

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

PEDRO HONORATO SEABRA DE OLIVEIRA
RHANA GREGÓRIO OLIVEIRA

**ESTUDO DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CAFEÍNA POR
HPLC (HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)**

CAMPINAS/SP
2025

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

PEDRO HONORATO SEABRA DE OLIVEIRA
RHANA GREGÓRIO OLIVEIRA

**ESTUDO DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CAFEÍNA POR
HPLC (HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)**

Trabalho de Graduação II apresentado por Pedro H. S. de Oliveira, Rhana G. Oliveira; como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação do Prof. Dr.^a Fabiana C. A. Corbi.

CAMPINAS/SP
2025

FICHA CATALOGRÁFICA
CEETEPS - FATEC Campinas – Biblioteca

O48e

OLIVEIRA, Rhana Gregório

Estudo da uniformidade de conteúdo de cafeína por HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Pedro Honorato Seabra de Oliveira e Rhana Gregório Oliveira. Campinas, 2025.

33 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos Faculdade de Tecnologia de Campinas.

Orientador: Profa. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi.

Cafeína. 2. Medicamento. 3. CLAE. 4. Análise. 5. Uniformidade de conteúdo.
I. Autor. II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 615.321

Catálogo-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 25.1

PEDRO HONORATO SEABRA DE OLIVEIRA

RHANA GREGÓRIO OLIVEIRA

**Estudo da uniformidade de conteúdo de cafeína por HPLC
(High Performance Liquid Chromatography)**

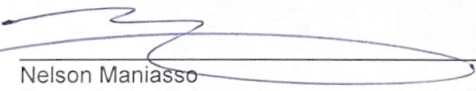
Trabalho de Graduação apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos, pelo CEETEPS / Faculdade de Tecnologia – Fatec Campinas.

Campinas, 30 de junho de 2025.

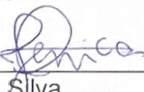
BANCA EXAMINADORA



Fabiana Cristina Andrade Corbi
Fatec Campinas



Nelson Maniasso
Fatec Campinas



Jessica Cinthia Silva
Fatec Campinas

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, por ter nos concedido saúde, força e sabedoria para enfrentar cada desafio ao longo desta jornada. À nossa orientadora, Prof. Dr. Fabiana C. A. Corbi, expressamos nossa profunda gratidão por toda orientação, paciência, dedicação e confiança depositadas em nós. Seu comprometimento e conhecimento foram essenciais para a realização deste trabalho.

Às nossas amigas de faculdade — Franciele, Gabriella, Michaela e Rafaela — nossos sinceros agradecimentos pela amizade verdadeira, pelo apoio constante e por cada momento compartilhado. Vocês tornaram essa caminhada mais leve, mais bonita e, sem dúvida, inesquecível. Levaremos conosco não apenas as memórias, mas a certeza de que amigas assim são para a vida toda.

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho, com todo carinho e gratidão, à nossas famílias. Aos nossos pais, pelo amor incondicional, pelos ensinamentos, pelo apoio constante e por nunca medirem esforços para que pudéssemos chegar até aqui.

Eu, Rhana, dedico este trabalho ao meu irmão, pela presença sempre firme e pelas palavras de incentivo nos momentos difíceis. Esta conquista é, acima de tudo, de vocês.

Também dedico este trabalho à família e à noiva do meu parceiro de jornada. Pela compreensão, pelo apoio e pela paciência nos momentos em que ele precisou dividir seu tempo e sua atenção com este projeto. O suporte e incentivo de vocês foram fundamentais para que ele pudesse dar o melhor de si ao longo deste percurso.

RESUMO

A cafeína é um alcaloide amplamente utilizado em medicamentos devido à sua ação estimulante no sistema nervoso central e à sua capacidade de potencializar o efeito de analgésicos como paracetamol e ácido acetilsalicílico. Diante da necessidade de garantir a eficácia terapêutica e a segurança dos pacientes, o controle da uniformidade de conteúdo torna-se fundamental, especialmente em formulações farmacêuticas de baixa dosagem. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e aplicar um método analítico robusto por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em inglês *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC), para avaliar a uniformidade de conteúdo de cafeína em medicamentos de referência e genéricos. As análises foram conduzidas conforme os parâmetros da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024) e da RDC 166/17 (BRASIL, 2017), utilizando equipamentos de alta precisão e amostras preparadas sob condições controladas. Os resultados demonstraram excelente linearidade da curva de calibração ($R^2 = 0,9995335$), além de parâmetros cromatográficos satisfatórios. Os teores médios de cafeína encontrados foram de 67,42 mg para o produto de referência e 73,67 mg para o genérico, ambos próximos ao valor nominal de 65 mg. O Valor de Aceitação (VA) foi de 4,43% e 13,69%, respectivamente, estando ambos dentro do limite permitido de 15%, embora o genérico tenha apresentado maior variação. Conclui-se que o método desenvolvido é adequado para o controle de qualidade de medicamentos contendo cafeína, reforçando a importância de métodos analíticos confiáveis para garantir a uniformidade de conteúdo e, consequentemente, a segurança e eficácia terapêutica dos produtos farmacêuticos.

Palavras-chave: cafeína; medicamento; CLAE; análise; uniformidade de conteúdo.

ABSTRACT

Caffeine is an alkaloid widely used in pharmaceuticals due to its stimulant effect on the central nervous system and its ability to enhance the efficacy of analgesics such as paracetamol and acetylsalicylic acid. Given the need to ensure therapeutic effectiveness and patient safety, content uniformity control becomes essential, especially in low-dose pharmaceutical formulations. This study aimed to develop and apply a robust analytical method using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) to assess the content uniformity of caffeine in branded and generic drugs. Analyses were conducted according to the standards of the Brazilian Pharmacopoeia (BRASIL, 2024) and RDC 166/17 (BRASIL, 2024), using high-precision equipment and samples prepared under controlled conditions. The results showed excellent linearity in the calibration curve ($R^2 = 0.9995335$), along with satisfactory chromatographic parameters. The average caffeine contents were 67.42 mg for the branded product and 73.67 mg for the generic one, both close to the nominal value of 65 mg. The Acceptance Values (AV) were 4.43% and 13.69%, respectively, both within the permitted limit of 15%, although the generic product exhibited greater variation. It is concluded that the method developed is suitable for the quality control of caffeine-containing pharmaceuticals, highlighting the importance of reliable analytical methods to ensure content uniformity and, consequently, the safety and therapeutic efficacy of pharmaceutical products.

Keywords: caffeine; pharmaceutical; HPLC; analysis; content uniformity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da cafeína.	14
Figura 2: Tipos de cromatografia e modos cromatográficos.....	16
Figura 3: Reservatório de fase móvel.....	17
Figura 4: Válvula de amostragem.	18
Figura 5: Curva de calibração.	25
Figura 6: Cromatograma do padrão da curva de calibração.....	26
Figura 7: Cromatograma da amostra de referência.	28
Figura 8: Cromatograma da amostra genérica.	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Termos e expressões para o cálculo do Valor de aceitação (VA).	20
Tabela 2: Equipamentos e reagentes.	21
Tabela 3: Condições cromatográficas.	22
Tabela 4: Alíquotas utilizadas para curva de calibração.	23
Tabela 5: Resultados obtidos da curva de calibração.	26
Tabela 6: Resultados das amostras obtidos a partir dos cromatogramas.	27
Tabela 7: Valores de recuperação em relação ao valor declarado de cada produto.	28
Tabela 8: Valores de aceitação logrados.	29

LISTA DE ABREVIACES

HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
RDC	Resoluo da Diretoria Colegiada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
VA	Valor de Aceitao
DPR%	Desvio Padro Relativo
NTP	<i>Number of Theoretical Plates</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO	13
1.2. JUSTIFICATIVA/PROBLEMÁTICA	13
1.3. OBJETIVOS	13
1.3.1. OBJETIVO GERAL	13
1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. CAFEÍNA	14
2.2. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	14
2.2.1. Componentes básicos de um HPLC	16
2.3. UNIFORMIDADE	18
2.3.1. Definição de Uniformidade	18
2.3.2. Procedimento e Avaliação	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. MATERIAIS	21
3.1.1. Amostras	21
3.1.2. Equipamentos e reagentes	21
3.2. MÉTODOS	22
3.2.1. Preparo da fase móvel	22
3.2.2. Preparo do diluente	22
3.2.3. Condições cromatográficas	22
3.2.4. Preparo do padrão e curva de calibração	23
3.2.5. Preparo das amostras	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÃO	32

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
----------------------------------	----

1. INTRODUÇÃO

A cafeína é uma substância amplamente consumida globalmente, presente em uma variedade de produtos, como bebidas, alimentos e medicamentos. Estima-se que cerca de 80% da população mundial consuma cafeína regularmente, impulsionando uma indústria que movimentou aproximadamente 715 milhões de dólares em 2021, com previsão de crescimento para 1,2 bilhões de dólares até 2031. Sua popularidade se deve aos seus efeitos estimulantes no sistema nervoso central, além de potenciais benefícios à saúde, como estímulo físico e mental, redução do risco de doenças neurodegenerativas, proteção hepática e aumento da longevidade.

Entretanto, a concentração de cafeína nesses produtos pode variar significativamente, o que destaca a importância de garantir a uniformidade do conteúdo, especialmente em produtos farmacêuticos e suplementos alimentares. A RDC nº 31 de 2010, que trata das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, estabelece requisitos de controle de qualidade, incluindo a avaliação da uniformidade de conteúdo como parte das exigências para assegurar a qualidade e a segurança dos produtos.

Os testes de uniformidade de conteúdo são essenciais para garantir que cada unidade de um lote contenha uma quantidade precisa do princípio ativo, conforme os limites estabelecidos pela farmacopeia ou outras regulamentações específicas. Esses testes são particularmente importantes em produtos de baixa dosagem, como comprimidos, onde a precisão é crucial.

As resoluções da ANVISA são complementadas pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024), que fornece métodos de referência para análise de uniformidade de conteúdo e outros ensaios relacionados. Dado o amplo espectro de produtos que contêm cafeína, é necessária uma metodologia robusta para assegurar a qualidade do produto.

Atualmente, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é a técnica mais comum em química analítica devido à sua precisão, custo-benefício e velocidade de análise, sendo amplamente difundida. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método robusto, em conformidade com a legislação vigente, capaz de analisar a cafeína em diferentes matrizes e avaliar se os produtos disponíveis no mercado atendem às especificações dos fabricantes.

1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Neste trabalho, abordou-se o estudo de uniformidade de conteúdo de cafeína por HPLC, com o objetivo de analisar a consistência da quantidade de ingrediente ativo em cada unidade de dosagem do medicamento. Esse estudo tornou-se importante, pois visou garantir que cada dose do medicamento apresentasse a mesma eficácia e segurança

1.2. JUSTIFICATIVA/PROBLEMÁTICA

Este estudo justificou-se pela necessidade de assegurar que os produtos comercializados no mercado atendessem aos padrões de qualidade estabelecidos e pela importância de metodologias analíticas robustas no controle da uniformidade de conteúdo, assegurando a segurança do consumidor e a eficácia dos produtos disponíveis.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver um método analítico e robusto, utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), para a determinação da uniformidade de conteúdo de cafeína em diferentes matrizes de produtos disponíveis no mercado, em conformidade com as exigências regulatórias vigentes.

1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

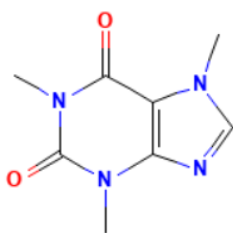
- A) Desenvolveu-se o método analítico para a determinação de uniformidade de conteúdo de cafeína no medicamento.
- B) Determinou-se a consistência e quantidade de ingrediente ativo em cada unidade dosada do medicamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CAFEÍNA

A cafeína é um composto químico de fórmula $C_8H_{10}N_4O_2$ classificado como um alcaloide do grupo das xantinas, é identificada também como 1,3,7-trimetilxantina cuja estrutura contém um esqueleto de purina conforme Figura 1.

Figura 1: Estrutura química da cafeína.



Fonte: PUBCHEM (2024).

Segundo Lopes, D. *et al* (2013) a cafeína pode ser encontrada em um número pequeno de espécies vegetais, como o café, chá verde ou chá preto e bebidas de cola. Ela também é uma substância capaz de excitar ou restaurar as funções cerebrais, sem ser considerada um fármaco. Por ser presente em diversos alimentos e bebidas, estimasse que 80% da população geral faz ou já fez o uso da cafeína. O mundo consome cerca de 50 mg/ pessoa/ dia, oriunda basicamente do consumo de bebidas estimulantes.

A cafeína pode ser encontrada em medicamentos para resfriados e alergias, em analgésicos, moderadores de apetite e estimulantes. Ela está presente em diversos analgésicos, antipiréticos e antigripais, normalmente encontra-se associada ao ácido acetilsalicílico, paracetamol e codeína, auxiliando no alívio ou até mesmo acabando com crises de enxaquecas. Ela possui aprovação do FDA na indicação analgésica, pois, foi comprovado que a cafeína reduz a necessidade de analgésicos.

2.2. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Em pouco mais de cem anos, a técnica de cromatografia líquida evoluiu drasticamente. Embora durante seus primórdios utilizava-se o método de cromatografia clássica em coluna para separação de substâncias, atualmente é bem mais comum a utilização da cromatografia líquida de alta pressão, com destaque nas áreas farmacêutica, alimentícia, ambiental, dentre outras.

O termo cromatografia é compreendido como uma técnica de separação de substâncias, nas quais estão distribuídas em duas fases. Uma fase é denominada estacionária e a outra, móvel. Os componentes da mistura a serem separados são seletivamente retidos na fase estacionária e geram migrações diferenciais (COLLINS, C, et al, 1997).

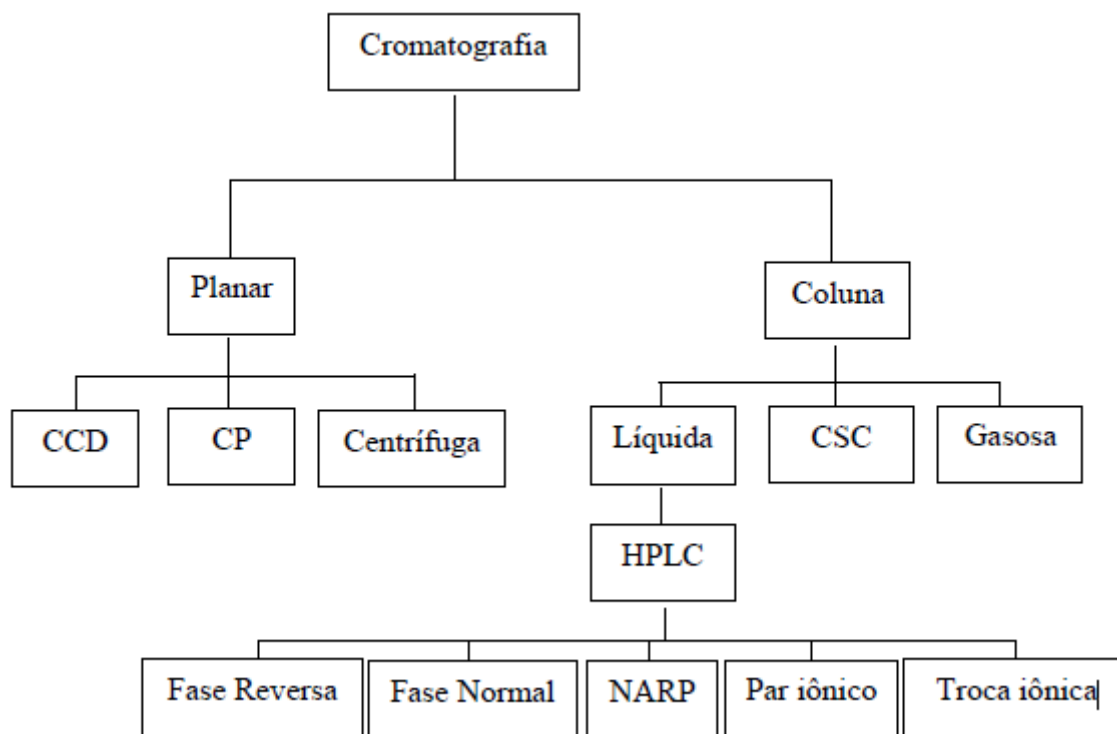
Os mais diversos modos cromatográficos são classificados em basicamente dois tipos: natureza da fase móvel empregada e tipo de fase estacionária utilizada. Com relação à fase móvel ser um líquido, a técnica é classificada como cromatografia líquida. Se a fase móvel for um gás, então será denominado cromatografia gasosa, ou, se for um fluido supercrítico, têm-se a cromatografia em fluido supercrítico (SKOOG, D et al, 2002). Com relação à fase estacionária empregada, esta pode ser um líquido imiscível com a fase móvel líquida, ou mesmo um sólido, de longe o mais comum.

A técnica de cromatografia é ampla e suas aplicações são inúmeras, contudo, o mais novo e mais importante membro da técnica de cromatografia é o HPLC, ou cromatografia líquida de alta pressão. Sua utilização em vários laboratórios é totalmente indispensável (COLLINS, C; et al, 1997).

A partir de 1968, com o desenvolvimento de novas tecnologias para fabricação de colunas cromatográficas com partículas de sílica uniformemente distribuídas, realizada inicialmente por Kirkland, assim como o estudo aprofundado sobre a teoria cromatográfica, feito por Snyder, foi possível obter avanços importantes na cromatografia líquida moderna. Tal avanço, embora gradual, atingiu o nível de sofisticação que o HPLC apresenta atualmente (COLLINS, C, et al, 1997).

Dentro da técnica de HPLC existem muitos modos cromatográficos, porém, o mais utilizado, principalmente na área farmacêutica, é o modo em fase reversa. Neste modo, a fase estacionária é mais apolar do que a fase móvel (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

As separações de componentes de amostras são predominantemente realizadas usando o modo cromatográfico em fase reversa e a fase estacionária mais utilizada é composta de octadecilsilano – comumente chamada de C18 (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998). A Figura 2 ilustra alguns tipos de cromatografia e alguns modos cromatográficos em HPLC:

Figura 2: Tipos de cromatografia e modos cromatográficos

Fonte: Adaptado de DEGANI, et al, 1998.

2.2.1. Componentes básicos de um HPLC

Quando comparado com a técnica de cromatografia clássica – na qual utiliza colunas de vidro e, principalmente, sílica gel para a separação dos componentes –, o HPLC é muito mais sofisticado e versátil (COLLINS, C; et al, 1997). Existem algumas características a serem consideradas para avaliar um equipamento de HPLC, dentre elas: versatilidade, rapidez, reprodutibilidade e sensibilidade (COLLINS, C; et al, 1997).

Embora existam inúmeras marcas e tipos de cromatógrafos líquidos, todos compartilham de alguns componentes básicos que fazem parte de seu sistema, são eles: reservatório de fase móvel, sistema de bombeamento, válvulas de amostragem ou injetores, compartimento para coluna – conhecido como forno –, detector e sistema de aquisição de dados ou registrador.

Os reservatórios de fase móvel podem ser recipientes de aço inoxidável, vidro ou mesmo plásticos inertes, com volumes variados (COLLINS, C; et al, 1997). Normalmente a fase móvel a ser utilizada no equipamento passa por um processo de filtração à pressão reduzida na qual, após essa etapa, é armazenada no frasco e levada ao ultrassom para remoção de bolhas de ar

dissolvidos (COLLINS, C; et al, 1997). A Figura 3 ilustra um exemplo de reservatório de fase móvel:

Figura 3: Reservatório de fase móvel.



Fonte: AMORIM, A, 2019, p.49.

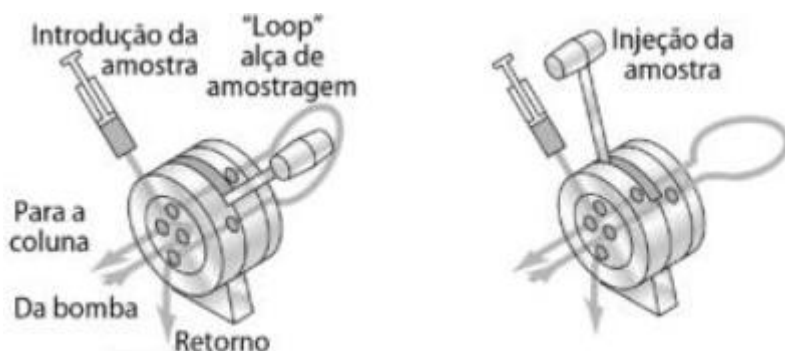
O sistema de bombeamento é um componente extremamente importante para um HPLC. Tal sistema deve fornecer valores precisos e exatos de vazões da fase móvel para que a mesma percole por todo o sistema do equipamento (COLLINS, C; et al, 1997).

Este sistema possui alguns parâmetros e requisitos importantes a serem considerados, dentre eles: pressão máxima de trabalho – na qual depende do equipamento, marca, materiais utilizados na construção da bomba, dentre outros –, vazão contínua e sem pulsações, reprodutibilidade, quimicamente inerte, baixo volume morto e intervalo de fluxo em 0,01-10 mL/min (COLLINS, C; et al, 1997).

O sistema de amostragem de um HPLC é composto por válvulas de amostragem. A amostra é introduzida dentro da válvula com o auxílio de uma seringa em um injetor automático e, após isso, a válvula muda de posição para introduzir a amostra dentro da coluna. Com isso, pode-se injetar um amplo volume de amostra e de forma reprodutível.

Os materiais empregados na fabricação dessas válvulas devem ser quimicamente inertes e devem suportar altas pressões (COLLINS, C; et al, 1997). A Figura 4 ilustra um exemplo de uma válvula de amostragem:

Figura 4: Válvula de amostragem.



Fonte: AMORIM, A, 2019, p.51

Os detectores são, muitas vezes, comparados como “os olhos do equipamento.” Embora uma metáfora, tal analogia não é definitivamente absurda, isto porque os detectores possuem a finalidade em monitorar os sinais que saem da coluna e fornecer resposta dos analitos detectados (AMORIM, A, 2019).

Embora existam muitos tipos e detectores, o mais empregado é o de ultravioleta. Muitos compostos, principalmente considerando a indústria farmacêutica, possuem estruturas cromóforas. Tais estruturas tem a capacidade de absorver a radiação ultravioleta em determinados comprimentos de onda, dessa forma, é possível associar a absorção de uma determinada molécula com a área obtida no equipamento.

Por fim, há o registrador de dados. Este sistema emprega computadores e integradores, nos quais convertem o sinal obtido no detector na forma de um pico, e este pico é inserido em um gráfico denominado cromatograma (AMORIM, A, 2019).

2.3. UNIFORMIDADE

2.3.1. Definição de Uniformidade

A uniformidade de conteúdo é um conceito essencial na fabricação de medicamentos, particularmente em formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos e cápsulas. Ela refere-se à distribuição uniforme da substância ativa em cada unidade de dose, garantindo que cada comprimido ou cápsula contenha uma quantidade adequada e homogênea do princípio ativo, dentro dos limites especificados. A relevância desse parâmetro está diretamente ligada à segurança, eficácia e qualidade do medicamento, pois uma distribuição inadequada do princípio ativo pode comprometer a resposta terapêutica ou causar efeitos adversos aos pacientes (BRASIL, 2024).

De acordo com a *United States Pharmacopeia* (USP, 2020) e a *European Pharmacopeia* (*British Pharmacopoeia*, 2021), a uniformidade de conteúdo é especialmente importante em formas farmacêuticas que contêm pequenas quantidades de substância ativa, normalmente abaixo de 25 mg ou quando o princípio ativo corresponde a menos de 25% da massa total da unidade de dose. Nessas condições, variações no conteúdo do princípio ativo entre as unidades de um lote podem resultar em doses inadequadas, colocando em risco a eficácia terapêutica ou até gerando efeitos adversos graves.

Além de assegurar a dose correta em cada unidade, a uniformidade de conteúdo tem implicações diretas na bioequivalência e no perfil farmacocinético do medicamento, influenciando a liberação e absorção do princípio ativo no organismo (Lachman et al., 2013). Desse modo, esse parâmetro é considerado uma das especificações críticas de qualidade durante o desenvolvimento e o controle de produtos farmacêuticos, sendo monitorado de perto para garantir que os pacientes recebam tratamentos seguros e eficazes.

2.3.2. Procedimento e Avaliação

Para determinar a uniformidade de doses unitárias pelo método de uniformidade de conteúdo, devem ser separadas no mínimo 30 unidades, seguindo os procedimentos específicos para cada forma farmacêutica. Se forem utilizados métodos diferentes para o doseamento e o teste de uniformidade de conteúdo, pode ser necessário aplicar um fator de correção.

O produto é considerado conforme no teste de uniformidade de doses unitárias se o Valor de Aceitação (VA) calculado para as 10 primeiras unidades testadas for menor ou igual a L1. Caso o VA seja superior a L1, devem ser testadas mais 20 unidades, recalculando o VA. O produto passa no teste se o VA final para as 30 unidades for menor ou igual a L1 e nenhuma unidade individual tiver uma quantidade de fármaco inferior a $(1 - L2 \times 0,01) M$ ou superior a $(1 + L2 \times 0,01) M$. A menos que especificado de outra forma na monografia, os valores de L1 e L2 são 15,0 e 25,0, respectivamente. Os valores e fórmulas estão mais bem descritos na Tabela 1 (BRASIL, 2024).

No caso de cápsulas duras, 10 cápsulas devem ser pesadas individualmente com precisão, preservando sua identidade. Após remover cuidadosamente o conteúdo, as cápsulas vazias são pesadas, e o peso do conteúdo de cada uma é calculado. Com base no doseamento, estima-se a quantidade de fármaco em cada cápsula, expressando os resultados individuais como porcentagem da quantidade declarada. O Valor de Aceitação (VA) é então calculado.

Tabela 1: Termos e expressões para o cálculo do *Valor de aceitação (VA)*.

Variável	Definição	Condições	Valores
$\bar{X}$	Média dos conteúdos individuais ($x_1, x_2, \dots, x_n$), expressa como porcentagem da quantidade declarada		
$x_1, x_2, \dots, x_n$	Conteúdos individuais das unidades testadas, expressos como porcentagem da quantidade declarada.		
n	Número de unidades testadas		
k	Constante de aceitabilidade	Se $n = 10$, então $k =$	2,4
		Se $n = 10$, então $k =$	2,0
s	Desvio Padrão da amostra		$S = \left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$
DPR	Desvio padrão relativo ou coeficiente de variação		$DPR = \frac{100s}{\bar{X}}$
M a ser utilizado quando $T \leq 101,5$ (caso 1)	Valor de referência	Se $98,5\% \leq \bar{X} \leq 101,5\%$, então	$M = \bar{X}$ ($VA = ks$)
		Se $\bar{X} < 98,5\%$, então	$M = 98,5\%$ ($VA = 98,5 - \bar{X} + ks$)
		Se $\bar{X} > 101,5\%$, então	$M = 101,5\%$ ($VA = \bar{X} - 101,5 + ks$)
M a ser utilizado quando $T > 101,5$ (caso 2)	Valor de referência	Se $98,5\% \leq \bar{X} \leq T$, então	$M = \bar{X}$ ($VA = ks$)
		Se $\bar{X} < 98,5\%$, então	$M = 98,5\%$ ($VA = 98,5 - \bar{X} + ks$)
		Se $\bar{X} > T$, então	$M = T\%$ ($VA = \bar{X} - T + ks$)
Valor de Aceitação (VA)			Fórmula geral: $ M - \bar{X} + ks$ Os cálculos são especificados acima para diferentes casos.
$L1$	Valor máximo permitido para o valor de aceitação		$L1 = 15,0$ a menos que especificado da forma diferente na monografia individual
$L2$	Desvio máximo permitido para cada unidade testada em relação ao valor de M utilizado nos cálculos do valor de aceitação	Nenhum resultado individual é menor que $(1 - L2 \times 0,01)M$. (Condição baseada em $L2$ igual a 25,0)	$L2 = 25,0$ a menos que especificado de forma diferente na monografia individual
T	Quantidade declarada no rótulo do produto por dose unitária, expresso em porcentagem	T é igual a 100% a menos que outro valor tenha sido aprovado por razões de estabilidade, por exemplo; nestes casos, T é maior que 100%.	

Fonte: Brasil (2024).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, estão descritos os materiais que foram utilizados, assim como os métodos empregados para a realização deste trabalho.

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Amostras

Utilizou-se medicamentos referência e genéricos contendo cafeína em sua composição a fim de quantificá-los e determinarmos sua uniformidade.

3.1.2. Equipamentos e reagentes

A Tabela 2 apresenta os equipamentos e reagentes disponíveis nos laboratórios da FATEC Campinas, utilizados neste trabalho.

Tabela 2: Equipamentos e reagentes.

Balança analítica	Shimadzu – AUW220
Cromatógrafo líquido	Shimadzu – Nexera-i – LC-2040C
Coluna cromatográfica	C18 (150 x 4,6 mm - 5µm)
Vidrarias adequadas	Balões volumétricos
Pipeta automática	LABMATE Pro
Banho ultrassom	SolidSteel
Metanol grau HPLC	J.T. Baker
Acetonitrila grau HPLC	Honeywell
Água ultrapura	MilliQ
Filtro de membrana	PVDF 0,45 µm
Seringa	5 mL
Vial	1,5 mL

Fonte: Os autores (2025).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Preparo da fase móvel

Em um *Schott* colocou-se metanol grau HPLC e em seguida sonicou-se em banho ultrassom afim de retirar todas as bolhas presentes no mesmo. Em um outro *Schott* colocou-se água ultrapura e sonicou-se em banho ultrassom para a retirada de todas as bolhas presentes.

A mistura das fases foi realizada diretamente pela bomba do equipamento e foram nas seguintes proporções: metanol grau HPLC: água ultrapura (60:40 % v/v).

3.2.2. Preparo do diluente

Em uma proveta mediu-se 1800 mL de água ultrapura e transferiu-se para um *Schott*, em seguida, mediu-se 200 mL de acetonitrila grau HPLC e transferiu-se para o mesmo *Schott* em seguida, homogeneizou-se.

3.2.3. Condições cromatográficas

A Tabela 3 apresenta as condições cromatográficas.

Tabela 3: Condições cromatográficas.

Coluna	Shim-pack C18 – 150mm x 4,6 mm - 5µm
Fase móvel	Metanol grau HPLC: Água ultrapura (60:40)
Diluente	Água ultrapura: Acetonitrila (90:10)
Modo	Isocrático
Fluxo	1,0 mL/min
Volume de injeção	10 µL
Deteção	273 nm
Temperatura da coluna	30 °C
Temperatura das amostras	15 °C
Tempo de análise	6 minutos
Tempo de retenção	± 3,3 minutos

Fonte: Os autores (2025).

3.2.4. Preparo do padrão e curva de calibração

Pesou-se com precisão 10,0 mg de padrão de Cafeína em um balão volumétrico de 10 mL, em seguida diluiu-se com o diluente. Logo após, sonicou-se em banho ultrassom por 10 minutos, aguardou-se o resfriamento em temperatura ambiente e alíquotou-se os seguintes volumes conforme Tabela 4, obtendo-se as seguintes concentrações:

Tabela 4: Alíquotas utilizadas para curva de calibração.

Pontos	Massa (mg)	Dil. 1 (mL)	Alí. (mL)	Dil. 2 (mL)	Pot. Padrão (decimal)	Conc. (mg/mL)
P1	10	10	0,15	10	1	0,0150
P2			0,26	10		0,0260
P3			0,29	10		0,0290
P4			0,33	10		0,0330
P5			0,36	10		0,0360
P6			0,40	10		0,0400

Fonte: Os autores (2025).

Todos os pontos da curva foram avolumados com diluente, em seguida homogeneizou-se e filtrou-se para vial utilizando filtro de membrana PVDF 0,45 µm.

Utilizou-se a seguinte Equação 1 para o cálculo das concentrações.

$$Conc (mg/mL) = \frac{mP \times Pot \times Ali}{Dil\ 1 \times Dil\ 2} \quad (1)$$

Onde:

mP: massa do padrão em mg;

Pot: potência do padrão em decimal;

Alí.: alíquota do padrão em mL;

Dil. 1 e Dil. 2: diluições do padrão em mL.

3.2.5. Preparo das amostras

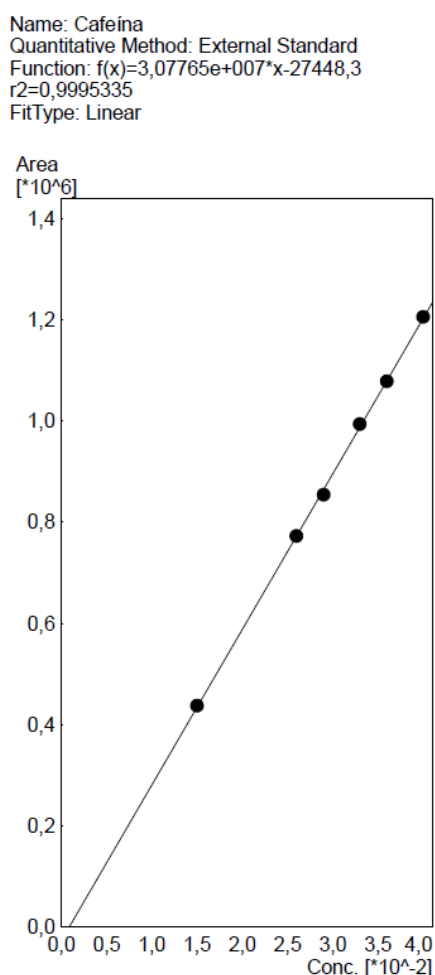
Transfêriu-se um comprimido da amostra de referência para cada balão volumétrico de 100 mL, totalizando 5 amostras independentes. Logo após, adicionou-se aproximadamente 50 mL de diluente e levou-se para sonicar em banho ultrassom por 10 minutos com agitações esporádicas, para que pudesse abrir todo o comprimido. Em seguida, aguardou-se o resfriamento até temperatura ambiente, completou-se o volume com diluente e homogeneizou-se.

Alíquotou-se 0,51 mL da solução estoque e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com diluente. Homogeneizou-se e filtrou-se para vial utilizando filtro de membrana PVDF 0,45 µm. O mesmo processo de preparo foi realizado para a amostra genérica.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as injeções, avaliou-se a linearidade da curva de calibração de acordo com normas vigente RDC166/17 (BRASIL, 2017), na qual obteve-se coeficiente de relação (R^2) de 0,9995335 de acordo com a Figura 5. As médias dos critérios avaliados foram de 1,16 para o fator de cauda (*Tailing*) e 9155 para os números de pratos teóricos (*NTP*, do inglês *Number of Theoretical Plates*), ambos são parâmetros utilizados para avaliação da performance da coluna cromatográfica.

Figura 5: Curva de calibração.



Fonte: Os autores (2025).

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos de tempo de retenção, área, concentração, *tailing* e número de pratos teóricos (NTP) .

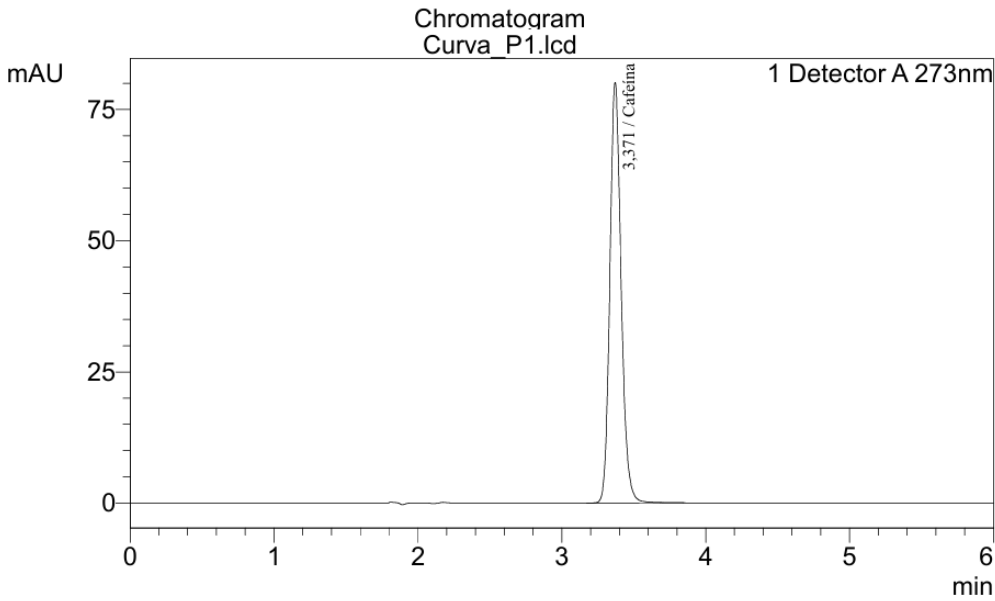
Tabela 5: Resultados obtidos da curva de calibração.

Pontos	Tempo de retenção (min)	Área	Conc. (mg/mL)	Tailing	NTP
P1	3,37	437324	0,0150	1,16	9106
P2	3,37	772877	0,0260	1,16	9157
P3	3,37	854380	0,0290	1,16	9171
P4	3,37	994335	0,0330	1,16	9165
P5	3,37	1079110	0,0360	1,16	9168
P6	3,37	1206274	0,0400	1,17	9163
Média	3,37	890717	0,0300	1,16	9155
DPR%	0,04	30,40	29,59	0,09	0,27

Fonte: Os autores (2025).

A Figura 6 ilustra o cromatograma do padrão obtido da curva de calibração.

Figura 6: Cromatograma do padrão da curva de calibração.



Fonte: Os autores (2025).

A curva obtida para as quantificações obedece a equação da reta, conforme a Equação 2 descrito abaixo:

$$f(x) = (3,07765 * 10^7) * x - 27448,3 \quad (2)$$

Sob esses parâmetros, obtiveram-se os resultados descritos na Tabela 6.

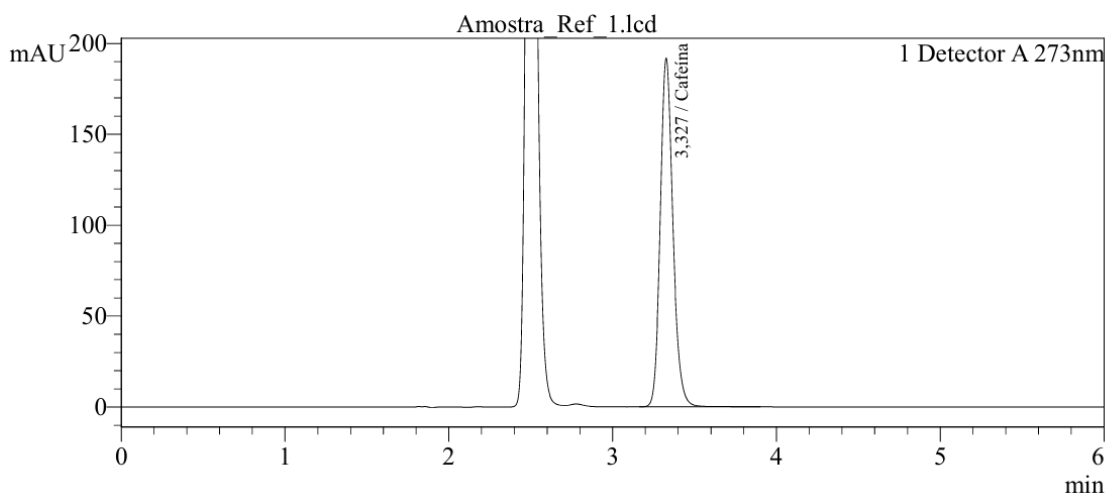
Tabela 6: Resultados das amostras obtidos a partir dos cromatogramas.

Nº de réplicas	Amostra Referência (mg/comprimido)	Amostra Genérico (mg/comprimido)
1	67,17	73,19
2	68,42	73,33
3	66,51	74,51
4	68,58	73,99
5	67,42	73,34
Média (mg/comprimido)	67,42	73,67
DPR%	1,52	0,77

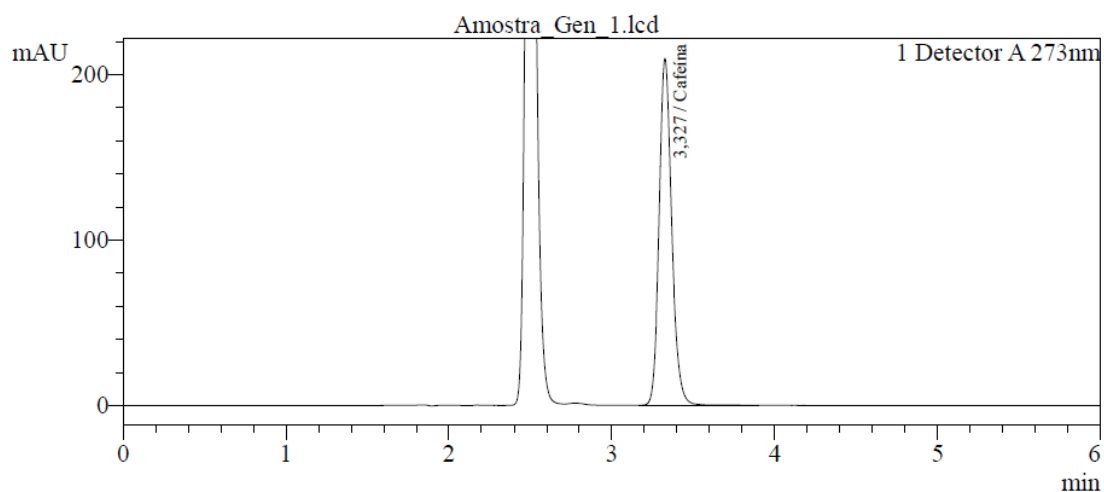
Fonte: Os autores (2025).

O desvio padrão relativo da amostra de referência foi de 1,52% e da amostra genérica foi de 0,77%, ele garante que os resultados obtidos foram precisos, visto que o critério de aceitação é de $\leq 2,0\%$.

As injeções foram feitas a partir de preparos independentes, a Figura 7 ilustra o cromatograma obtido da amostra de referência e Figura 8 ilustra o cromatograma obtido da amostra genérica. Nas duas amostras destaca-se o pico referente à cafeína no tempo de retenção de aproximadamente 3,3 minutos. Em uma primeira análise, o pico observado no tempo de retenção de aproximadamente 2,5 minutos, pode ser atribuído ao ativo de paracetamol também nos medicamentos.

Figura 7: Cromatograma da amostra de referência.

Fonte: Os autores (2025).

Figura 8: Cromatograma da amostra genérica.

Fonte: Os autores (2025).

As recuperações em porcentagem do valor nominal dos medicamentos estão descritas conforme a Tabela 7. Ambos os produtos declaram em seus rótulos 65 mg de cafeína por comprimido.

Tabela 7: Valores de recuperação em relação ao valor declarado de cada produto.

Nº de réplicas	Amostra Referência (recuperação em %)	Amostra Genérico (recuperação em %)
1	103,34	112,60
2	105,26	112,82

3	102,18	114,63
4	102,32	113,83
5	105,51	112,83
Média da recuperação (%)	103,72	113,34

Fonte: Os autores (2025).

Para a avaliação da uniformidade, utilizou-se o cálculo descrito Equação 3, que segue conforme farmacopeia brasileira (BRASIL, 2024) e consiste em:

$$VA = | M - X | + k * s \quad (3)$$

Onde:

VA: É o *valor de aceitação*, um valor numérico em porcentagem que demonstra o nível do desvio entre os teores de um mesmo comprimido;

M: É o *valor teórico ajustado*, um valor numérico expresso em porcentagem, esse valor relaciona a porcentagem de recuperação em relação ao valor declarado pelo produto. De acordo com a farmacopeia, adotou-se o valor de M como sendo menor igual à 101,5% para o caso dos produtos desse trabalho;

X: É a média aritmética dos valores obtidos, em porcentagem;

K: É o *fator estatístico* baseado na distribuição de *Student*, a farmacopeia brasileira (BRASIL, 2024) define que para 10 comprimidos o valor é de 2,4, e para 30 comprimidos o valor de 2,0;

S: *Desvio padrão amostral* das réplicas testadas.

A Tabela 8 apresenta os valores logrados dos resultados obtidos a partir do cálculo de valores de aceitação, segundo a farmacopeia brasileira (BRASIL, 2024), o critério de aceitação é de menor ou igual a 15%.

Tabela 8: Valores de aceitação logrados.

Amostra Referência (valor de aceitação %)	Amostra Genérico (valor de aceitação %)
--	--

4,43	13,69
------	-------

Fonte: Os autores (2025).

A linearidade da curva de calibração foi avaliada conforme a RDC 166/17 (BRASIL, 2017), apresentando um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9995335, indicando que a equação da reta ajustada descreve a relação entre a concentração de cafeína e a área do pico no cromatograma com excelência. Este valor de R^2 próximo de 1,00 demonstra a linearidade do método cromatográfico utilizado e sua capacidade de quantificação. Os parâmetros cromatográficos avaliados foram os de fator de cauda (*Tailing*) de 1,16, o que indica uma boa simetria dos picos e o número de pratos teóricos (NTP) foi 9155. Ambos os valores estão de acordo com a legislação brasileira Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024) que prevê valores mínimos para pratos teóricos de ≥ 2000 e para fator de cauda valores $\leq 2,0$.

A quantificação da cafeína foi realizada para dois produtos: o produto de referência e o produto genérico. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, a média dos valores de cafeína por comprimido para o produto de referência foi de 67,42 mg/comprimido e para o produto genérico foi de 73,67 mg/comprimido. A diferença entre os valores observados e o valor nominal declarado de 65 mg por comprimido para ambos os produtos é mínima, o que sugere que ambos os produtos estão dentro das especificações de conteúdo de cafeína, considerando uma possível margem de variação do processo de fabricação e de sobredosagem de ativo para garantir a estabilidade de prateleira.

As recuperações, que refletem a eficiência do método de análise em capturar o teor real de cafeína nos comprimidos, foram também avaliadas. Na Tabela 7, a média da recuperação para o produto de referência foi de 103,72% e para o produto genérico foi de 113,34%. Esses valores indicam que ambos os produtos têm uma boa recuperação, com o produto genérico apresentando um valor significativamente superior. Isso pode ser explicado por diferenças no processo de fabricação ou na composição dos excipientes dos produtos, que podem afetar a solubilidade e a biodisponibilidade da cafeína, ainda como pode ter sido uma estratégia da fabricante uma sobredosagem do ativo, com a finalidade de garantir que o teor do ativo não decaia ao longo da vida útil do produto (data de validade).

Para a avaliação da uniformidade de conteúdo, foi utilizado o cálculo do valor de aceitação (VA), conforme descrito pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024). O valor máximo permitido para o VA é de 15%, garantindo a uniformidade do teor de cafeína nos comprimidos. O cálculo do VA segue a Equação 3, onde M é o valor teórico ajustado, X é a

média aritmética das concentrações obtidas, s é o desvio padrão amostral, e k é o fator estatístico, que para cinco comprimidos analisados foi de 2,4. No caso dos produtos avaliados, o valor de M foi fixado em 101,5%. Embora o produto genérico tenha apresentado uma recuperação média de 113%, não é possível afirmar qual foi exatamente o valor dosado pelos fabricantes. Dessa forma, considera-se que o valor real esteja próximo do valor nominal declarado, conforme orienta a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024). Já o valor de X representa a concentração média de cafeína encontrada nos comprimidos, enquanto s reflete a variação entre as amostras analisadas.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, o produto de referência obteve um VA de 4,43%, enquanto o produto genérico obteve um VA de 13,69%. O produto de referência apresentou excelente uniformidade de conteúdo, estando confortavelmente dentro do limite de aceitação ($\leq 15\%$). Já o produto genérico, embora também atenda ao critério estabelecido, apresentou um valor de VA mais elevado, indicando uma uniformidade inferior em comparação ao produto de referência. Esses resultados mostram que ambos os produtos são aceitáveis em termos de uniformidade de conteúdo, embora o produto genérico apresente maior variação, o que pode ser relevante em futuras avaliações ou estudos de controle de qualidade.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o método cromatográfico utilizado é robusto e adequado para a quantificação de cafeína em comprimidos, atendendo aos requisitos estabelecidos pela RDC 166/17 (BRASIL, 2017). A excelente linearidade da curva de calibração ($R^2 = 0,9995335$), associada a bons parâmetros cromatográficos — como o fator de cauda de 1,16 e o número de pratos teóricos de 9155 —, confirma a eficiência e a confiabilidade do método.

A quantificação da cafeína revelou que tanto o produto de referência quanto o produto genérico estão próximos do valor nominal declarado, com recuperações satisfatórias, embora o produto genérico tenha apresentado uma recuperação significativamente superior. Essa diferença pode ser atribuída a características específicas dos processos de fabricação e composição dos excipientes, ou ainda a uma estratégia intencional de formulação para garantir a estabilidade do teor de ativo ao longo da vida útil do produto.

A avaliação da uniformidade de conteúdo, realizada com base no valor de aceitação (VA), mostrou que ambos os produtos atenderam aos critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2024). No entanto, o produto genérico apresentou uma variação maior entre os comprimidos analisados, refletida em um valor de VA mais elevado em comparação ao produto de referência.

Considerando os resultados apresentados, uma proposta de trabalho futuro, pode ser a investigação do ativo paracetamol como uma referência de uniformidade de conteúdo.

De modo geral pode-se concluir que, embora ambos os produtos sejam considerados conformes, o produto de referência demonstrou maior consistência e uniformidade de conteúdo. Esses achados ressaltam a importância de avaliações contínuas de qualidade para garantir a eficácia e segurança dos medicamentos disponíveis no mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, A. Métodos Cromatográficos. Editora da Universidade Estadual do Ceará – EdUECE, 1ª Edição, 2019;

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 141, p. 34-36, 25 jul. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2024. v. 6. p. 93-94, Tabela 2.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. *British Pharmacopoeia 2021*. London: The Stationery Office, 2020.

COLLINS, C. H et al. Introdução a métodos cromatográficos. [s.l.] Campinas: Editora Da Unicamp, 1997;

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). (2020). Guideline on quality of oral modified release products.

LACHMAN, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L. (2013). The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. 4ª edição. CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd.

LOPES, Débora Mendes *et al*, Avaliação da Cafeína em Associações Medicamentosas. V.25, Nº 2, 2013.

PATEL, N. et al. (2019). Quality by Design for Pharmaceutical Manufacturing: Principles and Applications.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). (2019). Guidance for Industry: Q8(R2) Pharmaceutical Development.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). (2020). General Chapter <905> Uniformity of Dosage Units.

YU, L. X. et al. (2018). Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, In Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation.