,93	98,4
90	127,10	98,9	124,50	100,6

Tabela 3. Recuperação de paracetamol em diferentes medicamentos usando CLAE

Medicamento A			Medicamento B	
Quantidade adicionada (mg)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)
0	447,00	99,3	428,20	95,1
15	458,20	99,2	438,50	98,9
30	470,89	98,7	449,95	98,2
45	488,54	99,3	464,81	98,2

Tabela 4. Recuperação de cafeína em diferentes medicamentos usando CLAE

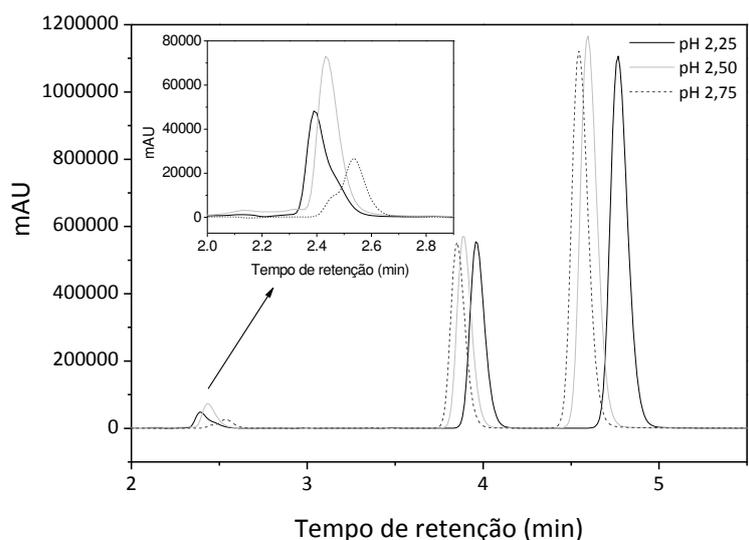
Medicamento A			Medicamento B	
Quantidade adicionada (mg)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)	Quantidade encontrada (mg)	Recuperação (%)
0	52,60	105,2	50,90	101,8
15	66,26	98,0	66,50	100,9
30	81,20	98,3	79,61	98,4
45	97,97	100,4	97,64	101,8

3.7. Robustez

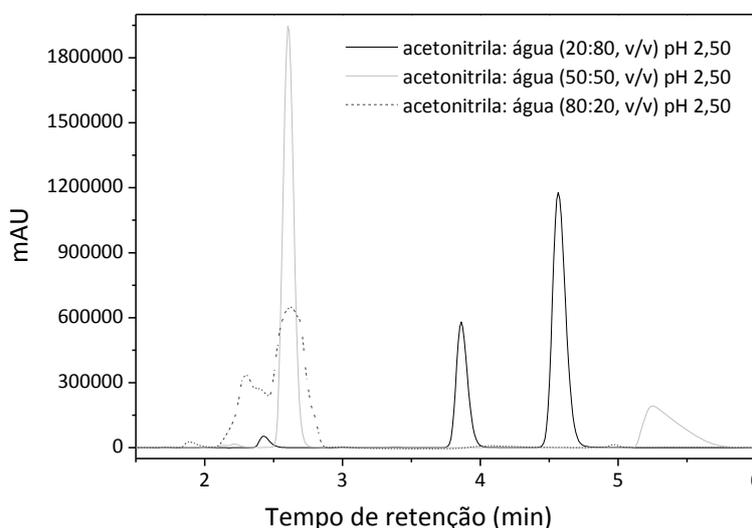
A avaliação da robustez do método desenvolvido foi realizada por meio de variações no pH da fase móvel (variação de $\pm 10\%$) e em sua composição, sendo que seus respectivos cromatogramas estão apresentados na Figura 5. Cabe salientar que o tempo de volume morto do sistema cromatográfico foi de 1,73 minutos e o menor tempo de retenção foi de 2,42 minutos para ORPH.

A variação do pH da fase móvel (2,25, 2,50 e 2,75) promoveu alteração no tempo de

retenção dos fármacos, enquanto a área dos picos praticamente se manteve constante para os fármacos PAR e CAF. Em relação a ORPH, observou-se significativa alteração na resolução do pico, indicando que a variação do pH da fase móvel em $\pm 10\%$, altera de maneira significativa o desempenho cromatográfico do método para separação simultânea de ORPH, PAR e CAF. A alteração na composição da fase móvel em proporções elevadas de acetonitrila promoveu a sobreposição dos picos cromatográficos devido à menor interação entre os analitos e a fase estacionária.



(A)



(B)

Figura 5. Cromatogramas obtidos para alterações na fase móvel referentes (A) ao pH e (B) a diferentes proporções volumétricas entre acetonitrila e água

3.8. Aplicação do método

O método proposto foi empregado para determinação de ORPH, PAR e CAF em dois medicamentos. Com base nas concentrações descritas pelo fabricante e nos valores médios obtidos pelo método proposto (Tabela 5), pode-se inferir que os medicamentos codificados como A e B atendem à exigência da Farmacopéia

Brasileira, pois a mesma normatiza que as variações nas concentrações de PAR e CAF em comprimidos estejam entre 95-105% e 98,5 -101%, respectivamente. Cabe salientar que a farmacopéia brasileira não normatiza variações para a concentração de ORPH em comprimidos. A aplicabilidade do método proposto pode ainda ser comprovada devido ao coeficiente de variação (CV) encontrado para os três princípios ativos nas duas formulações farmacêuticas ser inferior a 5%.

Tabela 5. Variações entre o teor rotulado e o encontrado utilizando o método proposto

	Medicamento A			Medicamento B		
	Teor rotulado	Teor encontrado	CV	Teor encontrado	CV	Tolerância da Farmacopéia
Princípio ativo	(mg)	(mg)	(%)	(mg)	(%)	(mg)
Orfenadrina	35,0	38,50	0,69	33,72	0,70	-
Paracetamol	450,0	447,00	0,79	428,20	0,96	427,50 – 472,50
Cafeína	50,0	52,60	0,68	50,90	2,26	49,25 – 50,50

CV: coeficiente de variação

4. Conclusões

O método proposto por cromatografia líquida de alta eficiência, mostrou-se adequado para a determinação de ORPH, PAR e CAF em medicamentos em dosagem combinada. O teor dos três princípios ativos presentes nas formulações farmacêuticas, apresentou-se dentro dos limites de tolerância exigidos pela Farmacopéia Brasileira. O método ainda apresentou satisfatória frequência analítica, devido a curto tempo de análise (7 minutos) considerando os reduzidos tempos de retenção dos fármacos, além de baixo custo por utilizar fase móvel constituída em 80% de água.

Referências Bibliográficas

¹ Santos, M. S.; Colnago, L. A. Validação de método quantitativo por RMN de ¹H para análises de formulações farmacêuticas. *Química Nova* **2013**, *36*, 324. [CrossRef]

² Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopéia Brasileira, volume 1. 5ª ed., Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf>. Acesso em: 01 outubro 2014.

³ Eisele, A. P. P.; Clausen, D. N.; Tarley, C. R. T.; Dall'Antonia, L. H.; Sartori, E. R.; Simultaneous Square-Wave Voltammetric Determination of Paracetamol, Caffeine and Orphenadrine in Pharmaceutical Formulations Using a Cathodically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1. [CrossRef]

⁴ Saracino, M. A.; Petio, C.; Vitali, M.; Franchini, L.; Raggi, M. A.; Determination of orphenadrine plasma levels using HPLC with diode array detection and a novel solid-phase extraction procedure in psychiatric patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2009**, *50*, 501. [CrossRef]

⁵ Arayne, S.; Sultana, N.; Siddiqui, F. A.; Simultaneous Determination of Paracetamol and Orphenadrine Citrate in Dosage Formulations and in Human Serum by RP-HPLC. *Journal of the Chinese Chemical Society* **2009**, *56*, 169. [CrossRef]

⁶ Walash, M. I.; Belal, F. F.; Eid, M. I.; Mohamed, S. A. A. Spectrophotometric determination of tizanidine and orphenadrine via ion pair complex formation using eosin Y. *Chemistry Central Journal* **2011**, *5*, 1. [CrossRef]

⁷ Khoshayand, M. R.; Abdollahi, H.; Shariatpanahi, M.; Saadatfard, A.; Mohammadi, A. Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by chemometric methods.

Spectrochimica Acta Part A **2008**, 70, 491. [CrossRef]

⁸ Li, S.-J.; Deng, D.-H.; Pang, H.; Liu, L.; Xing, Y.; Liu, S.-R. Preparation of electrochemically reduced graphene oxide-modified electrode and its application for determination of p – aminophenol. *Journal of Solid State Electrochemistry* **2012**, 16, 2883. [CrossRef]

⁹ Frag, E. Y. Z.; Ali, T. A.; Mohamed, G. G.; Awad, Y. H. H. Construction of different types of ion-selective electrodes. Characteristic performances and validation for direct potentiometric determination of orphenadrine citrate. *International Journal of Electrochemical Science* **2012**, 7, 4443. [Link]

¹⁰ Silva, W. C.; Pereira, P. F.; Marra, M. C.; Gimenes, D. T.; Cunha, R. R.; da Silva, R. A. B.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M. A simple strategy for simultaneous determination of paracetamol and caffeine using flow injection analysis with multiple pulse amperometric detection. *Electroanalysis* **2011**, 23, 2764. [CrossRef]

¹¹ Adamovics, J. A.; *Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals, Advanced Inorganic Chemistry*, 2a. ed., Marcel Dekker: New York, 1997.

¹² Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S. Fundamentos de Cromatografia Líquida, Editora da Unicamp, Campinas, 2006.

¹³ Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/RE_899_validacao.pdf>. Acesso em: 09 setembro 2015.

¹⁴ Currie, L. A.; Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities: (IUPAC Recommendations 1995). *Pure & Applied Chemistry* **1995**, 67, 1699. [CrossRef]

¹⁵ Franeta, J. T.; Agbaba, D.; Eric, S.; Pavkov, S.; Aleksic, M.; Vladimirov, S.; HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets. *Il Farmaco* **2002**, 57, 709. [CrossRef]

¹⁶ Sena, M. M.; Freitas, C. B.; Silva, L. C.; Pérez, C. N.; Paula, Y. O.; Determinação espectrofotométrica simultânea de paracetamol e ibuprofeno em formulações farmacêuticas usando calibração multivariada. *Química Nova* **2007**, 30, 75. [CrossRef]

¹⁷ Belguidoum, K.; Amira-Guebailia, H.; Boulmouk, Y.; Houache, O. J.; HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2014**, 45, 1314. [CrossRef]